

РЕГИОНАЛЬНЫЙ АГРОПРОМЫШЛЕННЫЙ ПАРК
РЕСПУБЛИКИ АЛТАЙ «АМЗА»
(Республика Алтай, Майминский район, с. Майма)

ОПУХОЛЕВЫЕ МАРКЕРЫ

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Материалы конференции
(2–6 августа 2022 г.)

БЛОК-ПРИНТ

Москва
2022

УДК 616-006

ББК 55.6

О-62

Редакционная коллегия:

Войццкий В. Е., доктор медицинских наук, профессор; **Гуляева Л. Ф.**, доктор биологических наук, профессор; **Имянитов Е. Н.**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН; **Каприн А. Д.**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН; **Кочетов А. Г.**, доктор медицинских наук, профессор; **Красильников М. А.**, доктор биологических наук, профессор; **Кудрявцева А. В.**, кандидат биологических наук; **Кушлинский Н. Е.**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН; **Лазарев А. Ф.**, доктор медицинских наук, профессор; **Сазонов А. Э.**, доктор медицинских наук, профессор; **Стилиди И. С.**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН; **Тюлядин С. А.**, доктор медицинских наук, профессор; **Филипенко М. Л.**, кандидат биологических наук; **Чернов В. И.**, доктор медицинских наук, профессор.

О-62 Опухолевые маркеры: фундаментальные и клинические аспекты : материалы конференции (2–6 августа 2022 г.). — Москва : Блок-Принт, 2022. — 152 с.

ISBN 978-5-6048456-5-3

Цель конференции — обзор современных данных по онкологической диагностике, а также формирование научно-практического сотрудничества ученых, работающих в области фундаментальной и клинической онкологии.

Основные научные направления конференции: жидкостная биопсия, генетика онкологических заболеваний, биомаркеры в таргетной терапии, персонализированная онкология, NGS в клинической практике, маркеры чувствительности к иммунотерапии, биологические маркеры в клинической диагностике онкологических заболеваний, клинические аспекты использования опухолевых маркеров, ядерная медицина, фундаментальные аспекты диагностики опухолей.

УДК 616-006

ББК 55.6

Текст печатается в авторской редакции.

Научное издание

ОПУХОЛЕВЫЕ МАРКЕРЫ

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Материалы конференции

(2–6 августа 2022 г.)

Подписано в печать 12.07.2022. Формат 60×90 ¹/₁₆.
Печать цифровая. Печ. л. 9,5. Тираж 100 экз. Заказ №

© RUSSCO, 2022

© НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина МЗ РФ, 2022

© Министерство здравоохранения РФ, 2022

© ИХБМФ СО РАН, 2022

© Ассоциация специалистов и организаций лабораторной службы Федерации лабораторной медицины, 2022

© Горно-Алтайский государственный университет, 2022

© Межрегиональная общественная организация молекулярных генетиков в онкологии и онкогематологии (МОО ОМГО), 2022

ISBN 978-5-6048456-5-3

АНАЛИЗ РЕПЕРТУАРОВ ОПУХОЛЬ- ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ В-ЛИМФОЦИТОВ

ANALYSIS OF REPERTOIRES OF TUMOR-INFILTRATING B-LYMPHOCYTES

**Абрикосова В.А.¹, Мокрушина Ю.А.¹, Царапаев П.В.²,
Кузьмин Ю.Б.², Терехов С.С.¹, Смирнов И.В.¹,
Кушлинский Н.Е.², Габиров А.Г.¹**

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия

² ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва, Россия

**Abrikosova V.A.¹, Mokrushina Y.A.¹, Tsarapaev P.V.²,
Kuzmin Y.B.², Terekhov S.S.¹, Smirnov I.V.¹,
Kushlinskii N.E.², Gabibov A.G.¹**

¹ Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

e-mail: gabibov@gmail.com

Аннотация. В данной работе проведена оценка представленности опухоль-инфильтрирующих В-лимфоцитов (Т1В) для различных типов опухолей. Адаптированы условия культивации первичных культур клеток опухолей для проведения молекулярного дисплея и идентификации молекулярных мишеней противоопухолевого ответа. Полученные результаты представляют особую важность для диагностики и разработки альтернативных режимов иммунотерапии опухолей.

Ключевые слова: опухоль-инфильтрирующие В-лимфоциты (Т1В), первичная культура клеток опухолей, иммунотерапия, персонафицированная терапия

Abstract. We have assessed the representation of tumor-infiltrating B-lymphocytes (T1B) for various types of tumors. The cultivating conditions for

primary tumor cell cultures were adapted for molecular display and identification of molecular targets stimulating antitumor responses. The results obtained are of particular importance for the diagnosis and development of alternative regimens for cancer immunotherapy.

Keywords: tumor-infiltrating B-lymphocytes (TIB), primary tumor cell culture, cancer immunotherapy, personalized therapy

Несмотря на огромный прогресс в области иммуноонкологии, роль опухоль-инфильтрирующих В-лимфоцитов (ТІВ) в процессах, сопровождающих развитие онкологических заболеваний остается противоречивой. В то время как для некоторых типов опухолей была показана достоверная корреляция улучшения прогноза выживаемости с ростом представленности популяции ТІВ, для многих типов рака было показано наличие субпопуляций регуляторных ТІВ, снижающих эффективность противоопухолевого иммунного ответа. Решение проблемы двойственности функций ТІВ невозможно без детального анализа их репертуаров. Синергия технологий капельной микрофлюидики и молекулярного дисплея позволяет идентифицировать специфичность ТІВ, что, в свою очередь, позволяет разработать новые подходы высокоэффективной персонализированной терапии опухолей. В данной работе была проведена оценка представленности ТІВ для различных типов опухолей, а также проведена оценка взаимосвязи между тяжестью заболевания и уровнем ТІВ. Исследованные опухоли были культивированы для проведения молекулярного дисплея и идентификации молекулярных мишеней противоопухолевого ответа. Полученные результаты представляют высокую важность для диагностики и разработки альтернативных режимов иммунотерапии опухолей.

*Исследования выполнены при поддержке гранта
Минобрнауки России 075-15-2021-1049.*

ОЦЕНКА УРОВНЕЙ SPD-1, SPD-L1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ КОСТЕЙ И В ГРУППЕ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ С УЧЕТОМ ВОЗРАСТА И ПОЛА

EVALUATION OF THE LEVELS OF SPD-1, SPD-L1 IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH BONE NEOPLASMS AND IN THE GROUP OF HEALTHY DONORS, TAKING INTO ACCOUNT AGE AND GENDER

*Алферов А.А., Козлова Е.В., Булычева И.В.,
Вашкетова О.И., Сушенцов Е.А.*

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

*Alferov A.A., Kozlova E.V., Boulytcheva I.V.,
Vashketova O.I., Sushentsov E.A.*

*Federal State Budgetary Institution N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology
of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia*

e-mail: alexandr.alferov@yahoo.com

Аннотация. Изучены сывороточные уровни основных компонентов контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 рецептора программируемой клеточной гибели sPD-1 и его лиганда sPD-L1 у пациентов с первичными опухолями костей и группы здоровых доноров. Исследована связь исследуемых маркеров с возрастом и полом пациентов. Показано, что концентрации sPD-1 и sPD-L1 не связаны с возрастом больных новообразованиями костей и здоровых доноров, при этом уровни sPD-1 статистически значимо выше у мужчин, чем женщин в общей группе больных опухолями костей, в группе больных злокачественными опухолями костей и типичной хондросаркомой.

Ключевые слова: опухоли костей, sPD-1, sPD-L1

Abstract. Serum levels of the immune checkpoint components PD-1/PD-L1 of the programmed cell death receptor sPD-1 and its ligand sPD-L1 were studied

in patients with primary bone tumors and in a group of healthy donors. The relationship of the studied markers with the age and sex of patients was studied. It was shown that the concentrations of sPD-1 and sPD-L1 are not associated with the age of patients with bone neoplasms and healthy donors, while the levels of sPD-1 are statistically significantly higher in men than in women in the general group of patients with bone tumors, in the group of patients with malignant bone tumors and typical chondrosarcoma.

Keywords: bone tumors, sPD-1, sPD-L1

Введение. Поиск лабораторных маркеров при опухолях костей имеет важное значение для дифференциальной диагностики, терапии и прогноза. В настоящее время особое внимание уделяют исследованию растворимых форм основных компонентов контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 рецептора программируемой клеточной гибели sPD-1 и его лиганда sPD-L1, которые играют одну из ключевых ролей в регуляции противоопухолевого иммунитета.

Цель исследования. Провести анализ сывороточных уровней sPD-1 и sPD-L1 у больных саркомами костей и здоровых доноров группы контроля и их связь с возрастом и полом.

Материалы и методы. Обследовали 102 больных злокачественными опухолями костей: остеосаркома — 39, хондросаркома — 42, хордома — 12, саркома Юинга — 9. В группу контроля включили 56 практически здоровых доноров соответствующего пола и возраста. Определение сывороточных уровней sPD-1 и sPD-L1 проводили с использованием наборов реактивов для иммуноферментного анализа компании eBioscience (США).

Результаты. Выявлена обратная корреляционная зависимость между возрастом и концентрациями sPD-1 в группе контроля. Не обнаружено зависимости между возрастом и концентрациями изученных сывороточных маркеров sPD-1, sPD-L1 в группах больных саркомами костей с различным гистологическим строением.

Установлено, что в большинстве групп содержание sPD-1 в сыворотке крови женщин снижено по сравнению с мужчинами. Так, в общей группе больных опухолями костей, в группе больных саркомами костей, в группе больных типичной хондросаркомой различия уровней sPD-1 были статистически значимо ниже у женщин по сравнению с мужчинами. У больных опухолями костей всех групп концентрация лиганда sPD-L1 в сыворотке крови не отражала пол пациента.

У лиц мужского пола установлены статистически значимые различия между концентрациями sPD-1 при хондросаркоме и саркоме Юинга ($p=0,01$), при хордоме и саркоме Юинга ($p=0,01$). Также в обследованных группах женского пола различия были статистически значимыми ($p=0,0089$). Статистически значимо различались

по показателю sPD-1 группы женщин, больных доброкачественными новообразованиями костей от пограничных ($p=0,03$), а пограничные от злокачественных опухолей ($p=0,004$). Отмечено статистически значимое снижение содержания sPD-1 в сыворотке крови женщин, больных типичной хондросаркомой (24,9 пг/мл), по сравнению с женщинами, больными пограничной гигантоклеточной опухолью кости (68,8 пг/мл; $p=0,002$).

Заключение. На основании полученных данных следует считать, что возраст не связан с уровнями как sPD-1, так и sPD-L1 у больных новообразованиями костей всех обследованных групп. Уровни sPD-1 статистически значимо выше у мужчин, чем женщин в общей группе больных опухолями костей, в группе больных злокачественными опухолями костей и типичной хондросаркомой.

КОМПОНЕНТЫ СИСТЕМЫ VEGF/VEGFR ПРИ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ЯИЧНИКОВ

COMPONENTS OF THE VEGF/VEGFR SYSTEM AT OVARIAN NEOPLASMS

**Бабкина И.В., Кушлинский Д.Н., Ермилова В.Д.,
Адамян Л.В.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н.Блохина Министерства здравоохранения России, Москва, Россия

**Babkina I.V., Kushlinsky D.N., Ermilova V.D.,
Alamyantsev L.V.**

Federal State Budgetary Institution N.N.Blokhin National Medical Research Center of Oncology Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

e-mail: docbabkina@rambler.ru

Аннотация. Изучен и обобщен опыт исследования компонентов системы VEGF/VEGFR в крови и опухоли при новообразованиях яичников. Показаны возможности использования результатов количественного определения sVEGF, sVEGF-R1, sVEGF-R2 в прогнозе заболевания при новообразованиях яичников.

Ключевые слова: новообразования яичников, sVEGF, sVEGF-R1, sVEGF-R2

Abstract. The experience of studying the components of the VEGF/VEGFR system in the blood and tumors in ovarian neoplasms was studied and summarized. The possibilities of using the results of quantitative determination of sVEGF, sVEGF-R1, sVEGF-R2 in the prognosis of the disease in ovarian neoplasms are shown.

Keywords: ovarian neoplasms, sVEGF, sVEGF-R1, sVEGF-R2

Для понимания этапов развития новообразования яичников в условиях свершившейся опухолевой трансформации клеток, важно изучение основных биологических характеристик опухоли, а именно, конкретных молекул, связанных с механизмами регуляции скорости роста, пролиферативной активности, апоптоза, неоангиогенеза,

а при злокачественных опухолях — инвазивной способности и метастазирования. К ним относятся и sVEGF, sVEGF-R1, sVEGF-R2.

Материалы и методы. Проведено изучение компонентов системы sVEGF/sVEGFR у 322 больных новообразованиями яичников (НОЯ) в возрасте 17–82 лет, проходивших обследование и лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России в период с 2008 по 2015 гг. и у 197 практически здоровых женщин того же возраста. У пациенток исследовали венозную кровь и цитозоль новообразования, здоровых доноров — венозную кровь. У всех больных с НОЯ клинический диагноз подтвержден данными морфологического исследования опухоли, согласно Международной классификации опухолей женской репродуктивной системы (ВОЗ, 2013). У 147 (28,3%) больных выявлена злокачественная опухоль яичников ЗОЯ — рак яичников (РЯ), у 21 (4,0%) — пограничная опухоль яичников (ПОЯ) и у 154 (29,7%) — доброкачественная опухоль яичников (ДОЯ). У преобладающего числа пациенток диагностировали III стадию (55,1%), максимальное число из которых было представлено IIIc — стадией заболевания (41,5%). Высокую степень дифференцировки опухолевых клеток (G1) выявили у 47 (32%) больных, умеренную (G2) — у 69 (46,9%), низкую (G3) — у 31 (21,1%). Определение sVEGF, sVEGF-R1 и sVEGF-R2 проводили иммуноферментным методом с использованием готовых наборов реагентов «R&D systems» (США), СА-125 — электрохемилюминисцентным методом на приборе «Cobas-6000». При статистическом анализе рассчитывали медиану, квартили и применяли непараметрические методы сравнения несвязанных признаков (Kruskal-Wallis Anova & Median test при количестве сравниваемых групп более двух и Mann-Whitney при сопоставлении двух групп). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. По данным ROC-анализа диагностическая ценность содержания sVEGF в сыворотке крови больных НОЯ в распознавании ЗОЯ не выявлена. Зависимости содержания sVEGF в первичной опухоли больных ЗОЯ от стадии опухолевого процесса, степени дифференцировки опухоли, наличия асцита и опухолевых клеток в смывах брюшной полости не выявлено. Содержание sVEGF в первичных опухолях больных НОЯ зависело от морфологического строения. В ЗОЯ содержание sVEGF было статистически значимо выше, чем в ДОЯ и не отличалось от такового при ПОЯ. Более низкие показатели sVEGF в опухоли (менее 200 пг/мг белка) чаще выявляли у больных эндометриоидным раком яичников (40%).

Отличий в уровнях sVEGF-R1 в крови не выявили. sVEGF-R1 в цитозоле опухоли больных ЗОЯ были выше у пациенток с неблагоприятными факторами прогноза (III–IV стадия опухолевого процесса и наличие асцита) и не зависели от степени дифференциров-

ки новообразования. Исходя из наших данных, определение уровня sVEGF-R1 в сыворотке крови и VEGF-R1 в опухоли самостоятельно не может быть использовано в качестве диагностического опухолевого маркера НОЯ.

Различий в уровнях sVEGF-R2 в сыворотке крови при ЗОЯ в зависимости от степени дифференцировки опухоли не выявлено, а в опухоли содержание sVEGF-R2 при высокодифференцированных опухолях (95,4 пг/мг белка) было достоверно ниже ($p < 0,05$), чем при умеренно- (162 пг/мг белка) и низкодифференцированных (158 пг/мг белка).

Рассчитали коэффициент соотношения sVEGF/sVEGF-R1 в сыворотке крови больных ДОЯ, ПОЯ и ЗОЯ. При ЗОЯ он составил 5,33 и был значимо выше, чем при ДОЯ (2,61) и ПОЯ (2,12) ($p < 0,05$). Взаимосвязи между этим показателем и стадией заболевания, степенью дифференцировки опухоли, наличием асцита, репродуктивным статусом и морфологическим строением при ЗОЯ не выявили.

При ДОЯ у 65% больных содержание СА-125 в сыворотке крови было ниже 100 Ед/мл, соотношение sVEGF/sVEGF-R1 менее 5. При ПОЯ частота выявления таких значений составила 50%, при ЗОЯ (2,9%). Различия статистически значимы ($p = 0,0001$). Это позволило предположить, что, при обнаружении в сыворотке крови больных НОЯ уровня СА-125 менее 100 Ед/мл и коэффициента соотношения sVEGF/sVEGF-R1 менее 5 вероятность наличия ЗОЯ минимальна.

Сходная закономерность отмечена при анализе соотношения sVEGF/sVEGF-R2 в сыворотке крови, при ЗОЯ оно составило 52,8 и было выше, чем при ДОЯ (30,5) и ПОЯ (28,3). Однако достоверные различия отмечены только при сравнении групп ЗОЯ и ПОЯ ($p < 0,05$).

Применение дискриминантного анализа с использованием значений показателей СА-125, sVEGF, sVEGF-R1 и sVEGF-R2 в сыворотке крови, позволило повысить точность распознавания злокачественного характера процесса в яичниках до 85,4% (чувствительность 75%, специфичность 92,9%).

Выводы. Включение в скрининг обследования пациентов с новообразованиями яичников исследований sVEGF, sVEGF-R1 и sVEGF-R2 в сыворотке крови и в цитозоле опухоли может дополнить информацию о прогнозе заболевания и оказать помощь в выборе тактики лечения.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ РУТИННЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ТЕСТОВ В ДИАГНОСТИКЕ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПЕРИКАРДИТА

CLINICAL VALUE OF ROUTINE LABORATORY TESTS IN THE DIAGNOSIS OF METASTATIC PERICARDITIS

Базарный В.В., Копенкин М.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Екатеринбург, Россия

Bazarnyi V.V., Kopenkin M.A.

Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia

e-mail: vlad-bazarny@yandex.ru

Аннотация. Представлены особенности лабораторного исследования перикардиальной жидкости (ПЖ) у пациентов с метастатическими перикардитами с целью выявления дифференциальных диагностических признаков.

Ключевые слова: перикардиальная жидкость, метастатический перикардит

Abstract. The article presents the features of laboratory examination of pericardial fluid in patients with metastatic pericarditis. The aim of the study is identify differential laboratory characteristics.

Key words: pericardial fluid, metastatic pericarditis

Введение. Метастатический перикардит является распространенным и серьезным проявлением злокачественных новообразований. В соответствии с клиническими рекомендациями Европейского общества кардиологов при этом заболевании необходима лабораторная оценка перикардиальной жидкости (ПЖ). Актуальность данного исследования обусловлена тем, что интерпретация состава ПЖ обычно

выполняется с использованием критериев Лайта, установленных при анализе плевральной жидкости, хотя имеется мнение о некорректности такого подхода.

Цель исследования. Установить дифференциальные лабораторные признаки исследования ПЖ при метастатическом перикардите.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ результатов исследования ПЖ у 16 пациентов с морфологически подтвержденным диагнозом метастатического поражения перикарда. Первичный очаг часто неизвестен. Группу сравнения составили 10 пациентов с декомпенсированной сердечной недостаточностью, у которых выпотная ПЖ расценена как трансудат.

ПЖ получали посредством пункции перикардиальной полости.

Комплекс лабораторных тестов включал цитологическое исследование с подсчетом лейкоцитарной формулы перикардиального выпота и оценку результатов клинического анализа крови (Sysmex XT4000i).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась на основании принципов вариационной статистики с использованием непараметрических критериев. Для оценки диагностической эффективности использован ROC-анализ, для выбора оптимальной точки отсечения (cut-off) применяли индекс Юдена (J). Статистический анализ проводился с использованием средств Microsoft Excel, MedCalc, Analyse it.

Результаты. При анализе лейкоформулы ПЖ и гематологических показателей различий по изученным параметрам между группами не было выявлено, а их клиническая ценность признана низкой ($0,5 < AUC < 0,7$).

Иное заключение было сделано при оценке уровня белка в ПЖ и сыворотке крови. Так, при метастатическом перикардите он был выше в 1,5 раза, чем в группе сравнения, а соотношение белка ПЖ и сыворотки — в 1,2 раз ($p < 0,05$). На основании полученных результатов мы пришли к заключению, что умеренно точно различать группу с метастатическим поражением от группы сравнения позволял уровень общего белка в ПЖ более 30,0 г/л ($AUC = 0,84$) и градиента белка (белок ПЖ/белок сыворотки) более 0,5 ($AUC = 0,86$). То есть, при уровне белка в ПЖ более 30 г/л высоко вероятен диагноз метастатического перикардита (диагностическая чувствительность — 93%, диагностическая специфичность — 78%).

Заключение. Таким образом, лабораторными признаками, позволяющими выявлять пациентов с метастатическими выпотами, являются общий белок ПЖ и градиент общего белка соотношение ПЖ/сыворотка). Практическая ценность данного вывода была подтверждена рядом клинических наблюдений на обучающей выборке пациентов. Использование данного подхода позволяет сократить время диагностического поиска.

РАЗНООБРАЗИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ TP53 У БОЛЬНЫХ В-КЛЕТОЧНЫМИ ЛИМФОМАМИ

TP53 GENE MUTATION DIVERSITY IN RUSSIAN PATIENTS WITH B-CELL LYMPHOMAS

*Бидерман Б.В., Северина Н.А., Королева Д.А.,
Габеева Н.Г., Беляева А.В., Татарникова С.А., Бабаева Ф.Э.,
Нестерова Е.С., Мангасарова Я.К., Марголин О.В.,
Багова М.О., Магомедова А.У., Кравченко С.К., Обухова Т.Н.,
Звонков Е.Е., Судариков А.Б.*

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

*Biderman B.V., Severina N.A., Koroleva D.A., Gabeeva N.G.,
Belyaeva A.V., Tatarnikova S.A., Babaeva F.E., Nesterova E.S.,
Mangasarova Ya.K., Margolin O.V., Bagova M.O.,
Magomedova A.U., Kravchenko S.K., Obukhova T.N.,
Zvonkov E.E., Sudarikov A.B.*

National Medical Research Center for Hematology, Moscow, Russia

e-mail: bella_biderman@mail.ru

Аннотация. Показано, что частота мутаций в гене TP53 у пациентов с В-клеточными лимфомами, наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦ Гематологии» МЗ РФ, значительно выше, чем опубликованная для других выборок. В большинстве случаев наблюдаются (вероятно) патогенные варианты с высокой мутационной нагрузкой. Встречаемость мутаций в «горячих точках» соответствует ожидаемой.

Ключевые слова: TP53, мутации, лимфомы

Abstract. The occurrence of TP53 gene mutations in B-cell lymphoma patients admitted to the National Medical Research Center for Hematology (Moscow, Russia) is significantly higher than reported for other patient cohorts. In most cases there are (likely) pathogenic variants with a high load of the mutated allele. The mutation rate in the «hot spots» matches common expectations.

Keywords: TP53, mutations, lymphomas.

Введение. Ген *TP53* играет ключевую роль в контроле клеточно-го цикла, репарации ДНК, запуска апоптоза и других важнейших клеточных процессов. Мутации в гене *TP53* обнаруживаются практически при всех типах злокачественных новообразований и в большинстве случаев являются маркером неблагоприятного прогноза. Среди онкогематологических заболеваний нарушения в этом гене наиболее активно исследуются при хроническом лимфоцитарном лейкозе, в то время как при лимфомах эта проблема изучена недостаточно.

Цель. Исследовать частоту, спектр и аллельную нагрузку мутаций в гене *TP53* у больных В-клеточными лимфомами.

Материалы и методы. В исследование были включены образцы ДНК 145 пациентов с В-клеточными лимфомами, наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦ Гематологии» МЗ РФ в 2020–2021 гг.: 53 пациента с диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ) — 29 женщин, 24 мужчин, возраст 28–87 лет, медиана возраста 56 лет; 47 пациентов с мантийно-клеточной лимфомой (МКЛ) — 17 женщин, 30 мужчин, возраст 42–73 года, медиана возраста 59 лет и 45 пациентов с фолликулярной лимфомой (ФЛ) — 28 женщин, 17 мужчин, возраст 30–72 года, медиана возраста 49 лет, из них 16 — с трансформацией в ДВККЛ. Мутации в гене *TP53* (4–10 экзоны) исследовали с помощью секвенирования нового поколения (NGS) согласно Pavlova et al., либо методом секвенирования по Сэнгеру (7 пациентов). Клиническое значение обнаруженных вариантов определяли с помощью онлайн-инструмента Seshat на основе базе данных UMD *TP53*. Исследование на наличие делеции 17p13/*TP53* выполняли методом FISH.

Результаты. В группе пациентов с ДВККЛ мутации в гене *TP53* были выявлены у 24 (45,4%). При этом было обнаружено 21 миссенс-мутация (в двух случаях — в «горячих точках» p.R249M и p.R282W; у двух пациентов мутации были в одной позиции p.G266), 2 мутации зоны сплайсинга и 1 инсерция. 16 вариантов были определены как (вероятно) патогенные, у 13 из них мутационная нагрузка (VAF) была более 15%. Из 8 мутаций неясного значения 4 имели VAF < 10%. У 7 пациентов с мутациями *TP53* одновременно выявлялась del17p (из 11 обследованных).

В группе МКЛ мутации были обнаружены у 19 пациентов (40%). 18 из них — миссенс-мутации (4 в «горячей точке» p.R248 и 2 в положении p.V173) и 1 сплайсинг-мутация. 16 вариантов определялись как (вероятно) патогенные и имели VAF > 14%. Все три варианта неясного значения были минорными. Нарушения 17й хромосомы обнаружены у 7 пациентов МКЛ с мутациями *TP53* из 11 исследованных.

В группе с ФЛ мутации *TP53* были выявлены у 12 пациентов (26,7%). Из 8 миссенс-мутаций четыре были в горячих точках

p.R175H, p.R248Q, p.R249M и p.R273H. Также в этой группе наблюдались 2 нонсенс-мутации, 1 сплайсинг-мутация и 1 делеция. Из 9 вариантов, признанных (вероятно) патогенными, только 1 был минорным, как и 1 вариант неясного значения. Только у 1 пациента из 6 обследованных выявлена del17p. Все результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1

Спектр мутаций в гене TP53 у больных В-клеточными лимфомами

Диагноз	Вариант	VAF, %	Значение	Диагноз	Вариант	VAF, %	Значение	Диагноз	Вариант	VAF, %	Значение
ДВККЛ	p.A76V	16	ВНЗ	ДВККЛ	p.A307T	34	ВНЗ	МКЛ	p.C277X	84	ВП
ДВККЛ	p.T125P	17	ВП	ДВККЛ	p.P316L	10	ВНЗ	МКЛ	p.E286K	49	ВП
ДВККЛ	p.A138V	>45*	ВП	ДВККЛ	p.R337C	20	ВП	МКЛ	p.E287G	5	ВНЗ
ДВККЛ	p.V173L	59	П	ДВККЛ	c.729_730 ins	32	ВНЗ	МКЛ	p.R290H	4	ВНЗ
ДВККЛ	p.C176S	>15*	ВП	ДВККЛ	c.783-4G>A	6	ВНЗ	МКЛ	p.H296Y	3	ВНЗ
ДВККЛ	p.I195T	73	ВП	ДВККЛ	c.559+2T>A	7,5	ВП	МКЛ	c.560-2A>G	>15	ВП
ДВККЛ	p.V216L	>15*	ВП	МКЛ	p.T125R	80	ВП	ФЛ	p.W53X	95	ВП
ДВККЛ	p.N247N	5,5	ВНЗ	МКЛ	p.T126C	>15*	ВП	ФЛ	p.E62Kfs*61	65	ВНЗ
ДВККЛ	p.R249M#	44	П	МКЛ	p.V173M	14	П	ФЛ	p.R175H#	15	П
ДВККЛ	p.G262D	9	ВНЗ	МКЛ	p.V173G	52	П	ФЛ	p.C238Y	8	П
ДВККЛ	p.G266E	53	ВП	МКЛ	p.H214R	49	ВП	ФЛ	p.R248Q#	32	П
ДВККЛ	p.G266R	27	ВП	МКЛ	p.S215R	74	ВП	ФЛ	p.R249M#	4	П
ДВККЛ	p.R267W	3	ВП	МКЛ	p.R248W#	>15*	П	ФЛ	p.S269G	9	ВНЗ
ДВККЛ	p.C277F	80	ВП	МКЛ	p.R248Q#	>15*	П	ФЛ	p.R273H#	17	П
ДВККЛ	p.R282W#	63,5	П	МКЛ	p.R248W#	>15*	П	ФЛ	p.K321E	5	ВНЗ
ДВККЛ	p.E286K	36	ВП	МКЛ	p.R248W#	26	П	ФЛ	p.Q331Q	56	ВП
ДВККЛ	p.E287E	2,5	ВНЗ	МКЛ	p.L252P	67	ВП	ФЛ	p.R342X	20	ВП
ДВККЛ	p.R306X	7	ВП	МКЛ	p.I255N	70	ВП	ФЛ	c.920-1G>A	7	ВП
				МКЛ	p.E271K	45,6	ВП				

Примечание: # – мутации в «горячих точках»; * – мутации, определенные методом секвенирования по Сэнгеру, определение мутационной нагрузки данным методом недостоверно; П – патогенная, ВП – вероятно патогенная, ВНЗ – вариант неясного значения.

Заключение. Полученные результаты показывают, что частота мутаций в гене *TP53* у пациентов с В-клеточными лимфомами в нашей выборке значительно выше, чем опубликованная для других выборок. Отчасти этот факт можно объяснить предварительной селекцией пациентов. В группах ДВККЛ и ФЛ в значительной части случаев исследовали материал пациентов в состоянии прогрессии или рецидива. В группе МКЛ большинство пациентов были первичными, однако в НМИЦ Гематологии чаще поступают пациенты с развернутыми стадиями заболевания. В подавляющем большинстве случаев наблюдаются (вероятно) патогенные варианты с высокой мутационной нагрузкой (VAF > 10%). При этом встречаемость мутаций в «горячих точках», в среднем, соответствует ожидаемой. Планируются дальнейшие исследования влияния вида мутаций, их аллельной нагрузки и сочетания с нарушениями 17-й хромосомы на течение лимфом.

ДИСКОРДАНТНОСТЬ ХИМЕРИЗМА В КРОВИ И В КОСТНОМ МОЗГЕ КАК ВЕРОЯТНЫЙ ПРИЗНАК НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ АЛЛО-ТГСК

DISCORDANCE OF CHIMERISM IN THE BLOOD AND BONE MARROW AS A POSSIBLE SIGN OF ADVERSE OUTCOME AFTER ALLO-HSCT

Дубова О.Е.¹, Рисинская Н.В.², Юшкова А.А.², Шихвеледова Ф.К.², Дроков М.Ю.², Кузьмина Л.А.², Судариков А.Б.²

¹ Федеральное государственное автономное учреждение высшего образования Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный медицинский исследовательский центр гематологии Минздрава России, Москва, Россия

Dubova O.E.¹, Risinskaya N.V.², Yushkova A.A.², Shikhveledova F.K.², Drokov M.Y.², Kuzmina L.A.², Sudarikov A.B.²

¹ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

² National Research Center for Hematology, Moscow, Russia

e-mail: doe30102001@gmail.com, Risinskaya.n@blood.ru

Аннотация. Проведено ретроспективное исследование химеризма в парных образцах костного мозга и периферической крови у пациентов после алло-ТГСК. Обнаружено, что значительное преобладание химеризма в костном мозге по сравнению с периферической кровью ассоциировано с наиболее неблагоприятными исходами: рецидивами, требующими повторной трансплантации, или гибелью пациента.

Ключевые слова: костный мозг, периферическая кровь, пострасплантационный химеризм, STR-PCR

Abstract. A retrospective study of chimerism in paired bone marrow and peripheral blood samples from patients after allo-HSCT was performed. It has been shown that a significant predominance of chimerism in the bone marrow

compared to peripheral blood is associated with the most unfavorable outcomes – relapse requiring second transplantation, or death of the patient.

Keywords: bone marrow, peripheral blood, chimerism, STR-PCR

Введение. Обычно для анализа химеризма у пациентов после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) используют ДНК из пунктата костного мозга (КМ), реже из периферической крови (ПК). Имеются противоречивые данные о эквивалентности использования костного мозга и периферической крови для прогнозирования рецидива. С. Vach и соавт. (2017) показали на выборке в 825 пар образцов, что мониторинг химеризма в КМ обычно дает более чувствительную оценку состояния после алло-ТГСК [1]. С.А. Rauwerdink и соавт. (2012), напротив, показывает, что анализ химеризма достаточно проводить только на периферической крови, что менее травматично для пациента, поскольку значения химеризма в ПК эквивалентны химеризму в костном мозге [2]. V. Gambacorta и соавт. (2020) также указывают о предпочтении выбора ПК для анализа химеризма у пациентов с ОМЛ группы высокого риска [3]. Цель настоящего исследования — исследовать возможную ассоциацию различий химеризма в парных образцах ПК и КМ с особенностями клинического течения заболевания у пост-трансплантационных больных ОМЛ.

Материалы и методы. В исследование включено 39 пациентов, наблюдавшихся в ФГБУ НМИЦ гематологии после алло-ТГСК с 2016 по 2022 год. У всех на определенном этапе терапии был установлен смешанный химеризм в костном мозге. Взятие КМ и ПК производили с разницей по времени не более одного дня. Мониторинг химеризма осуществляли методом STR-ПЦР с использованием лиофилизированного мультиплексного набора CorDIS Plus (19 полиморфных STR-маркеров и локус X/Y амелогенина человека) с последующим разделением продуктов ПЦР методом капиллярного электрофореза. Химеризм рассчитывали на основе процентного содержания уникальных маркеров донора и реципиента в информативных локусах STR с использованием программного обеспечения GeneMapper v. 4–0.

Результаты. Из 39 пациентов со смешанным химеризмом после алло-ТГСК у 8 человек (20,5%) разница химеризма в костном мозге и периферической крови была более 50%. У троих больных (7,69%) (Б. 33, Б. 13, Б. 29) был определен смешанный химеризм с долей ДНК реципиента в крови, более чем в два раза превышающей долю реципиента в костном мозге. Эти результаты можно объяснить несостоятельностью трансплантата и запоздалым восстановлением кроветворения (Б. 33 +13 дней, Б. 13 +27 дней, Б. 29 +34 дня после алло-ТГСК). Б. 33 и Б. 13 при мониторинге остаточной болезни име-

ли низкую клеточность образца. Со временем у больных установилось 100% донорское кроветворение, на момент публикации данных больные живы, в ремиссии.

У 5 больных (Б. 9, Б. 10, Б. 12, Б. 7, Б. 32) доля ДНК реципиента в костном мозге была вдвое выше, чем в крови. У Б. 7 и Б. 9 этот феномен можно объяснить трансфузией лимфоцитов донора за 6 дней до и в день взятия материала для мониторинга химеризма соответственно. У пациента 12 явление дискордантности химеризма в КМ и ПК наблюдалось в 6 временных точках после алло-ТГСК от первого родственного донора. После рецидива Б. 12 перенес повторную трансплантацию от другого полностью совместимого родственного донора, и разницы в химеризме в КМ и ПК не наблюдалось. Б. 10, которому была назначена ретрансплантация, вскоре погиб от септического шока. Б. 32 перенес повторную трансплантацию, после которой у больного наступила ремиссия. Таким образом, у пяти вышеперечисленных больных констатирован рецидив.

Заключение. Преобладание ДНК реципиента в ПК по сравнению с КМ, отмеченное на ранних сроках после алло-ТГСК, может не соответствовать реальной картине из-за низкой клеточности образца ПК вследствие замедленной реконституции кроветворения. Обратная ситуация может быть не связана с трансфузиями донорских лимфоцитов, но нами отмечено, что такое редкое явление соотносится с наиболее неблагоприятным исходом, и поэтому для изучения явления дискордантности параллельный мониторинг химеризма в крови и костном мозге должен быть осуществлен на расширенной выборке пациентов.

Литература

1. *Bach C., Steffen M., Roesler W., Winkler J., Mackensen A., Stachel K.D. et al.* Systematic comparison of donor chimerism in peripheral blood and bone marrow after hematopoietic stem cell transplantation // *Blood Cancer J.* 2017. Vol. 7. № 6: e566.
2. *Rauwerdink C.A., Tsongalis G.J., Tosteson T.D., Hill J.M., Meehan K.R.* The practical application of chimerism analyses in allogeneic stem cell transplant recipients: blood chimerism is equivalent to marrow chimerism // *Exp. Mol. Pathol.* 2012. Vol. 93. № 3. P. 339–344.
3. *Gambacorta V., Parolini R., Xue E., Greco R., Bouwmans E.E., Toffalori C. et al.* Quantitative PCR-based chimerism in bone marrow or peripheral blood to predict acute myeloid leukemia relapse in high-risk patients: results from the KIM-PB prospective study // *Haematologica.* 2020. Vol. 106. № 5. P. 1480–1483.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ВЫБОР ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ ХРЯЩЕВЫХ ОПУХОЛЕЙ

DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC FACTORS INFLUENCING THE CHOICE OF TACTICS FOR THE TREATMENT OF THE CARTILAGINOUS TUMORS

Козлова Е.В., Булычева И.В., Ковалева О.В., Сушенцов Е.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Kozlova E.V., Boulytcheva I.V., Kovaleva O.V., Sushentsov E.A.

Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

e-mail: elizavetaklv@mail&ru

Аннотация. Хрящеобразующие опухоли костей относятся к одному из наиболее сложных разделов в онкоморфологии, в особенности, при диагностике на малом материале биопсий. Сложности дифференциальной диагностики в группе этих опухолей, поиск новых эффективных опций для лечения являются предпосылками для исследования их характерных молекулярных маркеров и генетических поломок. Так, для дифференциальной диагностики хондробластического варианта остеосаркомы и конвенциональной хондросаркомы может использоваться исследование мутаций IDH1/IDH2. В мировую практику прочно вошло исследование мутации K36M (H3F3B) в качестве маркера хондробластомы. По последним данным, mGlu1 является пусковой драйверной мутацией в хондромиксоидной фиброме. Маркер Neu-1 является диагностическим для мезенхимальной хондросаркомы. Однако основным маркером диагностики и прогноза при конвенциональной хондросаркоме, по-прежнему, остается степень дифференцировки опухоли или grade. Хондросаркома остается так называемой «хирургической» саркомой. В этой связи является актуальным поиск новых подходов к лечению с применением методов иммунотерапии и таргетной химиотерапии.

Ключевые слова: хондросаркома, дедифференцированная хондросаркома, иммуногистохимия, *PD-L/PD-L1* антитела

Abstract. Cartilaginous bone tumors are the most difficult subtypes of tumors in oncomorphology, especially when diagnosing on small biopsy material. The difficulties in differential diagnosis accelerate the search for new molecular markers and genetic breakdowns. Thus, for the differential diagnosis of the chondroblastic variant of osteosarcoma and conventional chondrosarcoma, the study of *IDH1/IDH2* mutations can be used. The study of the K36M (*H3F3B*) mutation as a marker of chondroblastoma has become firmly established in world practice. According to recent data, *mGluR1* is a trigger driver mutation in chondromyxoid fibroma. The *Hey-1* marker is diagnostic for mesenchymal chondrosarcoma. According to recent data, *mGluR1* is a trigger driver mutation in chondromyxoid fibroma. The *Hey-1* marker is diagnostic for mesenchymal chondrosarcoma. However, the main marker of diagnosis and prognosis in conventional chondrosarcoma, as before, remains the degree of differentiation of the tumor or grade. Chondrosarcoma remains a so-called «surgical» sarcoma. In this regard, the search for new approaches for effective treatment using targeted chemotherapy and immunotherapy is relevant.

Keywords: chondrosarcoma, dedifferentiated chondrosarcoma, immunohistochemistry, immunotherapy, anti-*PD-L/PDL-1* antibodies

Chondrosarcoma (CHS) accounts for 20% of primary bone tumors mainly in adults. Based on morphological features and clinical evolution, different subtypes of chondrosarcoma are described, the most frequent being conventional chondrosarcoma (80–85%). Three grades of conventional CHS exist based on cellularity, on the composition of the matrix (chondroid and/or myxoid), on nuclear atypia and on the presence of mitosis. The 10-year survival rate of these tumors is 85% for grade I CHS and 29% for grade III CHS, and the risk of local and distant recurrence increases with histological grade. Among the remaining CHS subtypes, dedifferentiated CHS (10%) is characterized by the occurrence of two components separated by a distinct interface: a well-differentiated cartilaginous tumor (enchondroma, grade I or II CHS) adjacent to a typically high-grade sarcoma. Dedifferentiated CHS has a high metastatic potential and presents a worse prognosis than conventional CHS. Surgical monobloc resection remains the most effective treatment for conventional CHS, systemic treatments (chemotherapy and radiotherapy) having limited efficacy. Over the last 10 years, research has focused on elucidating the biology of chondrosarcoma, with the aim of developing new molecularly targeted therapies. It is now recognized that the density and the composition of immune infiltrates in solid tumors are correlated with patient outcome and play a role in tumor progression, suggesting that new therapeutic options could include manipulating the tumor microenvironment and its immune infiltrate. Hence, therapeutic approaches aiming at activating immune cells have raised hopes for solid tumor management. However, knowledge

on the immune environment and development of immunotherapies for people with bone sarcoma are lacking. Clinicopathological data of 35 cases of conventional and 9 cases of dedifferentiated chondrosarcoma of the validated cohort used for the analyses. The study demonstrated the expression of PD-L1 in 64% (9/6) of dedifferentiated CHS, constituting a potential indication for the administration of anti-PD-1/PD-L1 antibodies to patients with this tumor subtype. Further investigation, including the tumor-infiltrating lymphocytes (TILs: CD3, CD8) and tumor-associated macrophages (TAMs: CD68) was performed by scoring each marker on interpretable slides: 9 dedifferentiated CHS were examined for CD3, CD8, CD20, CD68, PU-1. The results and correlation with then survival rates are pending.

**ГИПЕРМЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНОВ МИКРОРНК
И ДЛИННЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК
НА РАЗНЫХ СТУПЕНЯХ РАЗВИТИЯ
И МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ**

**HYPERMETHYLATION OF MICRORNA
AND LONG NON-CODING RNA GENES AT DIFFERENT
STEPS OF OVARIAN CANCER DEVELOPMENT
AND METASTASIS**

***Брага Э.А.¹, Бурденный А.М.¹, Филиппова Е.А.¹,
Лукина С.С.¹, Пронина И.В.¹, Логинов В.И.¹,
Казубская Т.П.², Кушлинский Н.Е.²***

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

***Braga E.A.¹, Burdennyy A.M.¹, Filippova E.A.¹, Lukina S.S.¹,
Pronina I.V.¹, Loginov V.I.¹, Kazubskaya T.P.²,
Kushlinskii N.E.²***

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

² N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

e-mail: eleonora10_45@mail.ru

Аннотация. Выявлены новые aberrантно метилированные гены длинных не кодирующих РНК (днРНК) и микроРНК, специфически участвующие в регуляции различных ступеней патогенеза и метастазирования рака яичников, включая колонизацию макроскопических метастазов по брюшине. Обнаружен двойственный характер изменения уровня метилирования ряда генов днРНК на разных этапах метастазирования. Разработаны новые маркеры для диа-

гностики рака яичников, для выявления метастазирования на его начальных этапах и маркеры снижения выживаемости и риска смерти пациентов.

Ключевые слова: эпителиальный рак яичников, микроРНК, длинные не кодирующие РНК, метастазирование, выживаемость пациентов

Abstract. We have identified new aberrantly methylated lncRNA and miRNA genes specifically involved in the regulation of various steps of ovarian cancer pathogenesis, including the colonization of macroscopic peritoneal metastases. A dual nature of changes in the level of methylation of a number of lncRNA genes at different stages of metastasis was also found. We have developed new markers for diagnosing ovarian cancer, detecting metastasis at its early stages, and markers of reduced survival and risk of death in patients.

Keywords: epithelial ovarian cancer, miRNA, long non-coding RNA, metastasis, patient survival

Рак яичников (РЯ) развивается бессимптомно вплоть до поздних стадий с обширным метастазированием, в первую очередь в брюшину, что приводит к образованию асцита и вызывает устойчивость к существующим методам лечения. И микроРНК, и длинные не кодирующие РНК (днРНК) могут влиять на уровень экспрессии опухоли ассоциированных генов, и понимание механизма их функционирования и де-регуляции, в частности, посредством метилирования промотрных CpG-островков, открывает новые подходы к диагностике, прогнозу и терапии больных РЯ.

Цель данной работы — определение новых гиперметилированных генов днРНК и микроРНК в опухолях яичников и их влияния на разных этапах патогенеза и метастазирования РЯ.

Методы и материалы. Использована выборка образцов первичных опухолей яичников от 102 пациенток (52 без и 50 с метастазами), 30 перитонеальных макроскопических метастазов и 15 контрольных образцов (ткани яичников от умерших лиц без онкологических заболеваний в анамнезе). Анализ уровня метилирования проводили с использованием количественной метил-специфичной ПЦР на приборе CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США). Коммерческий препарат ДНК #G1471 (Promega, США) использовали в качестве контроля неметилированных аллелей. Коммерческий препарат ДНК #SD1131 (Thermo Fisher Scientific) использовали в качестве положительного контроля для 100% метилирования. Статистический анализ уровней метилирования выполнен с применением непараметрического U-теста Манна-Уитни. Использованы математические пакеты IBM SPSS Statistics 20. Для всех статистических тестов значимыми считали значения $p \leq 0.05$. Применяли поправку на множественное сравнение Бенджамини — Хохберга и оценивали величину FDR (False Discovery Rate, частота ложного обнаружения).

Для большинства пациентов данные об общей выживаемости отслеживались в течение более 10 лет. Для анализа выживаемости пациентов в зависимости от уровня метилирования генов микроРНК применяли кривые Каплана-Мейера, точный критерий Фишера, модель пропорциональных рисков Кокса и логарифмический ранговый критерий. Для определения клинически значимых параметров, таких как чувствительность и специфичность, отношение шансов и относительный риск, а также для проведения ROC-анализа использовали онлайн-программу MedCalc (https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test).

Результаты. Определен относительный уровень метилирования 20 генов микроРНК в 102 первичных опухолях и 30 перитонеальных макроскопических метастазах. Для 14 генов микроРНК (*MIR124-3*, *MIR125B-1*, *MIR127*, *MIR129-2*, *MIR132*, *MIR339* и др.) гиперметилирование было выявлено уже на ранних стадиях РЯ. В то же время гиперметилирование четырех генов микроРНК *MIR137*, *MIR1258*, *MIR203A* и *MIR375* обнаруживалось исключительно в опухолях больных с метастазами. Интересно, метилирования гена *MIR148A* не выявлено в первичных опухолях больных, как с метастазами, так и без, однако *MIR148A* показал резкое повышение уровня метилирования в перитонеальных макроскопических метастазах. Таким образом, *MIR137*, *MIR1258*, *MIR203A* и *MIR375* не будучи типично-супрессорными обладают антиметастатической активностью и при этом могут быть использованы для обнаружения начала метастазирования. По-видимому, *MIR148A* также не является типичным супрессором, а повышение метилирования *MIR148A* в перитонеальных макроскопических метастазах может показывать его вовлеченность именно на этапе колонизации вторичных опухолей и указывать на регуляторную роль *MIR148A* в реверсии ЭМП-МЭП, которая свойственна этому процессу. Далее, с применением кривых Каплана-Мейера и с учетом ряда факторов определены 13 генов микроРНК, метилирование которых значимо связано с понижением общей выживаемости больных РЯ. При этом высокие уровни метилирования *MIR130B* и *MIR9-1* ассоциированы с наибольшим относительным риском смерти.

На тех же образцах РЯ проведен анализ уровня метилирования 23 генов днРНК, который показал статистически значимое ($p < 0,001$) повышение уровня метилирования для 21 из 23 исследованных генов днРНК (*MEG3*, *SEMA3B-AS1*, *HAND2-AS1*, *KCNK15-AS1*, *MAGI2-AS3*, *ZNF667-AS1*, *PLUT*, *SSTR5-AS1* и др.), из которых для 19 генов (кроме *MEG3*, *ZNF667-AS1*) гиперметилирование обнаружено впервые. Методом ROC-анализа составлена новая высоко специфичная (относительно ложно-положительных случаев) система маркеров для диагностики РЯ из трех генов днРНК: *KCNK15-AS1*, *MAGI2-AS3*, *SSTR5-*

AS1. Специфичность набора маркеров 100%, чувствительность 98%, величина AUC = 0,989, что много выше 0.9 и близко к единице.

Установлена связь уровня метилирования большинства изученных генов днРНК с показателями прогрессии РЯ. Интересно, для ряда генов днРНК (*MEG3*, *SEMA3B-AS1*, *ZNF667-AS1* и др.) обнаружено частичное снижение уровня метилирования во вторичных опухолях РЯ в брюшине, по сравнению с первичными опухолями, что может указывать на их роль в регуляции реверсии ЭМП-МЭП. Аналогичный в этом аспекте результат установлен нами при анализе изменений уровней метилирования гена мнРНК *MIR148A*.

Выводы. Полученные данные показывают роль различных наборов гиперметилированных нкРНК (микроРНК и днРНК) на разных стадиях прогрессии и метастазирования РЯ и их участие в качестве эпигенетических регуляторов в пластической реверсии ЭМП-МЭП, которая наблюдается при колонизации метастазов в другие органы. На основе набора из 3-х генов днРНК определены новые маркеры для диагностики РЯ, определены 4 гена микроРНК, значимо связанные с начальным этапом метастазирования, и гены микроРНК, связанные с понижением выживаемости и риском смерти больных РЯ.

*Работа поддержана Российским научным фондом,
грант № 20-15-00368.*

**ОСОБЕННОСТИ СТЕРОИДНЫХ ПРОФИЛЕЙ МОЧИ,
ПОЛУЧЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ ГАЗОВОЙ ХРОМАТО-
МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ, В ЗАВИСИМОСТИ
ОТ КЛИНИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК БОЛЬНЫХ
АДРЕНОКОРТИКАЛЬНЫМ РАКОМ**

**URINE STEROID PROFILES FEATURES
OBTAINED USING GAS CHROMATOGRAPHY-
MASS SPECTROMETRY WITH REGARD
TO ADRENOCORTICAL CARCINOMA
PATIENT'S CLINICAL CHARACTERISTICS**

***Великанова Л.И.¹, Ворохобина Н.В.¹, Калугина В.В.¹,
Шафигуллина З.Р.¹, Малеваная Е.В.¹, Бохян В.Ю.²,
Стилиди И.С.², Кушлинский Н.Е.², Бритвин Т.А.³***

¹ ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный университет имени И.И. Мечникова»
Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени
Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

³ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

***Velikanova L.I.¹, Vorokhobina N.V.¹,
Kalugina V.V.¹, Shafigullina Z.R.¹, Malevanaya E.V.¹,
Bokhyan V. Yu.², Stilidi I.S.², Kushlinskii N.E.²,
Britvin T.A.³***

¹ I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, Saint Petersburg, Russia. E-mail:
KaluginaVaV@gmail.com

² Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of
Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

³ Moscow Regional Research and Clinical Institute («MONIKI»), Moscow, Russia

Аннотация. Методом газовой хромато-масс-спектрометрии получены хроматографические признаки различных стадий аденокортикального рака согласно классификации Европейской рабочей группы по изучению опухолей надпочечников (ENSAT, 2009 г.), размера опухоли и гистологических показателей злокачественности процесса у 57 обследованных больных.

Ключевые слова: аденокортикальный рак, газовая хроматография масс-спектрометрия, стадия заболевания, размер опухоли

Abstract. Early and advanced adrenocortical carcinoma biomarkers, signs of a larger primary tumor and higher score on the L.M. Weiss scale were obtained through the study of urine steroid profiles using gas chromatography-mass spectrometry.

Keywords: adrenocortical carcinoma, gas chromatography-mass spectrometry, disease stage, tumor size

Введение. Аденокортикальный рак (АКР) — редкая опухоль коркового вещества надпочечников. Распространенность заболевания составляет 0,7–2 человека на миллион населения, в структуре онкологической смертности — 0,04–0,2%. Изучение стероидных профилей мочи (СПМ) с помощью газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ–МС) является важным методом обследования больных с образованиями надпочечников. В литературе существуют неоднозначные данные о различиях в экскреции кортикостероидов в зависимости от стадии заболевания и размера опухоли у больных АКР.

Цель исследования. Изучить методом ГХ–МС особенности метаболизма стероидов в зависимости от клинических характеристик больных АКР.

Материалы и методы. Обследовано 57 больных АКР (17 мужчин и 40 женщин) в возрасте 18–73 лет. Диагноз подтверждался результатами гистологического исследования (количество баллов > 3 по шкале L. M. Weiss). Методом ГХ–МС определены СПМ больных до оперативного лечения на газовом хромато-масс-спектрометре Shimadzu GCMS–QT8050. Статистическая обработка данных проведена с помощью STATISTICA for Windows (версия 12). Основные количественные характеристики исследованных показателей больных представлены в виде медианы (Me), 25-го и 75-го перцентилей (Q25–Q75). Для сравнения результатов применялся непараметрический критерий Манна–Уитни.

Результаты. Согласно классификации ENSAT I стадия заболевания (ENSAT I) наблюдалась у 5%, ENSAT II — у 33%; ENSAT III — у 22%; ENSAT IV — у 40% больных. У пациентов с ENSAT I–II по сравнению с ENSAT III–IV отмечена более низкая экскреция с мочой метаболитов андрогенов (андростентриола и 5 β -андростан-3 α ,17 β -диола), прогестагенов (17-гидроксипрегненолона, 11-оксо-прегнандиола, 11-гидроксипрегнентриола) и тетрагидро-11-дезоксикортикостерона

($p < 0,04$). По данным компьютерной томографии размер первичной опухоли составил 90 (70–121 мм), нативная плотность образования была +32 (+25– +40HU). В когорте больных с размером карциномы ≤ 90 мм наблюдалась более низкая экскреция с суточной мочой метаболитов андрогенов (этиохоланолона, дегидроэпиандростерона, 16-оксоандростендиола) и прогестагенов (прегнантриола и прегнен-триола) по сравнению с больными АКР с большим размером первичной опухоли (>90 мм). Медиана значений индекса Ki67 была 20 (10–27%), количество баллов по шкале L. M. Weiss — 6 (4–7). У больных с меньшим количеством гистологических признаков злокачественности (7–9) экскреция с суточной мочой метаболита прегненолона, 21-гидроксипрегненолона, была выше ($p < 0,02$) по сравнению с больными с меньшим количеством баллов по шкале L. M. Weiss (4–6). Также у больных с большим количеством гистологических признаков злокачественности по шкале L. M. Weiss определены признаки снижения активности ферментов 21-гидроксилазы и 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2 типа.

Заключение. При изучении стероидных профилей мочи больных методом ГХ–МС получены хроматографические признаки различных стадий АКР (согласно классификации ENSAT), большего размера первичной опухоли и количества гистологических маркеров злокачественности по шкале L. M. Weiss. Повышение экскреции с суточной мочой метаболитов андрогенов, прогестагенов и минералокортикоидов наблюдалось у больных с поздними стадиями АКР (ENSAT III–IV), метаболитов андрогенов и прогестагенов — у больных с большим размером первичной аденокарциномы (90 мм), выявлены признаки снижения активности ферментов 21-гидроксилазы и 11 β -гидроксистероиддегидрогеназы 2 типа, увеличение экскреции с мочой 21-гидроксипрегненолона у больных с большим количеством баллов по шкале L. M. Weiss (7–9 баллов).

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

GENETIC AND EPIGENETIC MARKERS OF COLORECTAL CANCER: PROBLEMS AND PROSPECTS

***Вострюхина О.А., Мирлина Е.Д., Бутрович Г.М.,
Шахматова А.Д., Вербенко В.Н.***

ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Ленинградская область, Гатчина, Россия

***Vostrukhina O.A., Mirlina E.D., Butrovich G.M.,
Shakhmatova A.D.***

Petersburg Nuclear Physics institute named by B.P. Konstantinov of National Research Center «Kurchatov Insitute», Leningrad region, Gatschina, Russia

e-mail: Verbenko_VN@pnpi.nrcki.ru

Цель исследования. Проанализировать и обобщить мировую практику использования генетических и эпигенетических изменений, ассоциированных с инициацией и прогрессией колоректального рака (КРР), в качестве потенциальных биомаркеров КРР, в первую очередь прогностических и предсказательных. Выполнен анализ современных данных литературы, опубликованных в ведущих рецензируемых журналах в российских и международных базах научного цитирования Medline, eLIBRARY, PubMed.

Ключевые слова: генетические и эпигенетические биомаркеры, колоректальный рак, молекулярный патогенез, жидкостная биопсия, панели экспрессии генов

Abstract. The aim of the study is to analyze and summarize the world practice of using genetic and epigenetic changes associated with the initiation and progression of colorectal cancer (CRC) as potential CRC biomarkers, primarily

prognostic and predictive. The analysis of modern literature data published in leading peer-reviewed journals in Russian and international scientific citation databases Medline, eLIBRARY, PubMed is carried out.

Keywords: genetic and epigenetic biomarkers, colorectal cancer, molecular pathogenesis, liquid biopsy, gene expression panels

KPP является гетерогенным заболеванием и характеризуется изменением множества молекулярных путей на всем протяжении его развития. Рассматриваются три основных фенотипа патогенеза KPP: хромосомная и микросателлитная нестабильность генома, метиляторный фенотип, а также их возможные функциональные пересечения. Анализируются как уже используемые в мировой клинической практике маркеры, так и пока еще потенциальные перспективные биомаркеры. в том числе мультигенные панели экспрессии генов для выявления подгрупп высокого риска у пациентов на ранних стадиях KPP. В качестве нового подхода с позиции персонализированной медицины рассматривается жидкостная биопсия — совокупность методик по определению дериватов опухоли в биологических средах: циркулирующих опухолевых клеток, циркулирующих ДНК, микроРНК, длинных некодирующих РНК. Данные жидкостной биопсии дают информацию о молекулярных нарушениях в реальном времени по всей опухолевой массе и позволяют оценить в динамике эволюционные изменения образования и эффективность терапии (в отличие от стандартной биопсии). Для оценки потенциала отдельных биомаркеров KPP или маркерных панелей необходимо проведение крупномасштабных стандартизированных исследований и проверка этих биомаркеров в проспективных международных программах. Проанализирована и обобщена мировая практика использования генетических и эпигенетических изменений, ассоциированных с инициацией и прогрессией KPP, в качестве потенциальных биомаркеров KPP, в первую очередь прогностических и предсказательных. Концептуальное значение имеет выявление драйверных (от англ. driver) мутаций, то есть дающих клетке селективное преимущество роста, поскольку они специфичны для опухолей, биологически важны для ее прогрессии и могут служить объектами таргетной терапии.

CRC is a heterogeneous disease and is characterized by changes in many molecular pathways throughout its development. Three main phenotypes of CRC pathogenesis are considered: chromosomal and microsatellite instability of the genome, methylator phenotype, as well as their possible functional intersections. Both markers already used in the world clinical practice and still potential promising biomarkers are analyzed including multigene panels of gene expression to identify high-risk subgroups in patients with early CRC. Liquid biopsy is considered as a new approach

from the perspective of personalized medicine — a set of techniques for determining tumor derivatives in biological media: circulating tumor cells, circulating DNA, microRNAs, long non-coding RNAs. Liquid biopsy data provide information on molecular abnormalities in real time across the entire tumor mass and make it possible to evaluate evolutionary changes in the formation and the effectiveness of therapy over time (as opposed to standard biopsy). To assess the potential of individual CRC biomarkers or marker panels, it is necessary to conduct large-scale standardized studies and validate these biomarkers in prospective international programs. The world practice of using genetic and epigenetic changes associated with the initiation and progression of CRC as potential biomarkers of CRC, primarily prognostic and predictive, is analyzed and generalized. The identification of driver mutations has conceptual importance, since they give the cell a selective growth advantage, they are specific to tumors, biologically important for its progression and can serve as objects of targeted therapy.

УТОЧНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГРУППЫ СУПРАТЕНТОРИАЛЬНЫХ ЭПЕНДИМОМ МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

DETERMINATION OF THE MOLECULAR GROUP OF SUPRATENTORIAL EPENDYMOAS BY REAL-TIME PCR

*Галстян С.А., Тельешева Е.Н., Котельникова А.О.,
Рыжова М.В., Шайхаев Е.Г.*

Федеральное государственное автономное учреждение «Научный исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

*Galstyan S.A., Telysheva E.N., Kotelnikova A.O., Ryzhova M.V.
Shaikhaev E.G.*

Institution «N.N. Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

e-mail: telisheva_k@mail.ru

Аннотация. Молекулярно-генетические характеристики опухолей ЦНС являются неотъемлемой частью диагностики в нейроонкологии, в частности в диагностике супратенториальных эпендимом. Нами были подобраны специфические праймеры и зонды для поиска молекулярно-генетических маркеров – слияний генов ZFTA и YAP1. Методом ПЦР в режиме «реального времени» с использованием данных праймеров и зондов было проанализировано 56 образцов супратенториальных эпендимом на наличие вышеуказанных специфических слияний генов. Молекулярно-генетические изменения были обнаружены в 69,6% случаев (n = 39). Обсуждаются также возможности и ограничения использования данных молекулярно-генетических маркеров в рутинной клинической практике.

Ключевые слова: опухоли ЦНС, эпендимомы, слияния генов, РНК, ПЦР

Abstract: Molecular characteristics of CNS tumors are an integral part of diagnostics in neurooncology, in particular, in the diagnostics of supratentorial

ependymomas. We have selected specific primers and probes to search for molecular genetic markers – ZFTA- and YAP1-fusions. Real-time PCR with ZFTA- and YAP1-fusions primers and probes was used to analyze 56 samples of supratentorial ependymomas. These molecular alterations were found in 69.6% (n=39). The possibilities and limitations of using these molecular markers in clinical practice are also discussed.

Keywords: CNS tumors, ependymoma, gene fusions, RNA, PCR

Введение. Эпендимомы — злокачественная опухоль центральной нервной системы (ЦНС), являющаяся одной из наиболее часто встречающихся первичных опухолей ЦНС, поражающая как взрослых, так и детей, и возникающая как в головном мозге, так и в спинном [1, 2].

Согласно классификации Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) эпендимомы подразделяются на три большие группы в зависимости от локализации: супратенториальная, задней черепной ямки и спинальные [1, 2]. Супратенториальные эпендимомы отличаются от остальных групп наличием генетической детерминанты, обуславливающей последующий онкогенез. Другой особенностью супратенториальных эпендимом является преимущественно паренхиматозный рост опухоли, что осложняет возможность радикального удаления и ухудшает прогноз. Еще одним немаловажным аспектом является сложность дифференциальной диагностики ввиду низкодифференцированного нейробластического паттерна, а также зачастую неоднозначного иммуногистохимического профиля.

Молекулярно-генетическая информация впервые была включена в классификацию ВОЗ опухолей ЦНС от 2016 года, а в последней версии классификации, вышедшей в 2021 году, молекулярно-генетические основы классификации и диагностики опухолей ЦНС, в том числе и супратенториальных эпендимом, были расширены и дополнены новыми маркерами и новым методом диагностики — анализом метилиционного профиля геномной ДНК опухоли, что делает классификацию опухолей ЦНС еще более молекулярной и подталкивает исследователей к поиску новых генетических маркеров и разработке методов их анализа.

Цель исследования. Разработка системы молекулярно-генетической диагностики супратенториальных эпендимом, позволяющей достоверно верифицировать эту сложно диагностируемую опухоль относительно экономичным и быстрым методом ПЦР в режиме реального времени.

Материалы и методы. Нами отобраны 57 образцов опухолевой ткани пациентов с гистологически верифицированными диагнозами «эпендимомы, WHO Grade II» и «анапластическая эпендимомы, WHO Grade III» с супратенториальной локализацией, соответствующие супратенториальной эпендимоме, CNS Grade 2, и супратенториальной

эпендимоме, CNS WHO Grade 3, согласно 5-му изданию классификации опухолей ЦНС ВОЗ от 2021 года. 30 образцов из подобранной когорты являлись контрольной группой с генетически подтвержденным диагнозом «супратенториальная эпендимома» с помощью метода анализа метилиционного профиля геномной ДНК опухоли. 54 образца представляли собой опухолевую ткань, фиксированную в 10% забуференном формалине, проведенную по стандартной программе и залитую в парафиновый блок (FFPE), 3 образца были в виде свежемороженой опухолевой ткани.

Подобраны и изготовлены праймеры и флуоресцентно меченые зонды для поиска слияний генов ZFTA-RELA, ZFTA-MAML2, YAP1-MAMLD1, YAP1-FAM118B [3]. Из опухолевой ткани выделялась РНК, затем путем реакции обратной транскрипции получали одноцепочечную кДНК. Поиск целевых слияний проводился с использованием полученной кДНК и изготовленными праймерами с флуоресцентными зондами методом ПЦР в режиме реального времени на приборе QuantStudio5 («Applied Biosystems»).

Результаты. Из 57 образцов выделить достаточное количество РНК удалось в 56 случаях: из них 29 из контрольной группы и 27 образцов ранее не подтвержденных генетически супратенториальных эпендимом, в 1 образце из контрольной группы концентрация выделенной РНК оказалась чрезвычайно низкой. В контрольной группе искомые слияния были обнаружены в 24 образцах, что составляет 82,8%. В группе генетически неподтвержденных эпендимом слияния были обнаружены в 15 образцах, что составило 55,6%. Итого из 56 исследованных образцов супратенториальных эпендимом исследуемые гибридные гены были обнаружены в 39 образцах, что составило 69,6%.

В настоящем исследовании при анализе образцов опухолевой ткани, полученной от больных с супратенториальной эпендимомой, были выявлены 4 типа слияния генов — ZFTA-RELA (87,1%), ZFTA-MAML2 (2,6%), YAP1-MAMLD1 (7,7%) и YAP1-FAM118B (2,6%).

Заключение. Согласно данным литературы известно, что супратенториальные эпендимомы в зависимости от молекулярной группы отличаются прогнозом: эпендимомы со слиянием гена ZFTA (ранее RELA) отличаются плохим прогнозом, в том числе в связи с преимущественно интрапаренхиматозным ростом и сложностями тотального удаления; в то время как эпендимомы со слиянием гена YAP1 отличаются хорошим прогнозом [1]. В связи с этим определение молекулярной группы эпендимом является таким важным аспектом их диагностики.

В данном исследовании мы смогли определить молекулярную принадлежность для 70% эпендимом из нашей когорты, однако часть образцов осталась молекулярно не уточненными с подобранными

нами праймерами. Данная методика определенно повышает качество диагностики супратенториальных эпендимом, однако необходима дальнейшая работа по ее усовершенствованию с целью обнаружения и более редких партнеров в слиянии с геном ZFTA, что позволит с высокой чувствительностью и специфичностью верифицировать супратенториальные эпендимомы без использования дорогостоящих исследований.

Литература

1. WHO Classification of Tumours Editorial Board. World Health Organization Classification of Tumours of the Central Nervous System. 5th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2021.
2. Ellison D.W., Aldape K.D., Capper D., Fouladi M., Gilbert M.R., Gilbertson R.J. et al. cIMPACT-NOW update 7: advancing the molecular classification of ependymal tumors // Brain Pathol. 2020. Vol. 30. № 5. P. 863–866. <https://doi.org/10.1111/bpa.12866>
3. Zschoernack V., Jünger S.T., Mynarek M., Rutkowski S., Garre M.L., Ebinger M. et al. Supratentorial ependymoma in childhood: more than just RELA or YAP // Acta Neuropathol. 2021. Vol. 141. N3. P. 455–466. doi: 10.1007/s00401-020-02260-5. Epub 2021 Jan 22. PMID: 33481105; PMCID: PMC7882569.

*Работа поддержана Российским Фондом
Фундаментальных Исследований
(№ проекта 21-315-70045)*

УРОВНИ БИОМАРКЕРОВ В ДИАГНОСТИКЕ СЕПСИСА У ДЕТЕЙ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

BIOMARKER LEVELS IN THE DIAGNOSIS OF SEPSIS IN CHILDREN WITH ONCOLOGICAL DISEASES

**Головня Е.Г., Лебедева А.В., Харитиди Т.Ю.,
Сотников А.В., Сомонова О.В.**

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

**Golovnya E.G., Lebedeva A.V., Kharitidi T. Yu.,
Sotnikov A.V., Somonova O.V.**

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

e-mail: biochimia@yandex.ru

Аннотация. Представлены данные сравнительного исследования пороговых уровней маркеров пресепсина, прокальцитонина и С-реактивного белка в плазме крови у 117 пациентов с онкологическими заболеваниями в возрасте от 1 года до 18 лет, которые составили 4 группы в зависимости от исхода клинического течения воспалительного процесса или инфекционных осложнений: 1 группа – больные с отсутствием осложнений лечения (n=13/11,1%), 2 группа – наличие у больных системного воспалительного ответа (n=64/54,7%), 3 группа – пациенты с сепсисом (n=27/23,1%), 4 группа – пациенты с септическим шоком (n=13/11,1%).

Ключевые слова: сепсис, дети, онкология, пресепсин, прокальцитонин, С-реактивный белок

Abstract. The data of a comparative study of threshold levels of presepsin, procalcitonin and C-reactive protein markers in blood plasma are presented in 117 patients with oncological diseases aged from 1 to 18 years, who made up 4 groups depending on the outcome of the clinical course of the inflammatory process or infectious complications: group 1 – patients with no treatment complications (n=13/11,1%), group 2 – the presence of a systemic inflammatory

response in patients ($n=64/54,7\%$), group 3 – patients with sepsis ($n=27/23,1\%$), group 4 – patients with septic shock ($n=13/11,1\%$).

Keywords: sepsis, children, oncology, presepsin, procalcitonin, C-reactive protein

Цель исследования. Определить пороговые значения биомаркеров сепсиса на различных стадиях развития инфекционного процесса у детей в процессе комплексного противоопухолевого лечения.

Материалы и методы. В ретроспективное исследование включили 117 пациентов с онкологическими заболеваниями в возрасте до 18 лет. Пациентов разделили на 4 группы в зависимости от исхода клинического течения воспалительного процесса или инфекционных осложнений: 1 группа — отсутствие осложнений лечения ($n=13/11,1\%$), 2 группа — наличие системного воспалительного ответа ($n=64/54,7\%$), 3 группа — сепсис ($n=27/23,1\%$), 4 группа — септический шок ($n=13/11,1\%$). У большинства пациентов исследовали маркеры в динамике.

Содержание пресеписина определяли на иммунохемилюминисцентном анализаторе Pathfast (Mitsubishi Chemical Medicine Corporation), используя стандартный набор реагентов. Определение содержания прокальцитонина проводили иммунохимическим методом с электрохемилюминисценцией (Cobas e601, Roche Diagnostics, Швейцария) согласно прилагаемой инструкции и набором реагентов. Концентрацию С-реактивного белка определяли методом иммунотурбидиметрии (Cobas 6000, Roche Diagnostics, Швейцария).

Полученные данные анализировали с использованием программ SPSS21.0 (SPSS Inc, Chicago, IL) и Statistica 12. Исследуемые показатели обладали распределением, отличавшимся от нормального, и были представлены в виде медианы, минимального и максимального значений. Непараметрические данные проанализированы с использованием критерия Краскела-Уоллиса для сравнения медиан в исследуемых группах. Определение пороговых значений проводили с помощью ROC-анализа. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Из 117 обследованных онкологических больных у 40 развился сепсис, у 13 из которых течение осложнилось септическим шоком (СШ). От сепсиса и СШ умерли 17 детей (42,5%), то есть почти в половине случаев развитие сепсиса закончилось смертью ребенка. Смертность у детей от сепсиса составила 36,8% у девочек и 47,4% у мальчиков ($p=0,51$), возраст детей с сепсисом не отличался от такового у пациентов без сепсиса ($p=0,9$) и, в среднем, составил 8 лет. При солидных опухолях сепсис развивался значимо реже (24,1%), чем при онкогематологических (70,8%; $p=0,00011$). Таким образом, у пациентов с онкогематологическими заболеваниями риск

развития сепсиса повышался в 3 раза по сравнению с больными солидными опухолями. Однако частота показателей смертности статистически не отличалась ($p=0,22$) в зависимости от типа опухоли: 52,9% при гематологических новообразованиях против 33,3% при солидных опухолях. В ходе проведенного ROC-анализа определены оптимальные пороговые уровни разделения групп пациентов с определенными уровнями маркеров.

Изучена концентрация пресепсина в плазме крови во всех группах больных. Так, в ходе разделения группы пациентов без осложнений (1 группа) от группы с системным воспалительным ответом (2 группа) было определено оптимальное пороговое значение пресепсина равное 202 пг/мл (чувствительность теста 75,6% и специфичность 89,5%), а пороговое значение пресепсина равное 371 пг/мл (чувствительность теста 92,6% и специфичность 94,7%) отделяло группу пациентов без осложнений от группы с сепсисом. Оптимальное пороговое значение пресепсина равное 604 пг/мл (чувствительность 84% и специфичность 89,1%) позволяло разделить пациентов с системным воспалительным ответом (2 группа) и сепсисом (3 группа), данные представлены на рисунке 4. Пороговый уровень пресепсина 1500 пг/мл (чувствительность 85,4% и специфичность 81,9%) разделил больных с сепсисом (3 группа) и септическим шоком (4 группа).

В ходе изучения концентрации прокальцитонина в плазме крови были определены его медианные значения в исследуемых группах пациентов. Также выявлено пересечение значений маркера в группах, что затруднило их разделение. К тому же уровень биомаркера зачастую находился в т. н. «серой зоне» — от 0,5 до 2,0 нг/мл, что также затрудняло однозначную интерпретацию полученных результатов и требовало повторного анализа. При разделении больных без каких-либо осложнений (1 группа) от пациентов с системным воспалением (2 группа) с учетом уровня ПКТ определено пороговое значение маркера равное 0,23 нг/мл (чувствительность 70,7% и специфичность 76,5%). Для разделения групп пациентов без осложнений (1 группа) и с сепсисом (3 группа) пороговое значение ПКТ составило 0,48 нг/мл (чувствительность 81,1% и специфичность 88,2%). Оптимальное пороговое значение ПКТ — 0,51 нг/мл (чувствительность 75,8% и специфичность 67,9%) позволяло выделить группу пациентов с системным воспалением (2 группа) от пациентов с сепсисом (3 группа), что соответствует общепринятому критерию (менее 0,5 нг/мл при отсутствии сепсиса).

При разделении групп больных с сепсисом (3 группа) и септическим шоком (4 группа) оптимальное пороговое значение прокальцитонина составило 3,9 нг/мл, а при значениях выше 4 нг/мл у пациентов возможен СШ (чувствительность 77,1% и специфичность 77,9%), что отличается от ранее установленных норм (более 10 нг/мл для СШ). Таким образом, прокальцитонин позволял отделить па-

циентов без осложнений (1 группа) от пациентов с сепсисом и СШ (3 и 4 группы, соответственно), пациентов с системным воспалительным ответом (2 группа) от пациентов с СШ (4 группа).

Для С-реактивного белка (СРБ) выявлены статистически значимые различия уровней медиан с учетом типа опухоли для пациентов с сепсисом (3 группа) и септическим шоком (4 группа). У пациентов с солидными опухолями при развитии сепсиса медиана СРБ составила 46,4 г/л, а у детей с онкогематологическими заболеваниями — 95,0 г/л ($p = 0,001$). При развитии септического шока у пациентов с солидными опухолями медиана маркера составила 46,8 г/л, против 148,7 г/л в группе детей с онкогематологическими заболеваниями ($p = 0,0000$). В связи с этим, целесообразно определять пороговые значения СРБ по отдельности для разных типов опухолей.

При разделении пациентов с солидными опухолями без осложнений (1 группа) и с системным воспалительным ответом (2 группа) определено оптимальное пороговое значение СРБ равное 12,6 г/л (чувствительность 81,7% и специфичность 81,2%). Пороговое значение СРБ в сыворотке крови онкологических больных при сепсисе (18,3 г/л) и септическом шоке (18,6 г/л) статистически значимо не различались, что не позволяет использовать данный биомаркер для дифференциации сепсиса и септического шока в группе пациентов с солидными опухолями.

У пациентов с онкогематологическими заболеваниями при разделении групп пациентов с системным воспалительным ответом и сепсисом определено пороговое значение СРБ — 43,4 г/л (чувствительность 84,6% и специфичность 96,5%). Для отделения группы с системным воспалительным ответом от пациентов с септическим шоком оптимальное пороговое значение СРБ составило 77,1 г/л (чувствительность 78,6% и специфичность 82,4%). Таким образом, определение СРБ при солидных опухолях необходимо для выделения пациентов без осложнений; у пациентов с онкогематологическими заболеваниями определение СРБ показано у больных с воспалительными и инфекционными осложнениями.

Выводы. Определены пороговые значения для пресепсина, прокальцитонина (в плазме), С-реактивного белка (в сыворотке) крови для дифференциации воспалительных и септических осложнений у детей с онкологическими заболеваниями. Выявлено преимущество пресепсина перед прокальцитонином и С-реактивным белком при определении степени тяжести септических осложнений у пациентов детского возраста с онкопатологией.

ПРОЕКТ ГЕНЕТИЧЕСКОГО СКРИНИНГА «ОНКЕТА»

GENETIC SCREENING PROJECT «ОНКЕТА»

Гордиев М.Г.¹, Рыбникова А.В.², Ожегов Г.Д.³

¹ ООО «ЛДЦ МИБС», Санкт-Петербург, Россия

² ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)» Санкт Петербург, Россия

³ ООО «АкадемДжин», Новосибирск, Россия

Gordiev M.G.¹, Rybnikova A.V.², Ozhegov G.D.³

¹ MIBS, St.Petersburg, Russia

² State Budgetary Healthcare Institution «Saint-Petersburg clinical scientific and practical center for special types of medical care (oncology-oriented), St.Petersburg, Russia

³ AcademGene, LLS, Novosibirsk, Russia

Аннотация. Проект генетического скрининга «Онкета» направлен на помощь сразу трем категориям лиц. Во-первых, скрининг в рамках данного проекта позволяет оценить риск развития онкологического заболевания у здоровых людей. Во-вторых, оценить необходимость генетического тестирования пациентов с уже установленным диагнозом злокачественного новообразования. В-третьих, оценить целесообразность тестирования и подбор таргетной терапии в практике врача-онколога. В данный момент программа «Онкета» реализована в виде телеграм-бота t.me/test_onceta_fsm_bot.

Ключевые слова: онкогенетика, скрининг, опросник

Abstract. The genetic screening project «Onqeta» is developed to help people belonging to three categories. First, screening allows to assess the risk of development of onco-disease for healthy people. Second, «Onqeta» allows to assess the necessity to perform genetic testing for the patients with provided onco-diagnosis. Third, it allows to assess the expediency of genetic testing and target therapy selection in oncologists practice. At the moment the program «Onqeta» is available as a telegram-bot t.me/test_onceta_fsm_bot.

Keywords: oncogenetics, screening, questionnaire

Введение. В наше время генетика является одной из ведущих и самых быстро развивающихся наук. Геном человека определяется не только его индивидуальные черты, но и может раскрыть предрасположенность ко многим заболеваниям, в том числе онкологическим. Именно выявление активирующих мутаций позволяет специалистам определить прогноз и подобрать таргетную терапию.

Секвенирование нового поколения (англ. next generation sequencing, NGS) позволяет осуществить одновременное прочтение сотен миллионов коротких последовательностей ДНК. В связи с дороговизной метода использование данной технологии доступно не каждому потенциальному потребителю, поэтому важно выделить целевую аудиторию, которой действительно необходимо мультигенное тестирование.

Материалы и методы. На языке программирования Python было разработано клиент-серверное приложения. Для пользователей приложение доступно через телеграм-бот для быстрого и удобного анкетирования. Для разработки алгоритма анкетирования были проанализированы рекомендации NCCN по оценке генетического риска при раке молочной железы, яичников, поджелудочной железы, предстательной железы и колоректального рака. Также был проведен анализ рекомендаций ESMO, RUSSCO и Ассоциации Онкологов России. Дальнейшее обновление алгоритма опросника легко доступно для специалиста-администратора через таблицы google spreadsheets. Информация об алгоритме передается в телеграм-бот опосредованно через программу на сервере. Программа написана с помощью фреймворка aioogram, реализующего объекты конечных автоматов.

Результаты. В настоящее время разработано 2 основных блока программы: по определению риска развития злокачественных образований у здоровых людей и для пациентов онкологического профиля.

Для прохождения тестирования человеку необходимо пройти по ссылке в бот мессенджера «Telegram». Данная платформа удобна для использования.

Обработка и анализ ответов человека программой приводит к решению о необходимости мультигенного тестирования. Алгоритмы имеют линейный характер. Учитывается пол, возраст, семейный анамнез человека и его индивидуальные черты. Пациенты разделены на 3 возрастные категории: 18–25 лет, 26–60 лет и более 61 года.

Обсуждение. Для группы здоровых людей после разделения по полу и возрасту производится оценка семейного анамнеза человека. В случае необходимости алгоритм выдает тестирование на наследственные генетические синдромы такие как Синдром Линча, Синдром Коудена, Синдром Ли-Фраумени.

Для группы пациентов с уже установленным онкологическим диагнозом после разделения по полу возрасту и семейному анамнезу

задается ряд вопросов в соответствии с нозологией. Основными критериями является гистологический подтип опухоли, молекулярно-биологический состав, лечение, которое ранее получал тестируемый. В настоящее время разработаны алгоритмы по следующим локализациям: рак молочной железы, рак яичников, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, меланома, саркома.

Заключение. Необходимо дальше продолжать исследования, разработку и внедрение в массы. Данной проект не только позволит в рамках программы скрининга определить группу высокого онкологического риска, но и оценить прогноз и подобрать наиболее оптимальную терапию пациентам с уже установленным диагнозом.

Литература

1. NCCN Guidelines Version 1.2021/ Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast, Ovarian and Pancreatic
2. Cancer Principe's and Practice of Oncology 11th ed. / De Vita Vincent T., Lawrence Theodore S., Rosenberg Steven A. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2019.
3. Руководство по интерпретации клинически значимых соматических мутаций при солидных опухолях, выявленных методом секвенирования нового поколения (NGS) с целью их клинического использования / М.Г. Гордиев, О.И. Бровкина, Р.Ф. Еникеев, А.Г. Никитин, Д.Д. Сакаева. М., 2020.

АhR-РЕГУЛИРУЕМАЯ ЭКСПРЕССИЯ МИКРОПНК И PD-1/PD-L1 ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО

AhR-REGULATING EXPRESSION OF MICRORNAS AND PD-1/PD-L1 IN LUNG SQUAMOUS CARCINOMA

**Гуляева Л.Ф.^{1,2}, Ахметова Д.А.², Конончук В.В.¹,
Калинина Т.С.¹, Козлов В.В.^{1,3}**

¹ ФГБНУ «Федеральный Исследовательский Центр Фундаментальной и Трансляционной Медицины», Новосибирск, Россия

² ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

³ ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер», Новосибирск, Россия

**Gulyaeva L.F.^{1,2}, Akhmetova D.A.², Kononchuk V.V.¹,
Kalinina T.S.¹, Kozlov V.V.^{1,3}**

¹ Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk Regional Clinical Oncological Dispensar, Novosibirsk, Russia

e-mail: lfgulyaeva@gmail.com

Аннотация. Определена экспрессия AhR-регулируемых микроПНК и микроПНК, способных связываться с мПНК PD-L1, в опухолях курящих пациентов (n = 40) с диагнозом плоскоклеточный рак легкого (ПКРЛ), охарактеризованных по экспрессии PD-L1. Показано, что уровни экспрессии miR-342, регулируемой AhR, и miR-181a, потенциально регулирующей экспрессию PD-L1, были в 2–3 раза ниже в исследуемых образцах опухоли. Выявлена ассоциация экспрессии PD-L1-регулирующих микроПНК (miR-181a и miR-155) с размерами опухоли и наличием метастазов в лимфоузлах. Обнаружена ассоциация уровня экспрессии miR-155, miR-181a и miR-93 со статусом PD-L1. Таким образом, PD-L1-регулирующие miR-181a,–155,–93 могут выступать в качестве потенциальных маркеров ПКРЛ у курильщиков, а также дополнительных маркеров, уточняющих статус PD-L1.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак легкого, AhR, курение, микроПНК, PD-L1

Abstract. The expression of AhR-regulated miRNAs and miRNAs capable of binding to PD-L1 mRNA was determined in tumors of smoking patients (n=40) diagnosed with squamous cell lung cancer (SCLC), characterized by PD-L1 expression. It was shown that the expression levels of miR-342, regulated by AhR, and miR-181a, potentially regulating the expression of PD-L1, were 2–3 times lower in the studied tumor samples. The expression of PD-L1-regulating miRNAs (miR-181a and miR-155) was associated with the tumor size and metastases in the lymph nodes. An association of miR-155, miR-181a, and miR-93 expression levels with PD-L1 status was found. Thus, PD-L1-regulating miR-181a,–155,–93 would be potential markers of PCLC in smokers, as well as additional markers that clarify the status of PD-L1.

Keywords: squamous lung carcinoma, AhR, smoking, microRNA, PDL-1

Введение. Общеизвестно, что основным фактором риска развития рака легкого, особенно его плоскоклеточного гистотипа (ПКРЛ), является курение. Известно, что бензо(а)пирен (БП), один из компонентов сигаретного дыма, способен связываться с арил-углеводородным рецептором (AhR) и активировать его. Результатом такого взаимодействия является транслокация AhR в ядро и активация транскрипции многих генов-мишеней, таких как *CYP1A/1B*, микроРНК и др. Недавние исследования показали роль AhR в регуляции контрольных точек иммунного ответа, так как сигаретный дым и БП индуцировали AhR-регулируемую экспрессию *PD-L1* в эпителиальных клетках легких *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, установлено, что метаболит триптофана кинуренин, активируя AhR, стимулирует экспрессию PD-1 в CD8+ Т-клетках. Все это заставляет по-новому рассматривать роль AhR в канцерогенезе легких и исследовать механизмы его активации экзогенными и эндогенными лигандами.

Цель исследования. Определение экспрессии AhR-регулируемых микроРНК и микроРНК, регулирующих PD-L1, в опухолях курящих пациентов с диагнозом плоскоклеточный рак легкого, охарактеризованных по экспрессии PD-L1.

Материалы и методы. Образцы легочной ткани были получены от пациентов мужского пола ГБУЗ НСО «Новосибирский областной онкологический диспансер» в процессе торакоскопической резекции легкого. В биокolleкцию вошли 25 образцов периферического рака правого/левого легкого и 15 образцов центрального рака правого/левого легкого. Уровень микроРНК определяли методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Иммуногистохимический анализ определения PD-L1 был выполнен на базе ГБУЗ НСО «Новосибирский областной онкологический диспансер». Стекла с парафиновыми срезами ПКРЛ, различающиеся по статусу PD-L1, исследовали методом иммунофлуоресценции с использованием антител против белка PTEN. Статистическая обработка результатов проводилась

с помощью программы STATISTICA, версия 12. Данные представлены в виде медианных значений. Для оценки достоверности различий в экспрессии микроРНК между опухолевыми и нормальными тканями легкого, а также для оценки достоверности связи уровня микроРНК с экспрессионным статусом PD-L1 использовался U-критерий Манна-Уитни.

Результаты. Мы определили экспрессию AhR-регулируемых микроРНК и микроРНК, способных связываться с мРНК PD-L1, в опухолях курящих пациентов с диагнозом ПКРЛ (n = 40), охарактеризованных по экспрессии PD-L1. Уровни экспрессии miR-342, регулируемой AhR, и miR-181a, потенциально регулирующей экспрессию PD-L1, были в 2–3 раза ниже в образцах ПКРЛ. Выявлена ассоциация экспрессии PD-L1-регулирующих микроРНК (miR-181a и miR-155) с размерами опухоли и наличием метастазов в лимфоузлах. Обнаружена ассоциация уровня экспрессии miR-155, miR-181a и miR-93 со статусом PD-L1 у пациентов с ПКРЛ. Примечательно, что наблюдалась тенденция к снижению уровня PTEN у пациентов с высокой экспрессией PD-L1, что соответствовало увеличению экспрессии miR-93, miR-155, miR-181a, для которых ген PTEN является мишенью.

Выводы. 1) Уровни экспрессии микроРНК miR-342 и miR-181a в образцах ПКРЛ снижены в 3 раза по сравнению с неизменной тканью легкого. 2) Экспрессия PD-L1-регулирующих микроРНК ассоциирована с размером опухоли и наличием метастазов в лимфоузлах. Уровни экспрессии микроРНК miR-181a и miR-155 были ниже в опухолях большего размера и в опухолях пациентов, имеющих метастазы. 3) AhR-регулируемые и PD-L1-регулирующие микроРНК miR-93, miR-181a и miR-155 могут выступать в качестве маркеров клинико-патологических характеристик опухоли ПКРЛ, а также могут характеризовать статус PD-L1 опухоли.

*Работа выполнена при финансовой поддержке
Российского научного фонда (грант № 22-15-00065
«Поиск новых мишеней для диагностики
и терапии плоскоклеточного рака легких»).*

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ В СТРАТИФИКАЦИИ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

EXPERIENCE OF USING CYTOGENETIC METHODS OF LABORATORY DIAGNOSTICS IN STRATIFICATION OF PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA

**Казаков С.П.^{1,2}, Решетняк Д.В.¹, Клеина И.В.¹,
Рукавицын О.А.¹**

¹ ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени Академика Н.Н. Бурденко» Министерства Обороны Российской Федерации, Москва, Россия

² ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

**Kazakov S.P.^{1,2}, Reshetnyak D.V.¹, Kleina E.V.¹,
Rukavitsyn O.A.¹**

¹ Main Military Clinical Hospital n.a. academician N.N. Burdenko, Moscow, Russia

² Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

e-mail: rmapo.kafimm@mail.ru

Аннотация. Использование полученного опыта работы цитологических и цитогенетических исследований у больных с множественной миеломой позволило охарактеризовать группы больных с выявлением прогноза выживаемости пациентов на основе используемого международной классификации. Представлены данные о количестве и характеристиках групп участвующих в стратификации пациентов с множественной миеломой. На основании цитологических и цитогенетических исследований определены и статистически выверены группы больных, которые могут в дальнейшем подвергаться более тщательной стратификации с использованием фенотипических и иммунохимических методов диагностики в целях формирования алгоритма лабораторной диагностики, лечения, мониторинга и оценки прогноза пациентов с множественной миеломой.

Ключевые слова: миелома, цитогенетика

Abstract. The use of the obtained experience of cytological and cytogenetic studies in patients with multiple myeloma made it possible to characterize groups of patients with the identification of the prognosis of patient survival based on the international classification used. Data on the number and characteristics of the groups involved in the stratification of patients with multiple myeloma are presented. Based on cytological and cytogenetic studies, groups of patients have been identified and statistically verified, which may be further subjected to more thorough stratification with the use of phenotypic and immunochemical diagnostic methods in order to form a laboratory diagnostic algorithm for the diagnosis, treatment, monitoring and prognosis of patients with multiple myeloma.

Keywords: myeloma, cytogenetics

Введение. Случаи ММ составляют до 1% всех злокачественных новообразований и до 15% всех миелопролиферативных заболеваний. Согласно современным представлениям, наиболее значимыми факторами, определяющими характер течения заболевания, его прогноз и выживаемость пациентов могут служить цитогенетические и молекулярно-генетические особенности опухолевых клеток. К числу таковых относятся, прежде всего, отдельные хромосомные аномалии, способные определять ответ на терапию. Использование в диагностике ММ цитогенетического анализа согласно принципам классификации ММ, в основе которой лежит выявление цитогенетических нарушений и профиля экспрессии множества генов (*Gene Expression Profiling*, GEP), позволяет стратифицировать больных на группы стандартного, промежуточного и высокого риска для проведения дифференцированной терапии (*Mayo Stratification for Myeloma And Risk-adapted Therapy*, mSMART), а так же в последующем проводят в этих группах фенотипические и иммунохимические исследования для их характеристики и использования в выборе тактики лечения, мониторинга и прогноза. Согласно этой классификации в группу высокого риска входят пациенты с транслокациями хромосом: t(14;16), t(14;20), делецией хромосомы (17p) и высокой экспрессией генов. В группу промежуточного риска — с транслокацией t(4;14) и высокой степенью пролиферации плазмочитов. Трисомии и транслокации t(11;14) и t(6;14) свойственны группе «стандартного» риска.

Материалы и методы. В период 2016–2021 гг. из числа плановых пациентов гематологического Центра ГВКГ им. Н. Н. Бурденко МО РФ нами проводился анализ результатов цитогенетических исследований у 115 пациентов с первично выявленными клиническими проявлениями множественной миеломы (ММ). Возраст пациентов с клинически подтвержденной формой ММ составил 23–98 лет, средний возраст — 64,7 лет. Группа обследуемых включала 39 женщин (33,9%) в возрасте 36–98 лет (средний возраст — 69,7) и 76 мужчин (66,1%) в возрасте 23–88 лет (в среднем — 63,1). У пациентов про-

водили исследования пунктата костного мозга для цитологического и цитогенетического метода флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH).

Результаты. В первой группе у 5 пациентов (33,3%) выявлена транслокация t(11;14), у 2 (13,3%) — t(4;14), у 2 (13,3%) — t(14;20) и у одного — t(14;16). У 7 пациентов (46,7%) в исследовании 13q14q34 определены делеция или моносомия хромосомы 13. У 13 пациентов (86,7%) обнаружено выпадение или отсутствие локуса гена *TP53*, у 12 (80,0%) наблюдалась перестройка и делеция генов Н-цепей иммуноглобулинов (IgH). Также у 8 (53,3%) пациентов в кариотипе выявлен триплоидный и гиперплоидный клон с множественными хромосомными перестройками, сочетавшийся с делецией антионкогена *Trp53*. У одного пациента (6,7%) наблюдалась делеция SRD и дупликация 1q21. Все пациенты первой страты имели не менее двух отклонений в геноме, в среднем количество генетических отклонений составило 3,2 на одного пациента.

Во второй группе у 5 пациентов (83,3%) выявлена транслокация t(4;14). У 5 пациентов (83,3%) в исследовании 13q14q34 определены делеция или полисомия 13 хромосомы. У троих (50,0%) наблюдалась делеция SRD и дупликация 1q21. У всех 6 пациентов страты наблюдалась перестройка и делеция IgH. У 1 пациента (16,7%) обнаружена полисомия гена *TP53*. Также у 2 (33,3%) пациентов в кариотипе выявлен гипо- или гиперплоидный клон с хромосомными перестройками, не сочетавшийся с изменениями *TP53*. Все пациенты второй страты имели не менее двух отклонений в геноме, в среднем количество генетических отклонений составило 3,67 на одного пациента.

В третьей группе у 6 пациентов (8,1%) выявлена транслокация t(11;14), еще у 5 — (6,8%) дополнительный сигнал от 11 хромосомы, и у одного (1,3%) — от 16. У 12 пациентов (16,2%) определены делеция или моносомия 13 хромосомы. Два пациента (2,7%) имели трисомию или дупликацию 17 хромосомы, двух других (2,7%) — делецию гена *TP53* без моносомии. У одного пациента (1,3%) наблюдали делецию SRD и дупликацию 1q21. У 21 пациента (28,4%) наблюдалась перестройка и делеция IgH. Также у 5 (6,8%) наблюдался гиперплоидный клон с хромосомными перестройками и в одном случае — с транслокацией t(14;22). Из пациентов третьей страты 16 (21,6%) имели по два и более отклонений в геноме, в среднем количество генетических отклонений составило 1,32 на одного пациента.

При цитологическом исследовании пунктата костного мозга у всех пациентов количество плазматических клеток в костном мозге составило 0,1–96,2% (в среднем — 22,9%, при референсных значениях у здоровых — 1,8%), у 4 пациентов, принадлежавших разным стратам в миелограмме резко (80–98%) преобладали бласты.

В первой групп средние показатели удельного количества плазматических клеток составили 39,6% с разбросом 7,6–96,2%, у двоих в миело-

грамме преобладали бласты. Во второй группе показатели составили 50,9% (15,9–88,0%), 1 — с преобладанием бластов, в третьей — 23,6% (0,2–83,0%), 1 — с преобладанием бластов. У пациентов с не выявленными цито-генетическими отклонениями количество плазмочитов только в трех (15,0%) случаях превысило норму и в целом составляло 0,1–12,5%, в среднем — 2,7%. Таким образом, количество плазматических клеток в этой группе значительно отличалось от всех трех групп. Также статистически значимое отличие $p=0,047$ отмечено между стратами I и III, и $p=0,048$ между группами II и III, хотя группа II не может быть корректно проанализирована в следствие своей малочисленности.

Заключение. Анализ полученных результатов свидетельствует о высокой степени выявляемости (82,6%) цитогенетических нарушений методом FISH при ММ, позволяющей уточнить диагноз и предлагаемую терапию с последующим мониторингом состояния пациентов в процессе лечения. В связи с этим использование цитогенетического анализа и прогностическая стратификация на его основе представляются крайне важными методами позволяющими продолжить исследования этих групп с учетом использования фенотипических и иммунохимических методов для создания лабораторного алгоритма комплексной диагностики ММ для гематологического центра.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОМАРКЕРОВ ПРИ НМРЛ МЕТОДОМ NGS: ОТ «ХОРОШО БЫ» К «НЕ ОБОЙТИСЬ БЕЗ»

NGS TESTING OF NSCLC BIOMARKERS: FROM NICE-TO-HAVE TO MUST

Карпачева К.Е.

Диагностический менеджер ООО «Джонсон & Джонсон», Москва, Россия

Karpacheva K.E.

Diagnostic Manager, «Johnson & Johnson» LLC, Moscow, Russia

e-mail: Claudia.Karpacheva@yandex.ru

Аннотация. Количество препаратов, применяемых для таргетной терапии распространенного немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ), постоянно увеличивается, в том числе за счет появления новых таргетируемых молекулярных мишеней. В связи с этим клиническая онкология предъявляет повышенные требования к лаборатории (патоморфологической и молекулярно-генетической) в части выявления большего количества биомаркеров без увеличения сроков тестирования.

Высокопроизводительное секвенирование (NGS) — один из выходов из складывающейся ситуации. Метод NGS позволяет выявлять несколько десятков клинически значимых биомаркеров, в том числе в малых образцах, в связи с чем развитие NGS-тестирования при неплоскоклеточном НМРЛ является одной из основных задач молекулярной онкологии.

Ключевые слова: NGS, таргетное секвенирование, таргетная терапия, немелкоклеточный рак легкого, биомаркеры в онкологии

Abstract. Each year brings new drugs for non-small-cell lung cancer (NSCLC) target therapy, including the innovative ones, first-in-class for their molecular targets. As a result, oncologists demand more biomarkers to be tested in NSCLC in the same turnaround time. Next generation sequencing (NGS) is one of the solutions for the problem of increasing number of targeted biomarkers in NSCLC.

NGS is capable to detect multiple actionable biomarkers in a single test, not excepting small size biopsies. That is why wide acceptance of NGS testing in non-squamous NSCLC is so important for molecular oncology.

Keywords: NGS, targeted sequencing, target therapy, non-small-cell lung cancer, biomarkers in oncology

Рак легкого, трахеи и бронхов лидирует в структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований в РФ, занимая 2-е место в структуре заболеваемости и 1-е место в структуре смертности от злокачественных новообразований [1].

Перспективным направлением в лечении онкологических заболеваний является таргетная терапия: препараты, воздействующие на конкретную молекулярную мишень в опухолевых клетках и оказывающие минимальный эффект на другие клетки.

Показано, что терапия таргетными препаратами увеличивает среднюю выживаемость пациентов с метастатической аденокарциномой легких: с 2,4 года у пациентов, имевших в опухоли потенциально таргетируемые биомаркеры, но не получавших направленной на них терапии, до 3,5 лет у пациентов, получавших таргетную терапию в соответствии с выявленными у них биомаркерами [2].

Согласно клиническим рекомендациям «Злокачественное новообразование бронхов и легкого» (ID: КР30), утвержденным Научно-практическим советом МЗ РФ в 2021 году, «при выявлении неплоскоклеточного (в том числе диморфного) рака рекомендуется проведение молекулярно-генетического исследования мутаций в гене **EGFR** (18–21-й экзоны), **BRAF** V600E в биопсийном (операционном) материале (в том числе цитологическом); молекулярно-генетического исследования транслокации генов **ALK** и **ROS1**. Молекулярно-генетическое исследование неплоскоклеточного (в том числе, диморфного) рака может быть рекомендовано в целях определения амплификаций гена **MET**, мутаций пропуска 14-го экзона гена **MET**, мутаций гена **ERBB2**, перестройки **RET**, а также анализа мутационной нагрузки для назначения экспериментальной терапии в рамках клинических исследований» [3].

Метод NGS выгодно отличается от полимеразной цепной реакции (ПЦР) возможностью выявлять большее количество клинически значимых генетических изменений, в том числе редкие и очень редкие мутации, для которых методологически невозможно или экономически неэффективно использовать ПЦР. В частности:

- мутации в экзоне 20 гена **HER2/ ERBB2**, молекулярно-генетическое исследование которых, согласно Клиническим рекомендациям МЗ РФ «Злокачественное новообразование бронхов и легкого», может быть рекомендовано для неплоскоклеточного (в том числе, диморфного) рака, составляют

не более 0.84–2.6% от всех случаев аденокарциномы легкого [4]. Согласно консенсусным рекомендациям ESMO, тестирование на наличие мутаций HER2 следует проводить в составе единовременно выполняемого мультигенного теста, методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) [9]. Несмотря на то, что значительная часть данных мутаций сосредоточена в кодоне 775 и потому потенциально таргетируема методом ПЦР, выполнение отдельного ПЦР-теста на этот биомаркер экономически малоэффективно из-за относительно низкой представленности мутаций и нехватки биоматериала для проведения еще одного ПЦР-теста [10];

- инсерции в 20 экзоне гена EGFR, исследование которых, согласно Клиническим рекомендациям МЗ РФ «Злокачественное новообразование бронхов и легкого», рекомендуется выполнять при проведении молекулярно-генетического исследования мутаций гена EGFR, представлены в НМРЛ широким спектром различных вариантов (не менее 40). Показано, что применяемые для EGFR-тестирования методом ПЦР наборы реагентов не выявляют не менее 50% пациентов с инсерциями в 20 экзоне гена EGFR, так как (в силу методологических ограничений ПЦР) направлены на выявление только наиболее частых инсерций. Применение NGS для выявления инсерций в 20 экзоне гена EGFR повышает выявляемость этих мутаций в 2 раза [5].

Семь биомаркеров, тестирование которых показано пациентам с метастатическим неплоскоклеточным НМРЛ Клиническими рекомендациями МЗ РФ «Злокачественное новообразование бронхов и легкого», (EGFR, BRAF, ALK, ROS1, ERBB2, MET, RET) можно проанализировать в составе 1–2 NGS-исследований. Определение мутаций в этих генах отдельными тестами связано с высокой нагрузкой на оборудование и персонал лабораторий, а также большей вероятностью лабораторных ошибок, чем выполнение единого NGS-теста. В настоящее время ожидается регистрация нескольких таргетных препаратов для лечения метастатического НМРЛ (например, энтректиниба для опухолей с абберациями генов NTRK и соторасиба для пациентов с мутацией KRAS p.G12C) [6, 7]. Таким образом, количество биомаркеров, требующих тестирования при НМРЛ, будет увеличиваться и, если уже не превысило возможностей метода ПЦР, то превысит в ближайшем будущем.

Мультигенное тестирование методом NGS требует меньшего объема опухолевого материала, чем тестирование отдельных биомаркеров другими методами (ПЦР, ИГХ, FISH), что позволяет выполнить полноценное по объему тестирование в том числе пациентам с малым количеством биопсийного материала и невысоким содержа-

нием опухолевых клеток в биоптате. Ведь известно, что большинство гистологического материала НМРЛ, поступающего в лаборатории, представлено малыми образцами (около 10% приходится на материал, полученный при тонкоигольной аспирационной биопсии, около 70% — на трепан-биопсии) [8].

В условиях увеличения количества таргетируемых мишеней, адекватное обеспечение пациентов с НМРЛ таргетной терапией невозможно без расширения панели тестируемых биомаркеров, в связи с чем развитие NGS-тестирования при НМРЛ является одной из основных задач современной молекулярной онкологии, неумолимо переходя из категории «хорошо бы» в «не обойтись без».

Литература

1. Злокачественные новообразования в России в 2019 году / А.Д. Каприн, В.В. Старинский, А.О. Шахзадова. М., 2020.
2. Kris et al. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs // JAMA. 2014. Vol. 311. № 19. P. 1998–2006. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24846037/> (дата обращения: 29.04.2022).
3. Клинические рекомендации «Злокачественное новообразование бронхов и легкого» (утв. Минздравом России). 2021.
4. Pillai Rathi N. et al. HER2 mutations in lung adenocarcinomas: A report from the Lung Cancer Mutation Consortium // Cancer. 2017. Vol. 123. № 21. P. 4099–4105. doi: 10.1002/cncr.30869
5. Bauml J.M. et al. FP07.12 Underdiagnosis of EGFR Exon 20 Insertion Mutation Variants: Estimates from NGS-based Real-World Datasets // Thorac J. Oncol. 2021. № 16. S. 208–209. 10.1016/j.jtho.2021.01.112.
6. Пресс-релиз. Первый препарат компании «Рош» для лечения злокачественных новообразований вне зависимости от их локализации одобрен в Европе для применения у пациентов с солидными опухолями с транслокациями NTRK и пациентов с ROS1-положительным метастатическим немелкоклеточным раком легкого // URL: https://www.roche.ru/content/dam/rochexx/roche-ru/roche_russia/ru_RU/PDF_news/release-entrectinib-eu-2020-08-03.pdf Дата обращения: 29.04.2022.
7. Skoulidis F. et al. Sotorasib for Lung Cancers with KRAS p.G12C Mutation // N. Engl. J. Med. 2021. Vol. 384. № 25. P. 2371–2381. doi: 10.1056/NEJMoa2103695. Epub 2021 Jun 4. PMID: 34096690.
8. Yu T.M., Morrison C., Gold E.J., Tradonsky A., Layton A.J. Multiple Biomarker Testing Tissue Consumption and Completion Rates With Single-gene Tests and Investigational Use of OncoPrint Dx Target Test for Advanced Non-Small-cell Lung Cancer: A Single-center Analysis // Clin. Lung Cancer. 2019. Vol. 20. N1. P. 20–29. e8. doi: 10.1016/j.clcc.2018.08.010. Epub 2018 Aug 23. PMID: 30243889.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ OXFORD NANOPORE ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕРМИНАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ

EXPERIENCE IN USING OXFORD NANOPORE SEQUENCING TECHNOLOGY TO DETECT TERMINAL MUTATIONS

**Кечин А.А.^{1,2}, Боробова В.С.^{1,2}, Субботина К.В.¹,
Боярских У.А.¹, Тархов А.В.³, Филипенко М.Л.¹**

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Городская клиническая больница № 1, Новосибирск, Россия

**Kechin A.A.^{1,2}, Borobova V.S.^{1,2}, Subbotina K.V.¹, Boyarskikh U.A.¹,
Tarhov A.V.³, Filipenko M.L.¹**

¹ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ City Clinical Hospital No. 1, Novosibirsk, Russia

e-mail: aa_kechin@niboch.nsc.ru

Аннотация. Одним из применений массового параллельного секвенирования (NGS) является поиск патогенных мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 у пациенток с диагнозом «рак яичников» при помощи таргетного секвенирования. Особенностью этих генов является высокая частота патогенных мутаций, приводящих к сдвигу рамки считывания, из-за чего их выявление осложняется при использовании технологий секвенирования без терминирующих нуклеотидов. Примером такой технологии является технология секвенирования с протяженными прочтениями Oxford Nanopore, качество секвенирования которой за последние годы было значительно улучшено. Однако выявление инсерций и делеций до сих пор остается проблемной областью.

Ключевые слова: секвенирование oxford nanopore, герминальные мутации

Abstract. One of the applications of mass parallel sequencing (NGS) is the search for pathogenic mutations in the BRCA1 and BRCA2 genes in patients diagnosed with ovarian cancer using targeted sequencing. A feature of these

genes is the high frequency of pathogenic mutations that lead to a shift in the reading frame, which makes their detection more difficult when using sequencing technologies without terminating nucleotides. An example of such a technology is the sequencing technology with extended readings of Oxford Nanopore, the sequencing quality of which has been significantly improved in recent years. However, the identification of insertions and deletions still remains a problematic area.

Keywords: oxford nanopore sequencing, germinal mutations

Цель исследования. Отработка подходов к полногеномному секвенированию образцов ДНК из лейкоцитов крови пациента с 9 ранее выявленными вариациями (в том числе 1 патогенной) в генах *BRCA1* и *BRCA2* с помощью технологии Oxford Nanopore. ДНК была выделена стандартным фенол-хлороформным методом.

Результаты. Концентрация ДНК составила 91 нг/мкл, соотношения A260/A280 и A260/A230-1,85 и 2,29, соответственно. Все фрагменты в образце имели длину значительно превышающую 3000 п. о. Всего при секвенировании в течение 48 часов было получено 4,12 миллиона прочтений с суммарной длиной прочтений 15,8 миллиардов п. о. С помощью ROC-анализа были определены оптимальные параметры выявления точечных вариаций программой PISCES: минимально допустимое качество прочитанного основания — 6, минимальное качество варианта — 2; минимальное покрытие — 4. Важным результатом стало верное определение для исследуемого образца клинически значимой мутации в гене *BRCA1* с.5266dup. Для поиска структурных вариантов использовали программа NanoVar, в которой прочтения предполагаемой перестройки прочтения снова выравниваются на референс с помощью собственного улучшенного авторами программы алгоритма blastn.

Заключение. Таким образом, в работе были отработаны методики выявления герминальных точечных и протяженных вариантов в ДНК, выделенной из лейкоцитов крови.

*Работа выполнена при поддержке гранта Президента
МК-4082.2021.1.4*

РОЛЬ ГЛИОФИБРИЛЛЯРНОГО КИСЛОГО ПРОТЕИНА В ДИАГНОСТИКЕ И ПРОГНОЗЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

THE ROLE OF GLIOFIBRILLARY ACIDIC PROTEIN IN THE DIAGNOSIS AND PROGNOSIS OF MALIGNANT GLIAL TUMORS

***Клейменова О.Н., Тимофеев Ю.С., Томс М.Г.,
Сомонова О.В., Любимова Н.В.***

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

***Kleimenova O.N., Timofeev Yu.S., Toms M.G., Somonova O.V.,
Lyubimova N.V.***

Federal State Budgetary Institution N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

e-mail: biochimia@yandex.ru

Аннотация. Проведен анализ диагностического и прогностического значения уровней глиофибриллярного кислого протеина (GFAP) в сыворотке крови больных первичными и метастатическими опухолями головного мозга. Максимальный уровень маркера выявлен при глиобластоме и достигал 11,4 нг/мл (медиана 0,38 нг/мл). Для оценки диагностической значимости GFAP проведен ROC-анализ. В группе больных глиобластомой частота превышения порогового уровня GFAP оказалась максимальной и достигала 85,7%, тогда как у больных с астроцитомой и метастатическим поражением головного мозга повышение GFAP составило 25,6% и 15,8% соответственно. Для оценки прогностической значимости GFAP проведен анализ связи базальных уровней маркера с общей выживаемостью больных глиобластомой. Уровни маркера более 0,2 нг/мл были достоверно (p Log-rank=0,028) ассоциированы с менее благоприятным прогнозом общей выживаемости. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о высокой диагностической специфичности и чувствительности GFAP в качестве биохимического маркера глиобластомы, исследование которого целесообразно при первичном обследовании пациен-

тов с поражением головного мозга, а также о возможности прогнозирования отдаленных результатов лечения глиальных опухолей с использованием этого нейроспецифического белка.

Ключевые слова: глиофибрилярный кислый протеин, лабораторная диагностика, онкология

Abstract. The diagnostic and prognostic significance of the levels of gliofibrillary acidic protein (GFAP) in the blood serum of patients with primary and metastatic brain tumors was analyzed. The maximum marker level was detected in glioblastoma and reached 11.4 ng/ml (median 0.38 ng/ml). To assess the diagnostic significance of GFAP, a ROC analysis was performed. In the group of patients with glioblastoma, the frequency of exceeding the threshold level of GFAP was maximum and reached 85.7%, while in patients with astrocytoma and metastatic brain damage, the increase in GFAP was 25.6% and 15.8%, respectively. To assess the prognostic significance of GFAP, we analyzed the relationship between basal levels of the marker and the overall survival of patients with glioblastoma. Marker levels greater than 0.2 ng/ml were significantly (p Log-rank=0.028) associated with a less favorable prognosis for overall survival. The results of the study indicate the high diagnostic specificity and sensitivity of GFAP as a biochemical marker of glioblastoma, the study of which is advisable during the initial examination of patients with brain damage, as well as the possibility of predicting long-term results of treatment of glial tumors using this neurospecific protein.

Keywords: gliofibrillary acid protein, laboratory diagnostics, oncology

Введение. Глиобластома — наиболее часто встречающаяся первичная злокачественная опухоль головного мозга среди взрослых пациентов, которая характеризуется крайне неблагоприятным прогнозом. Современные методы нейровизуализации оказываются недостаточно информативными и специфичными для надежной дифференцировки заболеваний головного мозга. Актуальным направлением является разработка дополнительных неинвазивных критериев на основе биохимического анализа сыворотки крови. Одним из таких нейроспецифических белков является глиофибрилярный кислый протеин (GFAP), который рассматривают в качестве индикатора тяжелого поражения клеток головного мозга.

Цель исследования. Анализ диагностического и прогностического значения уровней GFAP в сыворотке крови больных первичными и метастатическими опухолями головного мозга.

Материалы и методы. Обследовали 317 больных опухолями головного мозга: 91 пациент с глиобластомой, 39 — с астроцитомой, 114 — с церебральными метастазами различных солидных опухолей, 73 — с менингиомой. Группу сравнения составили 78 пациентов с патологией центральной нервной системы неопухолевой этиологии. Контрольная группа состояла из 66 практически здоровых доноров. Статистический анализ выполняли в программе Statistica 10, расчет

порогового уровня — с использованием ROC-анализа, анализ выживаемости — методом Kaplan-Meier с использованием критерия Log-rank. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Сравнительный анализ абсолютных значений GFAP показал, что базальные уровни маркера у больных с глиобластомой статистически значимо ($p < 0,00001$) выше по сравнению с показателями других изученных групп. Максимальный уровень маркера выявлен при глиобластоме и достигал 11,4 нг/мл (медиана 0,38 нг/мл). Для оценки диагностической значимости GFAP проведен ROC-анализ. В группе больных глиобластомой частота превышения порогового уровня GFAP оказалась максимальной и достигала 85,7%, тогда как у больных с астроцитомой и метастатическим поражением головного мозга повышение GFAP составило 25,6% и 15,8% соответственно. При доброкачественных опухолях головного мозга превышение порогового уровня маркера наблюдали только у одного пациента (1,37%), что позволяет сделать вывод о возможности использования GFAP для предварительной оценки характера новообразования головного мозга. Для оценки прогностической значимости GFAP проведен анализ связи базальных уровней маркера с общей выживаемостью больных глиобластомой. Уровни маркера более 0,2 нг/мл были значимо (p Log-rank = 0,028) ассоциированы с менее благоприятным прогнозом общей выживаемости. При этом показатель 3-летней общей выживаемости в группе пациентов с высокими базальными уровнями GFAP в сыворотке крови составил 18,3% и был значительно ниже, чем 3-летняя общая выживаемость пациентов с базальными уровнями GFAP менее 0,2 нг/мл (48,2%). Статистически значимые различия также наблюдали на более поздних сроках: 5-летняя общая выживаемость в группе больных с выраженным повышением базального уровня GFAP была низкой (10,9%), тогда как у больных с базальными концентрациями маркера менее 0,2 нг/мл выживаемость достигала 40,2%.

Заключение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о высокой диагностической специфичности и чувствительности GFAP в качестве биохимического маркера глиобластомы, исследование которого целесообразно при первичном обследовании пациентов с поражением головного мозга. Полученные нами данные о значении GFAP, как фактора прогноза общей выживаемости позволяют сделать вывод о возможности прогнозирования отдаленных результатов лечения глиальных опухолей с использованием этого нейроспецифического белка.

СОВРЕМЕННЫЕ КРИТЕРИИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХРЯЩЕОБРАЗУЮЩИХ ОПУХОЛЕЙ КОСТЕЙ

MODERN CRITERIA FOR THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF CARTILAGE-FORMING BONE TUMORS

Козлова Е.В., Булычева И.В., Ковалева О.В., Сушенцов Е.А.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Kozlova E.V., Boulytcheva I.V., Kovaleva O.V., Sushentsov E.A.

Federal State Budgetary Institution N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

e-mail: biochimia@yandex.ru

Аннотация. Хрящобразующие опухоли являются одними из самых сложных разделов в онкоморфологии, в особенности, при диагностике на малом материале биопсий. Сложности дифференциальной диагностики в группе этих опухолей, поиск новых эффективных опций для лечения являются предпосылками для исследования их характерных генетических поломок.

Ключевые слова: хрящобразующие опухоли, диагностика

Abstract. Cartilage-forming tumors are one of the most difficult sections in oncomorphology, especially when diagnosing on small biopsy material. The difficulties of differential diagnosis in the group of these tumors, the search for new effective options for treatment are prerequisites for the study of their characteristic genetic disorders.

Keywords: cartilaginous tumors, diagnosis

Введение. Хрящобразующие опухоли являются одними из наиболее часто встречающихся первичных неопластических поражений костей. Все опухоли этой группы характеризуются продукцией хрящевого матрикса, однако формируют различные подтипы, различающиеся по биологическому потенциалу, прогнозу и тактике

лечения пациентов. Гетерогенность структуры хрящевых опухолей и разногласия в оценке степени их дифференцировки, приводит к появлению диагностических ошибок (в особенности при скудном объеме исследуемого материала). Отсутствие четко сформированного алгоритма обследования пациентов отражается на выборе тактики и отдаленных результатах лечения.

Цель исследования. Выявить наиболее значимые критерии дифференциальной диагностики хрящеобразующих опухолей костей.

Материалы и методы. В исследование включено 160 случаев хрящеобразующих опухолей костей за период с 2018 по 2020 год. Эти пациенты были разделены на две группы: злокачественные и доброкачественные поражения. Анализ проводили в совокупности с клинико-рентгенологическими данными. Определяли экспрессию PD-L1 в опухолях.

Результаты. У 18 пациентов было подтверждено наличие доброкачественного поражения (из них: остеохондрома — 8, хондрома — 6, хондробластома — 2, хондромиксоидная фиброма — 2). У 11 пациентов установлен диагноз атипичической хрящевой опухоли. У 131 пациента выявлена хондросаркома (хондросаркома G1—16 пациентов, G2—73, G3—35, дедифференцированная хондросаркома — 4, мезенхимальная — 3). У 4 пациентов из 16 (25%) с хондросаркомой G1 и у 12 пациентов из 73 (22%) после исследования операционного материала было выявлено повышение степени злокачественности с G1 до G2 и с G2 до G3. В одном случае диагноз был изменен с конвенциональной хондросаркомы на дедифференцированную. Экспрессия PD-L1 обнаружена только в дедифференцированных хондросаркомах (n = 7).

Заключение. Для дифференциальной диагностики хондробластического варианта остеосаркомы и конвенциональной хондросаркомы может использоваться исследование мутаций IDH1/IDH2. В мировую практику прочно вошло исследование мутации K36M (H3F3V) в качестве маркера хондробластомы. По последним данным, mGlu1 является пусковой драйверной мутацией в хондромиксоидной фиброме. Маркер Neu-1 является диагностическим для мезенхимальной хондросаркомы. Для дедифференцированных хондросарком характерна экспрессия PD-L1.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РЕЗИДЕНТНОГО МИКРОБИОМА ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF TAXONOMIC DIVERSITY OF THE RESIDENT MICROBIOME OF RENAL CELL CANCER

*Ковалева О.В., Подлесная П.А., Кушлинский Н.Е.,
Грacheв А.Н.*

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, Москва, Россия

Kovaleva O., Podlesnaya P., Kushlinskii N., Gratchev A.

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

e-mail: ovkovaleva@gmail.com

Аннотация. Проведен анализ таксономического разнообразия резидентного микробиома опухолей почки различных гистологических типов. Показано значимое снижения числа выявляемых таксонов для опухолей всех гистологических типов. Прогностическая значимость количества таксонов микроорганизмов является статистически достоверной только для светлоклеточного варианта опухолей.

Ключевые слова: почечно-клеточный рак, прогноз, микробиом

Abstract. The taxonomic diversity of the resident microbiome of renal tumors of different histological types was analyzed. It was shown that a significant decrease in the number of detectable taxa was observed in tumors of all histological types. Prognostic value of the number of microbial taxa is a statistically significant factor only for the clear-cell variant of tumors.

Keywords: renal cell cancer, prognosis, microbiome

Введение. Поиск новых прогностических маркеров почечно-клеточного рака является актуальной проблемой онкоурологии.

Современные исследования демонстрируют необходимость комплексной оценки клинической и прогностической значимости многих маркеров.

Цель исследования. Анализ прогностической значимости таксономического состава резидентного микробиома опухолей почки различных гистологических типов.

Материалы и методы. В исследование включены 40 больных почечно-клеточным раком, проходивших обследование и лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» Минздрава России. В состав выборки для проведения секвенирования входило 10 образцов нормальной ткани почки, 10 образцов светлоклеточного почечно-клеточного рака, 10 образцов папиллярного рака и 10 образцов хромофобного рака. Секвенирование проводили на базе Центра коллективного пользования научным оборудованием «Персистенция микроорганизмов» (ЦКП ИКВС УрО РАН). Оценку таксономического разнообразия проводили с использованием расчета индекса Chao1. Анализ выживаемости проводился путем построения кривых дожития по методу Каплана –Майера.

Результаты. Анализ таксономического состава микробного сообщества тканей почки выявил наличие 14 типов и 170 родов. Преобладающими типами микроорганизмов, встречающихся как в опухолях, так и в образцах нормальной ткани, являлись *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Cyanobacteria*, *Chloroplast* и *Bacteroidetes*.

Стоит отметить, что даже на уровне типов отмечались различия между нормальной тканью почки и опухолями различных гистотипов. Так, например, бактерии типа *Tenericutes* присутствовали в светлоклеточных и папиллярных опухолях и отсутствовали в нормальной ткани и хромофобных опухолях. Также стоит отметить, что бактерии типов *Gemmatimonadetes*, *Chloroflexi*, *Fusobacteria*, *Parcubacteria* и *Verrucomicrobia* обнаружены только в образцах нормальной ткани почки. Далее проведен анализ таксономического разнообразия в исследованных образцах с использованием оценки индекса альфа-разнообразия Chao1.

В образцах нормальной ткани наблюдается большее таксономическое разнообразие на уровне типов по сравнению с опухолевой тканью, однако данное различие не достигло статистической достоверности. Наименьшее число типов бактерий выявлено в образцах хромофобного рака.

Далее был проведен анализ на уровне доминирующих родов, относительно содержание которых составляло более 0,1%. Таких доминирующих родов насчитывалось 113. Самыми представленными родами, выявленным в образцах нормальной ткани, были *Kocuria*, *Phyllobacterium*, *Micrococcus*, *Cutibacterium*, *Corynebacterium*, *Rothia*, *Streptococcus* и *Acinetobacter*. Для образцов опухолевой ткани наи-

более представленными родами были *Cutibacterium*, *Sphingomonas*, *Roseomonas*, *Staphylococcus*, *Mesomycoplasma*, *Massilia*, *Escherichia* *Shigella* и *Photobacterium* для светлоклеточного рака почки; для папиллярного рака — *Cutibacterium*, *Corynebacterium*, *Escherichia* *Shigella*, *Clavibacter*, *Enhydrobacter*, *Phyllobacterium*, *Mesomycoplasma*, *Simplicispira*, а для хромофобного рака — *Escherichia* *Shigella*, *Novosphingobium*, *Cutibacterium*, *Psychrobacter*, *Lactococcus*, *Acinetobacter*, *Jeotgalicoccus* и *Corynebacterium*, что свидетельствует о том, что таксономический состав опухолей почки различных гистотипов отличается между собой. Стоит отметить, что для опухолей всех типов опухолей наблюдалось значимое снижение числа выявляемых родов.

Анализ изменения микробиома в процессе прогрессии заболевания, а именно его качественного состава в зависимости от стадии заболевания не выявил закономерностей.

Так как различные гистологические типы опухолей почки характеризуются различным количеством таксонов резидентных микроорганизмов и наименьшее их число выявляется в случаях хромофобного рака, проведен анализ прогностической значимости представленных таксонов как для рака почки в целом, так и для гистологических групп по отдельности.

Прогностическая значимость количества таксонов микроорганизмов является значимым фактором только для светлоклеточного варианта опухолей, в то время как для опухолей почки других гистотипов таких закономерностей не наблюдается.

Заключение. В результате проведенного исследования впервые показано, что различные гистологические типы опухолей почки значимо отличаются по качественному таксономическому составу резидентного микробиома. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых прогностических стратегий.

*Исследование выполнено за счет гранта
Российского научного фонда № 22-25-00082,
<https://rscf.ru/project/22-25-00082/>*

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПРОЛИФЕРИРУЮЩИХ МАКРОФАГОВ ОПУХОЛЕВОЙ СТРОМЫ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО

CLINICAL SIGNIFICANCE OF PROLIFERATING MACROPHAGES IN THE TUMOR STROMA OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER

*Ковалева О.В., Подлесная П.А., Мочальникова В.В.,
Грacheв А.Н.*

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, Москва, Россия

*Kovaleva O.V., Podlesnaya P.A., Mochalnikova V.V.,
Gratchev A.N.*

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Russia

e-mail: ovkovaleva@gmail.com

Аннотация. В данной работе проведен анализ клинической и прогностической значимости пролиферирующих макрофагов в опухолях немелкоклеточного рака легкого. Показано, что повышенная бактериальная нагрузка в опухолях коррелирует с высоким содержанием пролиферирующих макрофагов.

Ключевые слова: макрофаг, бактериальная нагрузка, немелкоклеточный рак легкого, прогноз

Abstract. This study analyzes the clinical and prognostic significance of proliferating macrophages in non-small cell lung cancer tumors. It was shown that an increased bacterial load in tumors correlates with a high content of proliferating macrophages.

Keywords: macrophage, bacterial burden, non-small cell lung cancer, prognosis

Фенотип клеток воспалительного инфильтрата стромы опухолей немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) является одним из клинических факторов течения данного заболевания. Несмотря на то, что

она достаточно хорошо изучена, надежные прогностические критерии данной патологии, основанные на фенотипе клеток стромы недостаточно убедительны. Известно, что макрофаги, ассоциированные с опухолью (МАО), под воздействием определенных стимулов способны к пролиферации, что, в свою очередь, влияет на состав популяции МАО и ее прогностическую значимость.

Цель исследования. Изучение клинической значимости пролиферирующих макрофагов опухолей легкого в зависимости от общей бактериальной нагрузки.

Материалы и методы. В исследование включены 100 пациентов с НМРЛ, оперированных в ФГБУ «НМИЦ онкологии имени НН Блохина». Определение общей бактериальной нагрузки проводили по уровню экспрессии гена 16S рРНК методом ПЦР в режиме реального времени. Анализ пролиферирующих макрофагов проводили методом иммунофлуоресценции с использованием маркеров Ki-67 и CD68. Анализ выживаемости проводился путем построения кривых дожития по методу Каплана–Майера. Корреляционный анализ проводили с помощью определения коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты. Проведенное исследование показало, что макрофаги, экспрессирующие Ki-67, были выявлены в 98% исследованных образцов. При этом среднее количество пролиферирующих макрофагов составило 1,73 клетки на поле зрения при 100х увеличении. Статистический анализ показал отсутствие достоверной ассоциации количества пролиферирующих макрофагов с клинико-морфологическими характеристиками опухоли и прогнозом заболевания. Однако была выявлена тенденция к ассоциации высокого содержания Ki-67+ макрофагов с неблагоприятным прогнозом. Далее, в качестве одного из возможных факторов стимуляции пролиферации макрофагов, была проанализирована общая бактериальная нагрузка в образцах опухолей. Показано, что большая бактериальная нагрузка в опухолях легкого коррелирует с высоким содержанием пролиферирующих макрофагов ($r = -0,2238$; $p = 0,0372$), что может свидетельствовать о вовлеченности резидентного микробиома в стимуляцию пролиферации макрофагов.

Заключение. Повышенная бактериальная нагрузка, ведущая к стимуляции пролиферации макрофагов и увеличению количества МАО в опухоли, может являться фактором плохого прогноза НМРЛ.

ПРИМЕНИМОСТЬ МУЛЬТИГЕННЫХ ПАНЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ СЕКВЕНИРОВАНИЯ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ И ШКАЛЫ ОЦЕНКИ ЗНАЧИМОСТИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ АЛЬТЕРАЦИЙ (ESCAT) В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ

THE APPLICABILITY OF MULTIGENIC PANELS BASED ON NEXT GENERATION SEQUENCING AND THE SIGNIFICANCE SCALE OF MOLECULAR ALTERATIONS (ESCAT) IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH METASTATIC MALIGNANT TUMORS

**Кузнецова О.А.¹, Федянин М.Ю.², Трякин А.А.³, Иванов М.В.^{4,5},
Лебедева А.А.⁴, Моисеенко Ф.В.⁶, Шило П.С.⁷, Степанова М.Л.⁸,
Румянцев А.А.³, Покатаев И.А.⁹, Ледин Е.В.¹⁰, Плакса И.Л.¹¹,
Гайрян М.А.¹²**

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский многопрофильный клинический центр «Коммунарка» департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия

³ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

⁴ ООО Онкодиагностика Атлас, Москва, Россия

⁵ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»

⁶ ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)», Санкт-Петербург, Россия

⁷ ООО Бостонджин, Санкт-Петербург, Россия

⁸ Северо-Западный Центр доказательной медицины, Санкт-Петербург, Россия

⁹ ГБУЗ Городская клиническая онкологическая больница № 1, Москва, Россия

¹⁰ Клиническая больница МЕДСИ в Боткинском проезде, Москва, Россия

¹¹ ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница № 62 ДЗМ», Москва, Россия

¹² Молекулярно-генетическая лаборатория «Genetico», Москва, Россия

**Kuznetsova O.A.¹, Fedyanin M.Y.², Tryakin A.A.³, Ivanov M.V.^{4,5},
Lebedeva A.A.⁴, Moiseenko F.V.⁶, Shilo P.S.⁷, Stepanova M.L.⁸,
Rumyantsev A.A.³, Pokataev I.A.⁹, Ledin E.V.¹⁰, Plaksa I.L.¹¹,
Gairyan M.A.¹²**

¹ St. Petersburg state pediatric medical university, St. Petersburg, Russia

² Moscow Multidisciplinary Clinical Center «Kommunarka», Moscow, Russia

³ N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia

⁴ Atlas Oncodiagnostics LLC, Moscow, Russia

⁵ Moscow Institute of Physics and Technology, Moscow, Russia

⁶ St.Petersburg Clinical Research Center of the specialized types of health care (oncological), St. Petersburg, Russia

⁷ BostonGene LLC, St. Petersburg, Russia

⁸ Northwestern Center for Evidence-Based Medicine, St. Petersburg, Russia

⁹ City Clinical Oncological Hospital No. 1, Moscow, Russia

¹⁰ Clinical hospital No.2 of «MEDSI group», Moscow, Russia

¹¹ Moscow city oncology hospital № 62, Moscow, Russia

¹² Genetico Molecular Genetics Laboratory, Moscow, Russia

e-mail: lessya.kuznetsova@gmail.com

Аннотация. Проанализированы результаты расширенного профилирования пациентов с метастатическими злокачественными опухолями при помощи NGS-панелей FM1 и Solo. Статистически значимых различий в частоте выявления клинически значимых альтераций (шкала значимости ESPAC) и частоте назначения молекулярно-направленной терапии в зависимости от панели с различным объемом тестирования обнаружено не было.

Ключевые слова: NGS, прецизионная онкология, молекулярно-направленная терапия

Abstract. The results of multigene testing of patients with advanced metastatic cancers using NGS-panels (FM1 and Solo) were analyzed. There were no statistically significant difference in the frequency of detection of clinically significant alterations (ESPAC) and frequency of molecularly matched prescriptions depending on the choice of testing panel.

Keywords: NGS, precision oncology, molecularly matched therapy

Введение. По данным литературы терапия с учетом молекулярных особенностей опухоли демонстрирует более благоприятные результаты лечения пациентов с солидными онкологическими заболеваниями. Преобладающей методикой расширенного профилирования является секвенирование следующего поколения (NGS). Разные панели NGS предлагают различный объем тестирования, что отражается в стоимости услуги для пациента. В Российской Федерации распространены панелями для профилирования являются

FoundationOne (FM1), Solo Комплекс (Solo). FM1 позволяет проанализировать большее число генов относительно панели Solo. Учитывая, что не все находки более широкого молекулярного тестирования могут быть клинически значимыми, встает вопрос об эффективности затрат на профилирование.

Цель работы. Оценка частоты и клинической значимости выявления молекулярных альтераций при применении мультигенных панелей FM1 и Solo.

Материалы и методы. Для ретроспективного анализа использованы данные расширенного профилирования пациентов с распространенными онкологическими заболеваниями, проходящих лечение в специализированных центрах на территории Российской Федерации. Включены пациенты, которым проведено NGS тестирование либо с применением панели FM1, либо Solo. Анализировалась частота выявления генетических альтераций, сравнивалась их клиническая значимость, частота назначения молекулярно-направленной терапии в зависимости от примененной панели. Клиническая значимость выявленных нарушений оценивалась с помощью ранее предложенной шкалы ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT), которая подразделяет молекулярные альтерации на: I уровень — мишень, подходящая для рутинного использования и рекомендаций конкретного лекарственного препарата; II уровень — исследовательская мишень, способная определить популяцию пациентов, которые могут получить пользу от назначения конкретного препарата, однако требуются дополнительные данные; III уровень — польза была продемонстрирована в другой нозологии или для родственных молекулярных мишеней; IV уровень — доклинические доказательства таргетируемости; V уровень — противоопухолевая активность конкретных средств не приводит к клинической пользе; уровень X — недостаточно данных о значимости альтерации.

Результаты. В период с 2016 по 2022 гг. проанализированы результаты расширенного профилирования 235 пациентов, средний возраст которых составил 57 лет, 59,1% — женщины, 84,7% уже получили как минимум одну линию терапии. Тестирование с применением панели FM1 было проведено 193 (82,1%) пациентам, с применением Solo — 42 (17,9%) пациентам. Наиболее широко были представлены опухоли желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) — 42,1%, немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) 33,2%, рак молочной железы — 6,8%. Среднее число выявленных мутаций при анализе FM1 и Solo составило 3 и 6 соответственно ($p=0.006$). Молекулярно-направленная терапия была назначена 16.7% пациентам и 17.1% пациентов в группах FM1 и Solo ($p=0,95$), при анализе взаимосвязи между назначением молекулярно-направленной терапии и использованной тест-системой, статистически значимых различий не было выявлено

($p=0,95$). Среди всех опухолей наиболее часто были детектированы альтерации TP53 (54%), RAS (30,2%), APC (19,1%), PIK3CA (15,3%), CDKN2A (15,3%), NF1 (10,6%), SMAD4 (10,6%), BRCA1/2 (10,2%), EGFR (7,7%), ERBB2 (6,4%). Частота выявления нарушений по шкале ESCAT 1–3 уровня составила 39% для Solo против 39% для FM1 ($p=0,8$), 1–4 уровня 65% против 78%, ($p=0,32$) соответственно.

Заключение. По результатам данного обобщенного ретроспективного анализа есть основания полагать, что частота выявления клинически значимых альтераций и частота назначения молекулярно-направленной терапии сопоставима при тестировании широкой панелью FM1 и более ограниченной панелью Solo. Требуется дальнейшее наблюдение и изучение минимального количества альтераций, которые необходимо учитывать при создании мультигенных панелей, а также выявление факторов, влияющих на назначение молекулярно-направленной терапии и эффективность лечения.

ОЦЕНКА УРОВНЕЙ РАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ КОНТРОЛЬНОЙ ТОЧКИ ИММУНИТЕТА VISTA В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ КОСТЕЙ С УЧЕТОМ ПОЛА

EVALUATION OF THE LEVELS OF THE SOLUBLE FORM OF THE VISTA IMMUNITY CHECKPOINT IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH BONE NEOPLASMS, TAKING INTO ACCOUNT GENDER

*Кузьмин Ю.Б., Короткова Е.А., Алферов А.А., Царапаев П.В.,
Ковалева О.В., Сушенцов Е.А.*

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

*Kuzmin Yu.B., Korotkova E.A., Alferov A.A., Tsarapaev P.V.,
Kovaleva O.V., Sushentsov E.A.*

*Federal State Budgetary Institution N.N. Blokhin National Medical Research Center of
Oncology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia*

e-mail: yriikuzmin@yandex.com

Аннотация. В последнее время, в качестве дополнения к методам лекарственной терапии больных саркомами костей, активно внедряются современные иммунотерапевтические препараты, направленные на подавление «контрольных точек иммунитета». VISTA, являясь одной из «контрольных точек иммунитета», считается в высшей степени интересной мишенью для изучения. Нами было проведено исследование растворимой формы контрольной точки иммунитета VISTA в сыворотке крови больных новообразованиями костей в зависимости от пола пациентов.

Ключевые слова: VISTA, опухоли костей, сыворотка крови

Abstract. Recently, in addition to the methods of drug therapy for patients with bone sarcomas, modern immunotherapeutic drugs are being actively introduced, aimed at suppressing the «checkpoints of immunity». VISTA, being one of the «checkpoints of immunity», is considered to be a highly interesting target for

study. We have conducted a study of the soluble form of the VISTA immunity checkpoint in the blood serum of patients with bone neoplasms, depending on the gender of the patients.

Keywords: VISTA, bone tumors, blood serum

Введение. В последнее время в дополнение к лекарственной терапии онкологических больных активно внедряются современные иммунотерапевтические препараты, нацеленные на подавление контрольных точек иммунитета (immune checkpoint). На сегодняшний день выявлено большое количество многообещающих контрольных точек иммунитета, однако внимание онкологов привлекает VISTA (V-domain immunoglobulin suppressor of T cell activation) — недавно открытая негативная иммунная контрольная точка, гомологичная запрограммированному лиганду клеточной гибели 1 (PD-L1) и принадлежащая семейству B7.

Цель исследования. Анализ уровней растворимой формы контрольной точки иммунитета VISTA в сыворотке крови больных новообразованиями костей с учетом их пола.

Материалы и методы. В исследование включено 112 больных злокачественными новообразованиями костей и 29 практически здоровых доноров, составивших группу контроля. Группу злокачественных новообразований костей составили четыре гистологических типа опухолей: остеосаркома ($n = 51$), хондросаркома ($n = 30$), саркома Юинга ($n = 15$), хордома ($n = 14$). Концентрацию sVISTA определяли в сыворотке крови с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа (RayBio® Human VISTA/B7-H5/PD-1H ELISA Kit, США). Полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 7. Сравнение статистической значимости различий выполняли при использовании логарифмического рангового критерия.

Результаты. Уровни sVISTA не зависели от пола, как в контроле, так и у больных опухолями костей, однако частота выявления низких концентраций маркера (≤ 2 нг/мл) в сыворотке крови больных и здоровых женщин статистически значимо различалась (соответственно 61,8% и 26,7%; $p = 0,015$). Так же выявлена тенденция к меньшим концентрациям VISTA в группе больных злокачественными новообразованиями костей женского пола (медиана 1,0 нг/мл) по сравнению с таковыми в группе пациентов мужского пола (медиана 1,8 нг/мл; $p = 0,12$). Значимо чаще обнаруживали условно «низкие» концентрации VISTA ≤ 2 нг/мл в сыворотке крови больных злокачественными новообразованиями костей женского пола по сравнению с контрольной группой здоровых женщин (63,3% и 26,7% соответственно).

Заключение. На основании полученных нами данных, следует отметить, что не выявлено статистически значимых зависимостей уровней концентраций sVISTA у пациентов с опухолями костей от пола пациентов. Однако частота выявления условно «низких» концентраций маркера в сыворотке крови больных и здоровых женщин статистически значимо различалась.

КРИТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ АЛЬТЕРАЦИЙ, ОБНАРУЖЕННЫХ В ХОДЕ КОМПЛЕКСНОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ ПЕРЕД ОБСУЖДЕНИЕМ В РАМКАХ МОЛЕКУЛЯРНОГО ОНКОКОНСИЛИУМА

IMPORTANCE OF CRITICAL EVALUATION OF GENOMIC FINDINGS REPORTED FOLLOWING COMPREHENSIVE TUMOR MOLECULAR PROFILING (CTMP) FOR DISCUSSION WITHIN MOLECULAR TUMOR BOARDS (MTB)

Лебедева А.А.¹, Иванов М.В.¹, Кузнецова О.^{1,2}, Шарова М.¹, Игнатова Е.О.², Трякин А.А.², Милейко В.А.¹, Федянин М.Ю.², Носов Д.А.³

¹ ООО, Атлас Онкодиагностика, Москва, Россия

² ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

³ ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия

Lebedeva A.A.¹, Ivanov M.V.¹, Kuznetsova O.^{1,2}, Sharova M.¹, Ignatova E.O.², Tryakin A.A.², Mileyko V.A.¹, Fedyanin M.², Nosov D.A.³

¹ Atlas Oncodiagnosics LLC, Moscow, Russia

² N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

³ Federal State Budgetary Institution «Central Clinical Hospital with a Polyclinic» of the Administration of the President of the Russian Federation, Moscow, Russia

e-mail: maksim.v.ivanov@phystech.edu

Аннотация. Описан опыт реализации молекулярных консилиумов с использованием технологий ВКС по результатам комплексного молекулярного профилирования

Ключевые слова: онкоконсилиум, прецизионная онкология, биомаркеры, NGS

Abstract. We describe our experience of molecular tumor boards based on results of complex molecular profiling employing NGS performed at third-party facilities or commercial solutions.

Keywords: molecular tumor board, NGS, complex molecular profiling

Background. As precision oncology evolves, a growing number of physicians refer cancer patients for complex molecular profiling (CTMP). Oftentimes, CTMP cannot be performed at local centers and patients turn to third-party facilities or commercial solutions. CTMP findings summarized in molecular profiling reports are used by physicians as a basis for MTB.

Patients and methods. A molecular tumor board was developed at our cancer center for patients who had undergone CTMP via NGS. Before each MTB, experts in cancer biology and bioinformatics performed reported alteration annotation, interpretation and critical evidence evaluation for each patient, not taking into account the recommendations provided in the original CTMP reports.

Results. In total, 29 patients with various tumor types (31% CRC, 25% NSCLC, 10% SOC, 8% Breast; 26% other) who had undergone CTMP in a third-party for-profit organization (2 international, 4 Russian based organizations) were evaluated for discussion at MTB. In 4 CTMP reports therapy recommendations were compiled at odds with principles of evidence-based medicine and did not contain information on detected molecular alteration and, thus, these patients were not discussed within MTB. In 48% (12/25) of reports discussed within MTB, ranking of genomic findings based on potential clinical evidence and actionability was not provided. 24% (6/25) of the reports did not comply with the ASCO recommendations on genomic findings reporting in oncology. In 8 (32%) reports, only drug classes and not specific drugs were recommended. A total of 362 alterations were identified in 25 CTMP reports. Of those, 93 (26%) were not annotated according to the well-established HGVS nomenclature of sequence variants. Out of these 93, 32 (34%) could not be further identified using various genomic tools. Following our interpretation of the reported variants, 16 (4.4%) of the reported variants were found to be benign and, in fact, well-established population polymorphisms (gnomAD MAF > 1%). Only in 40% (10/25) of the reports, genomic alterations were classified based on their origin (somatic/likely germline). In both Russian and international reports, these issues were observed. Finally, approximately 3–4 hours of preparatory work was required in order to reevaluate the reported genomic findings following tumor molecular profiling. Such preliminary work ensured time efficient discussion at MTB, requiring no more than 15 minutes of the physician's time. For 10 patients, 18 additional therapy options were recommended (including 2 ESCAT Level I).

Conclusion. As tumor molecular profiling becomes a more available tool for precision oncology, the number of patients requiring treatment strategy correction increases. Specific treatment plans can be set up following a discussion within a multidisciplinary team at MTB. Due to the lack of standardization of molecular profiling reporting, thorough preparatory work by experts trained in cancer biology is required before each MTB. Such preliminary work ensures time efficient discussion at MTB, requiring no more than 15 minutes of the physician's time.

УРОВНИ ХРОМОГРАНИНА В НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ ОПУХОЛЯХ

CROMOGRANIN LEVELS IN NEUROENDOCRINE TUMORS

Лебедева А.В., Любимова Н.В., Тимофеев Ю.С.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Российская Федерация, Москва, Россия

Lebedeva A.V., Lyubimova N.V., Timofeev Yu.S.

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Russian Federation, Moscow, Russia

e-mail: biochimia@yandex.ru

Аннотация. Проведено иммуноферментное исследование концентрации хромогранина В (ХгВ) в сыворотке крови больных нейроэндокринными опухолями (НЭО). Проведен сравнительный анализ уровней ХгВ в зависимости от локализации и клинико-морфологических особенностей опухолей. Показана значимость ХгВ как потенциального биохимического маркера при НЭО различных локализаций.

Ключевые слова: хромогранин В, биохимический маркер, нейроэндокринные опухоли

Abstract. We performed an immunoenzyme assay of chromogranin B (CgB) concentrations in blood serum of patients with neuroendocrine tumors (NETs). A comparative analysis of CgB levels depending on the localization, clinical and morphological features of tumors was carried out. The study reveals the significance of CgB as a potential biochemical marker in NET of various localizations.

Keywords: chromogranin B, CgB, biochemical marker, neuroendocrine tumor, NET

Введение. Нейроэндокринные опухоли (НЭО) представляют собой гетерогенную группу неоплазий из клеток диффузной нейроэндокринной системы. Недостаточная диагностическая эффективность используемых маркеров, включая ХгА, обуславливает поиск новых

биохимических факторов в качестве потенциальных биомаркеров НЭО. Хромогранин В (ХгВ) является кислым белком семейства гра-нинов, который как и ХгА может быть использован для выявления опухолей нейроэндокринной природы.

Цель исследования. Цель настоящего исследования — анализ уровней и оценка диагностической эффективности ХгВ в сыворотке крови больных НЭО различных локализаций.

Материалы и методы. Обследовано 120 больных НЭО, которые не получали какого-либо противоопухолевого лечения до поступления в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина МЗ РФ. Среди пациентов было 88 женщин и 32 мужчины, медиана возраста составила 60,2 (49,8–65,7) года. Представлены следующие локализации: 73 — поджелудочная железа, 20 — желудок, 12 — толстая кишка, 15 — другие локализации (молочная железа, предстательная железа, НЭО без выявленного первичного очага). Среди общей группы больных НЭО у 36 пациентов наблюдались клинические признаки карциноидного синдрома. У 60 больных НЭО были выявлены метастазы в печени и у 11 — метастатическое поражение лимфоузлов. У большинства пациентов проводилась оценка степени злокачественности по Grade, при этом у 17 больных имелась степень злокачественности G1, у 50 — G2 и у 20 — G3.

В контрольную группу вошли 54 практически здоровых донора, среди которых 34 женщины и 20 мужчин, медиана возраста 45,5 (32,5–60,0) лет. Анализ ХгВ определяли иммуноферментным методом на анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens, Германия) с использованием тест-системы Human Chromogranin B (USCN Clone Cloud Inc, КНР) в сыворотке крови, взятой натощак из кубитальной вены.

Результаты. Сывороточные концентрации ХгВ были определены у 120 больных НЭО, при этом медиана (18,95 нг/мл) с высокой степенью статистической значимости ($p=0,00000001$) превышала медиану, полученную в контрольной группе (8,81 нг/мл). При всех анализируемых нами локализациях уровни ХгВ статистически значимо отличались от показателя контрольной группы. Наиболее высокая медиана ХгВ была получена в группе НЭО толстой кишки — 21,23 нг/мл, что статистически значимо превышало медиану контроля более чем в 2,4 раза ($p=0,000001$). Степень усиления секреции ХгВ в других группах больных была несколько ниже (до 2 раз), однако также статистически значимо отличалась от контрольной группы ($p=0,000106$). Сывороточные уровни ХгВ, полученные в нашем исследовании, не зависели от функциональной активности опухоли. В то же время медиана концентрации ХгВ у больных с метастазами в печени (21,3 нг/мл) была статистически значимо выше ($p=0,044$), чем у больных с локализованными формами заболевания (17,2 нг/мл).

Для оценки возможности применения ХгВ в качестве биохимического маркера НЭО нами был предпринят ROC-анализ результатов его определения в общей группе больных НЭО относительно контрольной группы. В результате анализа был получен достаточно высокий показатель площади под кривой (Area Under Curve) — $AUC = 0,88$ (95% ДИ 0,83–0,929). При полученном пороговом значении 15,8 нг/мл специфичность по контрольной группе составила 96,3%, при этом диагностическая чувствительность достигала 69,4%.

Из всех локализаций наиболее высокая диагностическая чувствительность была установлена для группы больных НЭО толстой кишки (75,0%). При НЭО поджелудочной железы повышенные по отношению к пороговому значению уровни ХгВ выявлялись у 71,2% больных. В то же время у больных НЭО желудка частота повышения ХгВ была ниже, составив 55,0%. При анализе диагностической чувствительности в зависимости от распространенности процесса наиболее высокая частота повышения была получена в группе больных с метастатическим поражением печени (75,0%) и лимфатических узлов (72,7%), тогда как при локализованных формах НЭО ХгВ повышался у меньшего числа пациентов (63,3%). При дополнительном анализе с учетом результатов морфологического исследования наибольшая частота повышения ХгВ была установлена для опухолей со степенью злокачественности Grade 2 и Grade 3 (72,0% и 70,0% соответственно), при Grade 1 показатель был ниже (64,7%).

Заключение. Проведенное исследование показало значимость ХгВ как потенциального биохимического маркера НЭО, альтернативного ХгА, у больных НЭО различных локализаций.

ОЦЕНКА ВКЛАДА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

ASSESSING THE CONTRIBUTION OF GENETIC FACTORS TO THE DEVELOPMENT OF BREAST CANCER BY NGS

*Лисица Т.С.¹, Абрамов И.С.¹, Строганова А.М.², Поспехова Н.И.²,
Шагина А.Д.¹, Хахина А.О.¹, Авдонина М.А.¹, Ибрагимова А.Ш.¹,
Шипулин Г.А.¹*

¹ ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, Москва, Россия

² ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

*Abramov I.S.¹, Lisitsa T.S.¹, Stroganova A.M.², Pospekhova N.I.²,
Shagina A.D.¹, Khakhina A.O.¹, Avdonina M.A.¹,
Ibragimova A. Sh.¹, Shipulin G.A.¹*

¹ Centre for Strategic Planning of FMBA of Russia

² N.N. Blokhin NMRCO

e-mail: TLisitsa@cspmz.ru

Аннотация. Нами проведена оценка вклада генетических факторов в развитие рака молочной железы 1070 пациентов на основании генетического тестирования на наличие герминальных мутаций, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами.

Ключевые слова: рак молочной железы, NGS, таргетное секвенирование

Abstract. We have studied the contribution of genetic factors to the development of breast cancer in 60 patients based on genetic testing for the presence of germline mutations associated with hereditary tumor syndromes.

Keywords: breast cancer, NGS, targeted sequencing

Введение. Молекулярно-генетическое тестирование на наличие герминальных мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* входит в рекоменда-

ции по обследованию пациентов с диагнозом рак молочной железы (РМЖ) с целью назначения таргетной терапии PARP-ингибиторами. Однако, РМЖ может встречаться и в составе других наследственных опухолевых синдромов.

Цель исследования. Выявление наследственных форм РМЖ, что позволяет эффективно сформировать группы риска, своевременно проводить профилактические мероприятия, выявлять онкологические заболевания на ранних стадиях у пациентов и их кровных родственников.

Материалы и методы. В исследование вошли 1070 пациентов с диагнозом РМЖ, ДРМЖ, РМЖ в составе ПМЗН. ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови. Подготовку библиотек ДНК осуществляли с использованием наборов KAPA HyperPlus (Roche) и NGS DNA Fragmentation & Library Prep Kit (BioDynamics), гибридизацию проводили с помощью кастомной панели зондов KAPA Hyper (Roche). Панель включала в себя зонды для таргетного обогащения кодирующей части 44 генов: *APC, ATM, AXIN2, BARD1, BLM, BMPRIA, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDH1, CDKN2A, CHEK2, DICER1, EPCAM, GALNT12, GREM1, MEN1, MLH1, MLH3, MSH2, MSH3, MSH6, MUTYH, NBN, NFI, NTHL1, PALB2, PMS2, POLD1, POLE, PTCH1, PTCH2, PTEN, RAD51C, RAD51D, RET, SMAD4, STK11, SUFU, TP53, TSC1, TSC2, VHL, WTI*. Высокопроизводительное секвенирование проводили на платформах MiSeq и NextSeq550 (Illumina).

Результаты. Всего выявлено 8617 вариантов нуклеотидной последовательности. Выявлено 105 вариантов нуклеотидной последовательности 4 и 5 классов патогенности, включая относящиеся к кодирующим областям генов *BRCA1, BRCA2, PALB2, ATM, MSH6, EPCAM, BLM, TP53, MUTYH*. Самыми распространенными патогенными вариантами в нашей выборке были NM_007294.4 (*BRCA1*): c.5266dup (p.Gln1756fs) и NM_024675.3 (*PALB2*): c.172_175delTTGT. Другие выявленные патогенные варианты встречались примерно с одинаковой частотой, включая и те, что входят в зарегистрированные в России наборы для диагностики на базе метода ПЦР.

Выводы. Молекулярно-генетическое тестирование панели генов позволяет наиболее полно оценивать вклад генетических факторов в развитие РМЖ в сравнении с существующими зарегистрированными решениями на базе метода ПЦР. Накопление знаний в данной области поможет оценивать риск и проводить профилактику развития опухолей, в первую очередь, за счет выявления мутаций, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами.

РАСТВОРИМЫЕ ФОРМЫ РЕЦЕПТОРА ПРОГРАММИРУЕМОЙ ГИБЕЛИ КЛЕТКИ SPD-1 И ЕГО ЛИГАНДА SPD-L1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

CONTENT OF SOLUBLE FORMS OF PROGRAMMED CELL DEATH RECEPTOR SPD-1 AND ITS LIGAND SPD-L1 IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER

**Масленников В.В.¹, Короткова Е.А.²,
Делекторская В.В.², Кудлай Д.А.¹, Мамедли З.З.²**

¹ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

² ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

**Maslennikov V.V.¹, Korotkova E.A.², Delektorskaya V.V.²,
Kudlay D.A.¹, Mamedli Z.Z.²**

¹ M.I. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Sechenov University), Moscow, Russia

² N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

e-mail: labimmun@yandex.ru

Аннотация. В настоящее время особый интерес представляют исследования растворимых форм sPD-1 и sPD-L1 в периферической крови больных различными онкологическими заболеваниями. В экспериментальных исследованиях показана способность sPD-1 подавлять активность PD-1/PD-L1(2) пути, блокируя связывание находящегося на опухолевых клетках лиганда с мембранным рецептором Т-лимфоцитов. sPD-L1 также способен снизить активность PD-1/PD-L1(2) пути, блокируя рецептор, но, по некоторым данным, может также стимулировать апоптоз Т-лимфоцитов, аналогично мембранному белку, т.е. подавлять противоопухолевый иммунитет. Следует отметить, что результаты большинства клинических исследований системы sPD-1/PD-L1 имеют противоречивый характер и отличаются в зависимости от типа опухоли. Уровни

sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных опухолями толстой кишки изучены недостаточно и требуют более детального анализа на репрезентативной выборке пациентов с учетом основных клинико-морфологических характеристик заболевания.

Ключевые слова: колоректальный рак, sPD-1, sPD-L1

Abstract. Currently, studies of soluble forms of sPD-1 and sPD-L1 in the peripheral blood of healthy people and patients with various oncological diseases are of particular interest. Experimental studies have shown the ability of sPD-1 to suppress the activity of the PD-1/PD-L1(2) pathway by blocking the binding of the ligand located on tumor cells to the membrane receptor of T-lymphocytes. sPD-L1 is also able to reduce the activity of the PD-1/PD-L1(2) pathway by blocking the receptor, but, according to some data, it can also stimulate apoptosis of T-lymphocytes, similarly to a membrane protein, i.e. suppress antitumor immunity. It should be noted that the results of most clinical studies of the sPD-1/PD-L1 system are controversial and differ depending on the type of tumor. The levels of sPD-1 and sPD-L1 in the blood serum of patients with colon tumors have not been studied enough and require a more detailed analysis on a representative sample of patients, taking into account the main clinical and morphological characteristics of the disease.

Keywords: colorectal cancer, sPD-1, sPD-L1

Введение. Система PD-1/PD-L1 играет важную роль в регуляции противоопухолевого иммунитета и включает рецептор программируемой клеточной гибели PD-1 (programmed cell death protein 1) и два лиганда PD-L1, PD-L2. Активация PD-1/PD-L1 пути стимулирует апоптоз антиген-специфичных Т-клеток в лимфоузлах и одновременно подавляет апоптоз регуляторных супрессорных Т-клеток, что является одним из механизмов «ускользания» опухоли от действия иммунной системы организма.

Цель исследования. Сравнительный анализ уровней sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови здоровых доноров, больных злокачественными и доброкачественными опухолями толстой кишки и оценка их связи с клинико-морфологическими характеристиками заболевания.

Материал и методы. Уровни sPD-1 и sPD-L1 исследовали в сыворотке крови до лечения у 145 больных колоректальным раком (КРР), 15 — доброкачественными новообразованиями толстой кишки и 37 здоровых доноров, составивших группу контроля. Возраст обследованных в трех группах колебался от 18 до 85 лет. Концентрации sPD-1 и sPD-L1 определяли иммуноферментным методом наборами реактивов Human PD-L1 Platinum ELISA и Human PD-1 ELISA kit (Affimetrix, eBioscience, США).

Результаты. Концентрации sPD-L1 и sPD-1 в группе контроля статистически значимо выше, чем в общей группе больных опухолями толстой кишки (медианы соответственно 13,0 и 8,3 пг/мл — sPD-L1; 55,4 и 37,0 пг/мл — sPD-1; в обоих случаях $p < 0,01$), но не связаны

с доброкачественным или злокачественным характером новообразования. Уровни исследованных маркеров не зависели от гистологического типа и степени дифференцировки КРР, а также от анатомической локализации опухоли в пораженном органе. Однако обнаружено статистически значимое снижение медианы коэффициента соотношения sPD-1/sPD-L1 с 5,6 в группе пациентов с G1 опухолью до 4,5 в группе пациентов с G2 опухолью и до 4,4 в группе с G3 опухолью ($p=0,013$). Уровень sPD-L1 статистически значимо возрастал с увеличением глубины инвазии первичной опухоли (критерий T системы TNM) и повышался при наличии метастазов в лимфоузлах и отдаленных органах. Уровень растворимого рецептора sPD-1 не связан с показателями распространенности КРР.

Заключение. Таким образом, уровни маркеров sPD-1 и sPD-L1 у больных опухолями толстой кишки статистически значимо ниже, чем у здоровых доноров группы контроля. При этом концентрации маркеров не связаны с доброкачественным или злокачественным характером новообразования. Уровни обоих маркеров в сыворотке крови не зависели от гистологического типа и степени дифференцировки КРР, а также от анатомической локализации опухоли в пораженном органе. Однако уровень растворимого лиганда sPD-L1 статистически значимо возрастал по мере увеличения распространенности первичной опухоли (критерия T системы TNM) и повышался при наличии метастазов в регионарных лимфоузлах и отдаленных органах. Уровень растворимого рецептора sPD-1 не связан с показателями распространенности КРР. Дальнейшие исследования sPD-1 и sPD-L1 помогут улучшить наше понимание патогенеза КРР, а также оценить возможности использования этих маркеров в прогнозе заболевания и выборе терапевтической тактики при назначении иммунотерапии. Дальнейшие исследования sPD-1 и sPD-L1 могут улучшить наше понимание патогенеза КРР, а также помогут оценить возможности использования анализируемых маркеров в прогнозе и при назначении иммунотерапии.

СЫВОРОТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ ЭНДОСТАТИНА У ПАЦИЕНТОВ С САРКОМАМИ КОСТЕЙ

SERUM LEVEL OF ENDOSTATIN IN PATIENTS WITH BONE SARCOMAS

**Меркурьева О.Н.^{1,2}, Бабкина И.В.^{1,2}, Булычева И.В.¹,
Карамышева Е.И.², Кузнецов И.Н.², Сушенцов Е.А.¹**

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия

**Merkureva O.N.^{1,2}, Babkina I.V.^{1,2}, Boulytcheva I.V.¹,
Karamisheva E.I.², Kuznetsov I.N.², Sushentsov E.A.¹**

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation (N.N. Blokhin NMRCO), Moscow, Russia

² A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

e-mail: vaseninaolja@mail.ru

Аннотация. Проведен сравнительный анализ сыровоточного уровня эндостатина у пациентов с саркомами костей и здоровых доноров, а также выполнена оценка прогностической значимости эндостатина как предиктора общей выживаемости больных с опухолями костей.

Ключевые слова: эндостатин, ингибитор ангиогенеза, саркомы костей, общая выживаемость

Abstract. A comparative analysis of the serum level of endostatin in patients with bone sarcomas and healthy donors was carried out. The predictive value of endostatin as a predictor of the overall survival of patients with bone tumors was assessed.

Keywords: endostatin, angiogenesis inhibitor, bone sarcomas, overall survival

Актуальность. Ингибитор ангиогенеза эндостатин рассматривается в качестве одного из перспективных биомаркеров в онкологии, поскольку влияет на процессы опухолевого роста и метастазирования. В связи с этим перспективным исследованием является оценка сы-

вороточного уровня эндостатина у пациентов с саркомами костей, а также изучение влияния эндостатина на выживаемость пациентов.

Цель исследования. Определить уровень эндостатина в сыворотке пациентов с саркомами костей до начала лечения и проанализировать общую выживаемость пациентов с учетом распространенности опухоли, степени дифференцировки и сывороточного уровня эндостатина.

Материалы и методы. Обследовали 103 пациента с гистологически подтвержденным диагнозом злокачественного новообразования костей. Группу контроля составили 27 здоровых доноров. Сывороточный уровень эндостатина определяли до начала лечения методом ИФА с использованием реактивов Human Endostatin Quantikine ELISA Kit (R&D Systems, США). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Концентрацию эндостатина, интерферона α , FGF-2, IGF-2 в сыворотке крови определяли методом ИФА до начала противоопухолевой терапии. Для расчета общей и безметастатической выживаемости применяли метод Каплана-Мейера и регрессионную модель Кокса. В качестве предикторов в модель включали степень распространенность первичной опухоли (T), степень злокачественности (G) и концентрацию эндостатина в сыворотке.

Результаты. В группе пациентов с саркомами костей медиана концентрации эндостатина составила 152,63 нг/мл и была статистически значимо выше по сравнению с контролем, для которого ее значение составило 110,70 нг/мл ($p < 0,01$). Показатель общей 5-летней выживаемости больных составил $58,0 \pm 0,05\%$. Проведенный с помощью метода Каплана-Мейера анализ показал, что средний срок жизни больных составил $162,8 \pm 11,2$ месяцев (95% ДИ: 140,8–184,7 месяца). При оценке комплексного влияния факторов на общую выживаемость пациентов с саркомами костей отмечалось статистически значимое снижение выживаемости при увеличении распространенности опухоли на каждой последующей стадии по системе TNM в 1,87 раза, а также при увеличении сывороточного уровня эндостатина на 1 нг/мл в 1,02 раза ($p < 0,05$).

Заключение. Сравнительный анализ концентрации эндостатина в сыворотке больных первичными злокачественными новообразованиями костей и здоровых доноров выявил статистически значимые различия между больными и контрольной группой, что позволяет использовать его как диагностический маркер опухолевых заболеваний, в том числе сарком костей. Анализ выживаемости показал статистически значимое влияние сывороточного уровня эндостатина на общую выживаемость пациентом с саркомами костей.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ АКТИВИРОВАННЫХ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ

GENETIC PROFILING OF ACTIVATED CYTOTOXIC T-LYMPHOCYTES

**Мокрушина Ю.А., Терехов С.С., Габиров А.Г.,
Смирнов И.В.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия

**Mokrushina Y.A., Terekhov S.S., Gabibov A.G.,
Smirnov I.V.**

Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

e-mail: ivansmr@inbox.ru

Аннотация. Разработана технология отбора и генетического анализа популяции опухоль-специфичных цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL) с использованием функционального скрининга индивидуальных клеток. Данная технология может быть использована для анализа репертуара цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL), а также создания персонализированных иммунотерапевтических агентов.

Ключевые слова: цитотоксические Т-лимфоциты, гранзим В, ультравысокопроизводительный скрининг, капельная микрофлюидика

Abstract. We have developed a technology for the isolation and genetic analysis of a population of tumor-specific cytotoxic T-lymphocytes (CTL) using functional screening of individual cells. This technology can be used to analyze the repertoire of cytotoxic T-lymphocytes (CTL) as well as to create personalized immunotherapeutic agents.

Keywords: cytotoxic T-lymphocytes (CTL), ultrahigh-throughput single-cell screening, droplet microfluidics, granzyme B

Несмотря на высокое понимание молекулярных механизмов распознавания и активации клеток иммунной системы, множество вопросов, касающихся их разнообразия и специфичности остаются недостаточно изученными в настоящее время ввиду отсутствия релевантных технологических платформ для их исследования. Используя микрофлюидные технологии, нам удалось разработать уникальную платформу для ультравысокопроизводительного скрининга биологической активности на уровне единичных клеток. Для проведения отбора используются высокочувствительные флуоресцентные зонды, активируемые искомой популяцией клеток-эффекторов. Уникальные возможности данного метода позволяют провести скрининг функциональной активности цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL) на уровне единичных клеток. В основе разработанной технологии лежит микрофлюидная платформа, обеспечивающая инкапсуляцию клеток в изолированных микрокомпартаментах капель двойной эмульсии вода-масло-вода. При этом популяция активированных клеток идентифицируется с использованием высокоэффективного молекулярного сенсора, детектирующего активность основного фермента CTL — гранзима В. Отбор капель, несущих инкапсулированные CTL, проводится с использованием клеточного сортера, что позволяет выделить индивидуальные клетки и определить последовательности α - и β -цепей Т-клеточного рецептора. Результаты данного исследования расширяют фундаментальные знания в области иммунологии, а также позволяют создавать персонализированные клеточные агенты для борьбы с аутоиммунными, онкологическими заболеваниями и вирусными инфекциями.

*Исследования выполнены при поддержке гранта
Минобрнауки 075-15-2020-0773.*

ПАРАМЕТРЫ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ГЛИОМ С УЧЕТОМ МОЛЕКУЛЯРНОГО ПРОФИЛЯ

PARAMETERS OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN GLIOMAS TAKING INTO ACCOUNT THE MOLECULAR PROFILE

**Орлинская Н.Ю., Гришин А.С., Обухова Л.М., Конторщикова К.Н.,
Медяник И.А., Никифорова О.Н., Конторщиков М.М.**

*ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава
РФ, 603950, Нижний Новгород, Россия*

**Orlinskaya N. Yu., Grishin A.S., Obukhova L.M., Kontorshchikova K.N.,
Medyanik I.A., Nikiforova O.N., Kontorshchikov M.M.**

*Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Privolzhsky Research
Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Nizhny Novgorod,
Russia*

e-mail: zhest8242@mail.ru

Аннотация. Изучили взаимосвязь параметров углеводного обмена в различных зонах опухоли с уровнем молекулярно-генетических маркеров глиом. Анализировали послеоперационный материал 20 пациентов с глиомами разной степени анаплазии. Наибольшие отличия в метаболизме углеводов по сравнению с нераковой тканью были выявлены в ткани опухоли: снижение концентрации лактата и уровня киназы гликогенсинтазы-3 β . Для перитуморальной зоны значимых отличий с прилегающими нераковыми тканями выявлено не было. Активность определяемых ферментов углеводного обмена отличалась в зависимости от молекулярно-генетического профиля глиом, особенно от Ki-67. Выявленная взаимосвязь гликолиза с метилированием промотора O-6-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы MGMT глиом может быть использована для повышения эффективности химиотерапии.

Ключевые слова: перитуморальная зона, молекулярно-генетические маркеры глиом, изоцитратдегидрогеназа IDH1, MGMT, Ki-67, p 53

Abstract. This research aimed to investigate the interrelationship of carbohydrate metabolism parameters and immunohistochemical characteristics of glial tumors. Tumor tissue, peritumoral area, and adjacent noncancerous tissue fragments of 20 patients with gliomas of varying degrees of anaplasia were analyzed. The greatest differences in the carbohydrate metabolism compared to adjacent noncancerous tissues were identified in the tumor tissue: reduction in the levels of lactate and glycogen synthase kinase- β . Significant differences with adjacent noncancerous tissues for the peritumoral zone were not found. The activity of the carbohydrate metabolism enzymes was different depending on the immunohistochemical glioma profile, especially from Ki-67 level. The established interconnection of glycolysis with methylation of the promoter of O-6-methylguanine-DNA-methyltransferase (MGMT) of gliomas can be used to increase chemotherapy efficiency.

Keywords: peritumoral zone, molecular genetic markers of gliomas, IDH1, MGMT, Ki-67, p53

Цель исследования. Оценка взаимосвязи параметров углеводного обмена с иммуногистохимическими характеристиками глиальных опухолей.

Материалы и методы. Ткани опухоли, перитуморальной зоны и прилегающих нераковых тканей были собраны как послеоперационный материал в Университетской клинике. Гистологический диагноз установлен по классификации ВОЗ опухолей ЦНС (Louis 2021). Для иммуногистохимического исследования опухолей применялись следующие клоны антител: Anti-IDH1 R132H (Dianova International, Испания); Anti-MGMT (клон EP337), артикул AC-0307RUO (Epitomics, США), Anti-p53 (клон DO-7) (Leica biosystems, Германия), антитела Ki-67 (клон SP6) (Thermo Scientific, США). Наличие мутации IDH1 оценивалось по присутствию цитоплазматической экспрессии. Уровень маркеров MGMT, Ki-67, p-53 считался по доле позитивного ядерного окрашивания.

Биохимические исследования гомогенатов тканей включали оценку уровней глюкозы, лактата, активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, гексокиназы, количества транскетолазы и киназы гликогенсинтазы β .

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета AnalystSoft Inc., StatPlusa, версия 6 (www.analystsoft.com/ru/).

Результаты. Иммуногистохимический профиль изучался в пилочитарной астроцитоме Grade I, в астроцитомах и олигоденроглиомах с уровнем анаплазии II, III, а также в первичных глиобластомах, глиоме средней линии и астроцитомах Grade IV. Были исследованы мутация IDH1 как прогностический маркер поведения опухоли; метилирование промотора MGMT, как предиктивный маркер ответа на химиотерапию; уровень Ki-67, как отражение пролиферативной

активности; белок p53, как косвенный маркер астроцитарных новообразований, включенный в цепочку онкогенеза. По результатам иммуногистохимического исследования маркеры IDH1, метилирование промотора MGMT, p53 встречались во всех группах глиом (см. табл. 2).

Таблица 2

Морфометрическая оценка опухолевых маркеров в ткани глиом различной степени анаплазии in 20 individuals

Grade	I	II	III	IV
Количество пациентов в группе	1	6	3	10
IDH1 – % выявления мутации	0%	100%	100%	30%
MGMT – % выявления метилирования	100%	83%	100%	30%
p53 – % выявления	0%	66%	0%	80%
Ki-67 высокий (Более 10%) – % выявления	0%	0%	100%	100%
Ki-67 низкий (менее 10%) – % выявления	100%	100%	0%	0%
Медиана Ki-67	–	2%	12%	37%
Межквартильные интервалы Ki-67 (25–75)	–	1,5–3%	–	25–40%

Значение пролиферативного индекса Ki-67 росло с увеличением степени анаплазии и было наиболее высоким в группе глиом Grade IV. Выявление белка p53 не имело явной зависимости от степени злокачественности. Однако, опухолевый маркер p53 отсутствовал во всех четырех случаях олигодендроглиом и присутствовал в большинстве астроцитарных образований. IDH1 мутация прослеживалась во всех случаях олигодендроглиом и астроцитом Grade II–III, а также во вторичных глиобластомах Grade IV. В первичных глиобластомах, глиоме средней линии и пилоцитарной астроцитоме мутация IDH1 не обнаружена. Метилирование промотора MGMT преобладало в глиомах II, III степени.

Для оценки интенсивности процессов гликолиза, пентозофосфатного пути и киназы гликогенсинтазы 3β в тканях опухоли, перитуморальной зоны и нераковых тканях была проведена оценка параметров углеводного обмена. Значимые отличия с нераковыми тканями по изученным параметрам углеводного обмена были выявлены только для ткани опухоли. Содержание лактата в опухоли было значимо ниже (в 4,23 раза), чем в прилегающих нераковых тканях. Содержание киназы гликогенсинтазы-3β было в 2,87 раз ниже в опухолевой зоне, чем в прилегающих нераковых тканях.

При анализе корреляционная зависимость ферментов углеводного обмена с маркерами опухолевого роста глиом наибольшее количество значимых взаимосвязей выявлено для Ki-67 и MGMT.

Далее данные о параметрах углеводного обмена были разделены по группам в зависимости от иммуногистохимического профиля по соответствующему маркеру.

В группе с мутациями генов IDH1 содержание транскетотазы оказалось выше в ткани перитуморальной зоны и опухоли. Отсюда следует, что мутации IDH1 сопровождаются активацией неокислительного этапа пентозофосфатного пути.

В группе с наличием p53 активность глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы в ткани опухоли была значимо ниже, что позволяет сделать заключение о снижении скорости окислительного этапа пентозофосфатного пути.

При высоком уровне митотического индекса Ki-67 наблюдается значимо более низкая активность транскетотазы в тканях перитуморальной зоны и опухоли, что свидетельствует о снижении активности окислительного этапа пентозофосфатного пути. В группе с высоким уровнем ядерного белка Ki-67 содержание киназы гликоген синтазы 3β в ткани перитуморальной зоны и опухоли глиом было статистически значимо ниже, чем в группе с низким митотическим индексом. При высоком уровне Ki-67 в опухолевой ткани уровень глюкозы был ниже, чем в группе с низким уровнем этого митотического индекса.

Отличий активности гексокиназы в группах в зависимости от молекулярно-генетического профиля по IDH1, p53, Ki-67 выявлено не было. Активность гексокиназы значимо отличалась только в зависимости от метилирования промотора гена MGMT. В группе с метилированным промотором (фермент не экспрессируется) активность гексокиназы в перитуморальной зоне была достоверно ниже. Таким образом, при большей чувствительности к действию химиопрепаратов с алкилирующим агентом активность гликолиза в перитуморальной зоне ниже.

Заключение. Установлено, что ферменты гликолиза, пентозофосфатного пути и регуляторный фермент углеводного обмена киназа гликогенсинтазы 3β меняют свою активность в зависимости от иммуногистохимического профиля глиом. Причем наибольшее влияние на углеводный обмен оказывает уровень ядерного белка Ki-67. Выявленная взаимосвязь процессов гликолиза с метилированием промотора MGMT открывает возможность использования особенностей углеводного метаболизма глиом для повышения эффективности химиотерапии.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ ИММУННЫХ КЛЕТОК РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

CLINICAL SIGNIFICANCE OF TUMOR-ASSOCIATED IMMUNE CELLS OF PROSTATE CANCER

*Подлесная П.А., Ковалева О.В., Мочальникова В.В.,
Грачев А.Н.*

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, Москва, Россия

*Podlesnaya P.A., Kovaleva O.V., Mochalnikova V.V.,
Gratchev A.N.*

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

e-mail: polina.pod@yandex.ru

Аннотация. В данной работе проведено исследование фенотипа воспалительного инфильтрата рака предстательной железы (РПЖ) и его ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками пациентов. По результатам исследования было выявлено, что цитотоксические Т-лимфоциты и макрофаги ассоциированы с благоприятными клиническими характеристиками. Основными клетками, экспрессирующими PD-L1 и IDO1 в строме опухоли, оказались макрофаги. Показано, что PU.1 может быть использован как общий макрофагальный маркер в опухолях РПЖ.

Ключевые слова: рак предстательной железы, иммунный инфильтрат, Т-лимфоциты, макрофаги

Abstract. In this study we assessed the tumor infiltrate of prostate cancer (PC) and its association with clinical and morphological characteristics of patients. As result of the study has been determined that cytotoxic T-lymphocytes and tumor-associated macrophages (TAM) are associated with the best clinical profile. Macrophages were found as the main cells which express PD-L1 and IDO1 in the tumor stroma. It was found that PU.1 can be used as pan macrophage marker in prostate cancer tumors.

Keywords: prostate cancer, immune cells, T-lymphocytes, macrophages

Введение. Известно, что микроокружение опухоли играет важную роль в патогенезе заболевания. Накоплено большое количество данных, свидетельствующих о том, что клетки воспалительного инфильтрата опухоли участвуют в возникновении, прогрессии и ответе на лечение в случаях рака предстательной железы (РПЖ). Однако их роль в контексте прогрессии заболевания еще не определена.

Цель исследования. Анализ фенотипа воспалительного инфильтрата опухолей предстательной железы и его ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками пациентов.

Материалы и методы. В исследование включены образцы опухолей, полученные от 31 пациента с раком предстательной железы. С помощью ИГХ проведена оценка экспрессии CD3, CD8, FoxP3, CD68, PU.1, CD204, CD163, IDO1, PD-L1. Оценка взаимосвязи между маркерами и клинико-морфологическими характеристиками производилась при помощи непараметрического критерия Манна-Уитни и точного критерия Фишера. Для анализа корреляций между содержанием клеток различных фенотипов использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Результаты. Повышенное содержание иммуносупрессорных CD204+ макрофагов ассоциировано с более старшим возрастом пациентов ($p=0,0026$), а количество CD163+ макрофагов и цитотоксических CD8+ Т-клеток с отсутствием метастазов в регионарные лимфоузлы ($p=0,0067$ и $p=0,0069$, соответственно). Показано, что PU.1 может быть использован как общий маркер макрофагов. Выявлено, что содержание PU.1+ макрофагов прямо коррелирует с содержанием CD3+ Т-клеток ($r=0,375$; $p=0,038$), CD68+ макрофагов ($r=0,537$; $p=0,002$), PD-L1+ клеток в строме ($r=0,421$; $p=0,018$) и IDO1 в строме и опухолевых клетках ($r=0,557$, $p=0,001$; $r=0,393$, $p=0,029$, соответственно). Следует отметить, что количество CD68 также коррелировало с IDO1 в строме ($r=0,535$; $p=0,002$). Количество CD163+ макрофагов в строме коррелировало с числом CD8 ($r=0,358$; $p=0,048$), PD-L1 в строме опухоли ($r=0,399$; $p=0,026$), а также IDO1 в строме ($r=0,220$; $p=0,026$). Интересно, что количество PD-L1+ клеток в строме опухоли прямо коррелирует с количеством IDO1+ опухолевых клеток ($r=0,610$; $p < 0,001$). Число FoxP3+ Т-клеток в строме опухоли также положительно коррелирует с количеством IDO1 в опухолевой ткани ($r=0,388$; $p=0,031$). Проведенный корреляционный анализ показал тесную взаимосвязь между содержанием клеток различного фенотипа и свидетельствует в пользу необходимости проведения комплексного анализа клеток стромы для более полного понимания механизмов развития опухоли.

Заключение. В результате проведенной работы детально описан воспалительный инфильтрат стромы опухолей предстательной же-

лезы. Полученные нами данные указывают на то, что основными клетками, экспрессирующими PD-L1 и IDO1 в строме опухоли в случае РПЖ являются макрофаги. Повышенная экспрессия IDO1 в опухолевой ткани ассоциирована с иммуносупрессорным фенотипом воспалительного инфильтрата. Тот факт, что общее число макрофагов прямо коррелирует с количеством Т-лимфоцитов в строме РПЖ, а содержание M2 макрофагов с количеством цитотоксических Т-клеток свидетельствует о взаимодействии механизмов врожденного и приобретенного иммунитета в процессе прогрессии РПЖ.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ЦОДНК У ПАЦИЕНТОВ С ЛОКАЛИЗОВАННЫМИ СТАДИЯМИ ОПУХОЛЕЙ ЖКТ

THE PROGNOSTIC ROLE OF CDNA IN LOCALIZED STAGES OF GASTROINTESTINAL TUMORS

**Полянская Е.М.¹, Федянин М.Ю.^{1,3,4}, Боярских У.А.², Попова А.С.¹,
Игнатова Е.О.⁵, Кечин А.А.², Мороз Е.А.¹, Храпов Е.А.²,
Оскоробин И.П.², Шамовская Д.В.², Поляков А.Н.¹
Кудашкин Н.Е.¹, Подлужный Д.В.¹, Алиев В.А.¹, Мамедли З.З.¹,
Триголосов А.В.¹, Никулин М.П.¹, Неред С.Н.¹, Калинин А.Е.¹,
Стилиди И.С.¹, Трякин А.А.¹, Филипенко М.Л.², Тюляндин С.А.¹**

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН)», Новосибирск, Россия

³ ГБУЗ ММ КЦ «Коммунарка» ДЗ г. Москвы, Сосенский стан 8, Москва, Россия

⁴ ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

⁵ Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва, Россия

**Polyanskaya E.M.¹, Fedyanin M. Yu.^{1,3,4}, Boyarskikh U.A.², Popova A.S.⁵,
Ignatova E.O.⁶, Kechin A.A.², Moroz E.A.¹, Khrapov E.A.²,
Oskorobin I.P.², Shamovskaya D.V.², Polyakov A.N.¹, Kudashkin N.E.¹,
Podluzhnyi D.V.¹, Aliev V.A.¹, Mammedli Z.Z.¹, Trigolosov A.V.¹,
Nikulin M.P.¹, Nered S.N.¹, Kalinin A.E.¹, Stilidi I.S.¹,
Tryakin A.A.¹, Filipenko M.L.², Tjulandin S.A.¹**

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

² Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

³ MM KC «Kommunarka», Moscow, Russia

⁴ N.I. Pirogov National Medical and Surgical Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

⁵ N.P. Bochkov Medico-Genetic Scientific Center named after Academician, Moscow, Russia

e-mail: Lazimira@mail.ru

Аннотация. В настоящее время появляется все большее количество исследований, направленных на поиск биомаркеров позволяющих оценить эффективность лечения при локализованных стадиях онкологических заболеваний, а также выделить группу больных с наибольшим риском прогрессирования. При этом немаловажным вопросом является воспроизводимость разработанных тестов, а также возможность универсализации тест системы для применения при разных нозологиях. В ряде работ циркулирующая опухолевая ДНК (цоДНК) показала негативную прогностическую ценность. Нами была разработана тест система для выявления цоДНК, а также проведено исследование прогностической роли цоДНК у пациентов с локализованным раком желудка (РЖ), раком поджелудочной железы (РПЖ) и колоректальным раком (КРР).

Ключевые слова: цоДНК, циркулирующая опухолевая ДНК, тест система, локализованные стадии, колоректальный рак, рак поджелудочной железы, рак желудка, I–III стадии, адьювантная химиотерапия

Abstract. Currently, a large number of studies aimed at finding biomarkers to assess the effectiveness of treatment of localized stages of cancer are being conducted. Another serious task is to identify the group of patients with the highest risk of progression. At the same time, an important issue is the reproducibility of the developed tests, as well as the possibility of universalizing the test system for use in different nosologies. In a number of studies, circulating tumor DNA (ctDNA) has shown negative prognostic value. We have developed a test system for dna detection. We also conducted a study of the prognostic role of ctDNA in patients with localized gastric cancer (GC), pancreatic cancer (PDAC) and colorectal cancer (CRC).

Keywords: ctDNA, circulating tumor DNA, test system, localized stages of cancer, colorectal cancer, pancreatic cancer, gastric cancer, stages I–III, adjuvant chemotherapy

Цель исследования. Изучить прогностическое значение выявленной с помощью разработанной нами тест системы цоДНК до и после операции у больных с I–III стадиями РЖ, РПЖ и КРР.

Материалы и методы. С 2018 года Национальным медицинским исследовательским центром онкологии им. Н. Н. Блохина совместно с Институтом химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук была начата разработка тест системы по определению цоДНК в плазме крови, основанной на выявлении наиболее частых соматических мутаций, специфичных для нескольких злокачественных новообразований. В исследование включались данные пациентов с морфологически верифицированным резектабельным КРР(119), РЖ(42) и РПЖ(37), проходивших лечение в НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина в период с 2016 по 2021 гг. Критериями исключения являлись отсутствие морфологической верификации опухоли, опухоль червеобразного отростка, опухоли тонкой кишки, неэпителиальные опухоли поджелудочной железы, рак желчных путей, метастазирование из другой первичной опухоли в поджелудочную железу, а также отсутствие об-

разцов крови или доступности гистологического материала первичной опухоли для выполнения генетического анализа.

Забор образцов крови осуществлялся до и после хирургического лечения на 5–15 сутки после операции. В случаях, когда пациентам проводилась предоперационная химиотерапия, забор крови выполнялся до начала предоперационного лечения.

Выделение ДНК из блока первичной опухоли осуществлялось при помощи набора QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen, Германия). Секвенирование проводили с использованием панели NGS, охватывающей области частых соматических мутаций в 50 генах (ACVR2A, AKT1, APC, B2M, BAX, BMPR2, BRAF, CBFB, CDH1, CDKN2A, CHEK2, CTNNB1, DOCK3, EEF1B2, EGFR, ERBB2, ESR1, FAM39B, FBXW7, FOXA1, GATA3, GNAS, IRF5, KEAP1, KRAS, MB21D2, MED12, NFE2L2, NRAS, NRXN3, OR5K3, PGM5, PIK3CA, PRPF19, RHPN2, RNF43, RPL22, RPSAP58, RUNX1, SEMA5A, SF3B1, SMAD4, SPTA1, TCF7L2, TP53, TRIM48, TTK, U2AF1, VHL, XYLT2). С целью обогащения NGS-библиотеки применялась мультиплексная полимеразная цепная реакция (ПЦР). Для секвенирования библиотек использовалась платформа MiniSeq (Illumina) и набор реагентов High output. Опухолеспецифические мутации отслеживались с помощью ddPCR в образцах плазмы. Минимально допустимой концентрацией, при которой цоДНК в образце плазмы считали позитивной — 0,4 копий мутантного ДНК в 1 мл плазмы при КРР и РПЖ и 0,5 копий мутантного ДНК в 1 мл плазмы при РЖ. Основным критерием эффективности являлась выживаемость без признаков болезни (ВБПБ).

Результаты. ЦоДНК была определена в крови 119 пациентов с КРР (I стадия $n=20$ — 16,8%, II стадия $n=56$ — 47,0%, III стадия $n=43$ — 36,2%), 42 больных РЖ (I стадия $n=7$ — 16,8%, II стадия $n=11$ — 26,1%, III стадия $n=24$ — 57,1%) и 37 больных РПЖ (I стадия $n=2$ — 5,4%, II стадия $n=28$ — 75,7% и III стадия $n=7$ — 18,9%). При этом положительные уровни цоДНК после операции выявлены у 46 (38,6%) больных КРР, у 10 больных с РЖ (23,8%) и 14 (50%) с РПЖ.

При КРР прогрессирование заболевания было зарегистрировано у 30 из 46 (65%) с положительной цоДНК и у 3 из 73 (4%) пациентов с отсутствием цоДНК после операции ($p < 0,001$). При РПЖ прогрессирование заболевания было зарегистрировано у 7 из 14 пациентов (50%) с наличием цоДНК и у 3 из 23 (13%) пациентов с отсутствием цоДНК после операции ($p=0,02$). А при РЖ прогрессирование было выявлено у 6 из 10 (50%) пациентов с положительной цоДНК и у 6 из 32 (18,8%) отрицательной цоДНК ($p=0,012$).

Наличие цоДНК после операции влияло на ВБПБ как при КРР (ОР 27,795% ДИ 6,6–116,6; $p < 0,001$), и РПЖ (ОР 2,9, 95% ДИ 1,01–8,5; $p=0,04$), так и при РЖ (ОР 6,6, 95% ДИ 1,5–30; $p=0,014$).

Однолетняя ВБПБ при локализованных стадиях КРР при положительной цоДНК после операции составила 56%, а при отрицательной цоДНК 98%. У пациентов с резектабельным РПЖ 6-месячная ВБПБ в группах с положительным или отрицательным статусом цоДНК после операции составила 66% и 91% соответственно. А при резектабельном РЖ однолетняя ВБПБ в группах с положительным и отрицательным статусом цоДНК после операции была 25,4% и 73,2% соответственно.

Пациенты с положительной цоДНК после операции имели худшие показатели ВБПБ независимо от проведения адъювантной химиотерапии как при КРР, так и при РПЖ.

Наличие цоДНК после операции было независимым негативным прогностическим фактором в соответствии с регрессионной моделью Кокса при КРР (ОР=21,07; 95% ДИ 4,85–91,54; $p < 0,001$) и при РПЖ (ОР 2,9, 95% ДИ 1,01–8,5; $p = 0,04$) и единственным негативным прогностическим фактором при РЖ (ОР 6,6, 95% ДИ 1,5–30; $p = 0,014$).

Статус цоДНК после операции не влиял на ОВ при локализованных стадиях ни в случае РПЖ (ОР 1,2, 95% ДИ 0,2–6,6; $p = 0,8$), ни КРР (ОР 1,39; 95% ДИ 0,37–5,2; $p = 0,62$).

Заключение. Нами был разработан эффективный и недорогой метод определения соматических мутаций, специфичных для трех типов опухолей ЖКТ. При этом, было установлено, что наличие цоДНК после операции является негативным прогностическим фактором прогрессирования после хирургического лечения при локализованных стадиях рака желудка, ПЖ и КРР. Наличие цоДНК после операции при РПЖ и КРР оказывало негативное влияние на ВБПБ, независимо от проведения адъювантной химиотерапии. Однако, требуются дальнейшие клинические исследования с модификацией периоперационного лечения в соответствии с содержанием цоДНК.

ПРОГРАММНЫЙ МОДУЛЬ ДЛЯ ИНТЕРПРЕТАЦИИ ОНКО ОБРАЗЦОВ НА ПЛАТФОРМЕ NGS WIZARD (GENOMENAL)

SOFTWARE FOR INTERPRETATION OF ONCOLOGICAL SAMPLES IN NGS WIZARD (GENOMENAL) SOFTWARE

**Помазной М.Ю.¹, Гордиев М.Г.², Каманова Е.П.¹,
Шелестова А.О.¹, Григорьев А.С.¹, Храпцов С.Ю.¹,
Тарасенко Е.Ф.¹**

¹ ООО «Новые Программные Системы», Новосибирск, Россия

² ООО «ЛДЦ МИБС», Санкт-Петербург, Россия

**Pomaznoy M.Y.¹, Gordiev M.G.², Kamanova E.P.¹, Shelestova A.O.¹,
Grigoriev A.S.¹, Khramtsov S.Y.¹, Tarasenko E.F.¹**

¹ Novel Software Systems, Novosibirsk, Russia

² MIBS, St.Petersburg, Russia

e-mail: mikpom@novel-soft.com

Аннотация. Разработано программное обеспечение (ПО) NGS Wizard для помощи в интерпретации генетических вариантов. ПО обрабатывает данные полногеномного и таргетного секвенирования, выполняет поиск соматических и герминальных вариантов, осуществляет аннотацию полученных вариантов множеством параметров из внутренних и сторонних баз данных, предоставляет инструменты для фильтрации, приоритезации и интерпретации найденных вариантов, позволяет создавать отчеты, включающие рекомендации ведущих организаций РФ, США и Европы. С помощью ПО проведен большой объем исследований генетического материала пациентов. Доступ к облачной версии NGS Wizard можно получить на сайте www.genomenal.ru. Там же принимаются заявки на установку ПО в периметре организации.

Ключевые слова: NGS, секвенирование, интерпретация генетических вариантов, анализ данных

Abstract. We have developed a software NGS WIZARD for interpretation of genetic variants. The software processes raw data from whole-genome and targeted sequencing, performs somatic and germline variant calling, annotates the variants with various parameters from internal and external databases, provides visual tools for filtering, prioritizing, and interpretation of given genetic variants, and allows creating reports which include recommendations provided by leading organization from Russia, US and Europe. With the software a great number of investigations of patients' genetic material was performed.

Keywords: NGS, sequencing, genetic variants interpretation, data analysis

Программа NGS Wizard является веб-инструментом с графическим интерфейсом, разработанным на основе российской платформы Genomenal. В основу приложения положены усовершенствованные программные конвейеры, которые осуществляют автоматизированную обработку данных полногеномного и таргетного NGS секвенирования, полученных с различных платформ, таких как Illumina, BGI/MGI, IonTorrent. Программа NGS Wizard позволяет получать специализированные отчеты по заданным нозологиям. При разработке форм отчетов использовался опыт практикующих врачей.

В NGS Wizard есть возможность подключать и использовать различные модули, в том числе онко-модуль, который призван усовершенствовать и облегчить работу интерпретатора (онколога) по выявлению и интерпретации генетических вариантов пациента с целью уточнения диагноза и назначения таргетной терапии. Работа в онко-модуле начинается с загрузки сырых данных секвенирования (единичного/группы пациентов) с возможностью настройки базовых биоинформатических параметров, контроля качества прочтений, выравнивания прочтений и выявления генетических вариантов. Найденные мутации автоматически аннотируются с помощью доступных баз данных (ClinVar, dbSNP, dbNSFP, gnomAD, OMIM, COSMIC, CADD, ICGC, SpliceAI) с возможностью формирования и использования собственной курируемой базы патогенных вариантов. Базовые и расширенные настраиваемые фильтры позволяют интерпретатору существенно облегчить поиск патогенной мутации, на основе которой будет сформирован индивидуальный онкологический отчет. Программа NGS Wizard позволяет получать специализированные отчеты с учетом задаваемых метаданных пациента (заболевание, стадия, линия терапии). В отчетах отражены клинически значимые варианты, а также практические рекомендации, разработанные группами экспертов Российского общества клинической онкологии (RUSSCO), Ассоциации онкологов России (АОР), а также на основе клинических рекомендаций министерства здравоохранения РФ. Зарубежные стандарты лечения отражены в представленных рекомендациях Национальной всеобщей онкологической сети (National Comprehensive

Cancer Network, NCCN) и Европейского общества медицинской онкологии (European Society for Medical Oncology, ESMO). При разработке форм отчетов использовался опыт практикующих онкологов-генетиков, которые отвечают за своевременную актуализацию упомянутых рекомендаций. В данный момент реализована выдача актуальных рекомендаций по следующим нозологиям: меланома, рак поджелудочной железы, рак простаты, немелкоклеточный рак легкого, рак молочных желез, рак яичников, колоректальный рак и анапластический рак щитовидной железы

Наличие интуитивно понятного интерфейса, возможности настройки аккаунта под конкретные нужды специалиста, актуальной системы по поиску и аннотации клинически значимых вариантов, а также автоматической выдачи клинических рекомендаций по терапии заболевания может стать основой для более быстрой и точной диагностики онко-пациентов на потоке. Облачная архитектура дает техническую возможность эксплуатации приложения пользователям, не имеющим собственных высокопроизводительных вычислительных ресурсов. При этом имеется возможность установки программного обеспечения в периметр организации для максимально надежного контроля за безопасностью хранения данных.

ГАЛЕКТИНЫ 1 И 3 КАК ФАКТОРЫ ПРОГРЕССИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

GALECTINS 1 AND 3 AS FACTORS OF COLORECTAL CANCER PROGRESSION

Рейнгардт Г.В.^{1,2}, Полетика В.С.¹, Курносенко А.В.^{1,2}, Колобовникова Ю.В.¹, Уразова О.И.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия

² Областное государственное автономное учреждение здравоохранения «Томский областной онкологический диспансер», Томск, Россия

Reyngardt G.V.^{1,2}, Poletika V.S.¹, Kurnosenko A.V.^{1,2}, Kolobovnikova Yu.V.¹, Urazova O.I.¹

¹ Federal State Budgetary Institution of Higher Education «Siberian State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Tomsk, Russia

² Regional State Autonomous Health Institution «Tomsk Regional Oncology Center», Tomsk, Russia

e-mail: glebreynardt@gmail.com

Аннотация. Установлена связь высокой экспрессии галектинов-1 и -3 в опухолевой ткани и их плазменной концентрации с высоким инвазивным и метастатическим потенциалом опухоли, что свидетельствует об участии лектинов в механизмах прогрессии колоректального рака и обосновывает возможность их использования в качестве предиктора неблагоприятного прогноза заболевания.

Ключевые слова: галектины, дифференцировка, инвазия, метастазирование, колоректальный рак

Abstract. The association of high expression of galectins 1 and 3 in tumor tissue and their plasma concentration with high invasive and metastatic potential of the tumor has been established, which indicates the participation of lectins in the mechanisms of colorectal cancer progression and justifies the possibility of their use as a predictor of an unfavorable prognosis of the disease.

Keywords: galectins, differentiation, invasion, metastasis, colorectal cancer

Введение. Современные подходы к диагностике и лечению рака толстой кишки не обеспечивают высокой 5-летней выживаемости пациентов, что определяет актуальность поиска биологических молекул, способных служить диагностическими и прогностическими онкомаркерами данного заболевания. К таким молекулам относятся галектин-1 и галектин-3 — галактозид-связывающие белки с широким арсеналом свойств, экспрессия которых особенно выражена в опухолевой ткани. По данным литературы, гиперэкспрессия галектинов 1 и 3 в ткани новообразования коррелирует с агрессивным ростом опухоли и в ряде случаев может опосредовать развитие лекарственной устойчивости к цитостатическим препаратам.

Цель исследования. Установить взаимосвязь экспрессии галектина-1 и галектина-3 в опухолевой ткани и содержания этих лектинов в периферической крови со степенью дифференцировки и распространения (инвазии) первичной опухоли, наличия лимфогенных метастазов при колоректальном раке.

Материал и методы исследования. В исследование вошел 81 пациент с диагнозом «рак толстой кишки». В качестве группы сравнения в исследование были включены 49 пациентов с аденомой толстой кишки, контрольную группу составили 17 здоровых доноров без опухолевых заболеваний.

Материалом исследования служили образцы тканей опухолей толстой кишки, полученные после хирургического удаления новообразования, а также цельная кровь пациентов до проводимой терапии.

Исследование экспрессии галектина-1 и галектина-3 в опухолевой ткани выполняли на парафиновых срезах методом иммуногистохимии. Измерение концентрации галектинов 1 и 3 в плазме крови проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа. Для описания распространения опухолевого поражения у пациентов с колоректальным раком использовали международную классификацию по системе TNM (ВОЗ, 2013 г.). Разделение злокачественных новообразований толстого кишечника по степени дифференцированности опухолевых клеток выполняли в соответствии с «Клиническими рекомендациями по диагностике и лечению опухолей (взрослые)» (Ассоциация онкологов России, 2018). Статистический анализ проводили с использованием программы Statistica 12.0. Различия между двумя сравниваемыми выборками считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования. Установлено статистически значимое увеличение процентного содержания опухолевых галектин-1-позитивных клеток до 23 (11–41)% ($p = 0,001$) у больных колоректальным раком по сравнению с аналогичным показателем

у пациентов с аденомами толстой кишки (11 (8–19)%). Относительное количество опухолевых галектин-3⁺-клеток в злокачественных новообразованиях толстой кишки равнялось 18 (12–24)%, что также превышало соответствующий параметр в опухолевой ткани у пациентов с аденомами толстой кишки (14 (8–17)%, $p=0,034$). По результатам проведенного иммуноферментного анализа, у больных колоректальным раком обнаружили статистически значимое увеличение концентрации галектина-1 до 16,17 (15,31–17,10) нг/мл ($p=0,003$) в плазме крови по сравнению со значениями соответствующего показателя у здоровых доноров (13,74 (12,23–14,79) нг/мл). При исследовании содержания галектина-3 в периферической крови у больных колоректальным раком данный параметр оказался равным 3,28 (2,30–5,71) нг/мл, что в 2,1 раза ($p=0,006$) превышало величину аналогичного показателя в группе здоровых доноров (1,56 (1,19–2,17) нг/мл).

Для определения значимости галектинов-1, -3, как факторов прогнозирования клинического течения колоректального рака, нами была проанализирована взаимосвязь содержания галектинов-1 и -3 в опухолевой ткани и периферической крови с учетом степени дифференцировки и распространения первичной опухоли, а также наличие очагов метастазирования.

Согласно результатам проведенного нами исследования, у пациентов с низкодифференцированным раком толстой кишки значение внутриопухолевой экспрессии и плазменной концентрации галектина-3 (равное 33,5 (17,5–57,5)% и 7,22 (3,41–10,32) нг/мл соответственно) статистически значимо превышало аналогичные параметры у больных с высокодифференцированным колоректальным раком (15,0 (7,0–22,0)%, $p=0,038$ и 2,69 (1,77–4,11) нг/мл, $p=0,018$). Анализ содержания галектина-1 (внутри опухоли и в крови) при колоректальном раке в зависимости от степени дифференцировки опухоли не позволил выявить статистически значимых различий.

По результатам сравнительного исследования содержания галектинов-1 и -3 в опухолевой ткани и периферической крови в зависимости от степени инвазии первичной опухоли оказалось, что концентрация галектина-1 в плазме крови, равная 16,68 (15,72–17,88) нг/мл ($p=0,006$), и экспрессия галектина-1 в опухолевой ткани (27,0 (15,0–45,0)%, $p=0,032$) при раке толстой кишки с высокой степенью распространения первичной опухоли (Т 3, Т 4) существенно превышали аналогичные параметры у пациентов с менее инвазивным ростом опухоли (Т 1, Т 2) (концентрация галектина-1 в крови — 14,83 (13,10–15,84) нг/мл и количество галектин-1⁺-клеток — 13,0 (9,0–19,0)%). При этом экспрессия галектина-3 в опухолевой ткани и его концентрация в периферической крови при колоректаль-

ном раке не зависели от степени выраженности инфильтрирующего роста опухоли и были сопоставимыми.

Еще одним критерием прогрессии опухоли является метастазирование. У больных раком толстой кишки, сопровождающимся появлением лимфогенных метастазов, экспрессия галектина-1 опухолевыми клетками (38,0 (23,0–55,0)%) значимо превышала соответствующий показатель в группе пациентов с колоректальным раком без регионарных метастазов (20,0 (9,0–32,0)%, $p=0,006$). Аналогичная закономерность выявлена в отношении внутриопухолевой экспрессии галектина-3 (процентное содержание опухолевых галектин-3⁺-клеток оказалось равным 28,0 (17,0–43,0) и 13,0 (5,0–20,0)% соответственно, $p=0,001$) и плазменной концентрации галектина-1 (16,59 (16,13–19,00) и 14,90 (13,17–16,01) нг/мл соответственно, $p=0,021$).

Заключение. Связь высокой экспрессии галектинов-1 и –3 в опухолевой ткани и их концентрации в периферической крови с низкой дифференцировкой опухоли, высокой степенью распространения (инвазии) опухоли и наличием регионарных метастазов позволяет рассматривать повышение содержания галектина-1 и галектина-3 в опухоли и крови при колоректальном раке в качестве предиктора агрессивного течения заболевания.

*Работа поддержана грантом Президента РФ
(МД-2788.2019.7).*

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ПОКОЯЩИХСЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

EPIGENETIC MECHANISMS OF REGULATION OF RESTING TUMOR CELLS

Рукша Т.Г.

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого», Красноярск, Россия

Ruksha T.G.

V.F. Voino-Yasenyetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

Аннотация. Разъяснение механизмов лекарственной устойчивости необходимо для повышения эффективности терапии злокачественных новообразований. Выявлено, что под воздействием противоопухолевых агентов, часть опухолевых клеток может обратимо выходить из клеточного цикла, переходить в фазу покоя, сохраняя при этом жизнеспособность. Проведенные нами исследования показали, что G0-положительные клетки характеризуются специфичным транскриптомным профилем, который ассоциирован с SASP-фенотипом, активацией неапоптотических функций p53, а также активацией механизмов сигнальной трансдукции, связанных с фокальной адгезией. Действительно, функциональные исследования определили, что G0-положительные клетки характеризуются повышенными адгезивными свойствами, что может иметь значение как в процессах формирования преме-тастатических ниш, так и диссеминации опухолевых клеток. Помимо этого, повышение уровня клеток в G0-фазе клеточного цикла характеризуется специфичным профилем микроРНК, в котором отмечается изменение уровня микроРНК, ассоциированных с развитием лекарственной устойчивости. Более того, микроРНК регулируют переход клеток в G0, что показывает вклад этих молекул в регуляцию развития феномена «дормантности» опухоли на эпигенетическом уровне.

Ключевые слова: покоящиеся опухолевые клетки, эпигенетические механизмы регуляции

Abstract. Clarification of the mechanisms of drug resistance is necessary to increase the effectiveness of therapy of malignant neoplasms. It was revealed that under the influence of antitumor agents, part of the tumor cells can reversibly exit the cell cycle, enter the resting phase, while maintaining viability. Our studies

have shown that G0-positive cells are characterized by a specific transcriptomic profile, which is associated with the SASP phenotype, activation of non-apoptotic functions of p53, as well as activation of signal transduction mechanisms associated with focal adhesion. Indeed, functional studies have determined that G0-positive cells are characterized by increased adhesive properties, which may be important both in the processes of formation of premetastatic niches and dissemination of tumor cells. In addition, an increase in the level of cells in the G0 phase of the cell cycle is characterized by a specific microRNA profile, in which there is a change in the level of microRNAs associated with the development of drug resistance. Moreover, microRNAs regulate the transition of cells to G0, which shows the contribution of these molecules to the regulation of the development of the phenomenon of tumor «dormancy» at the epigenetic level.

Keywords: resting tumor cells, epigenetic mechanisms of regulation

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЗОНУЛИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ТОЛСТОЙ КИШКИ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

COMPARATIVE STUDY OF ZONULIN IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH COLON DISEASES AND HEALTHY DONORS

**Сялянова Е.П.¹, Зыбина Н.Н.², Царапаев П.В.¹,
Делекторская В.В.¹, Никонов Е.Л.³, Мамедли З.З.¹**

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

²ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

³ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия

**Salyanova E.P.¹, Zybina N.N.², Tsarapaev P.V.¹,
Delektorskaya V.V.¹, Nikonov E.L.³, Mamedli Z.Z.¹**

¹Federal State Budgetary Institution N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

²A.M. Nikiforov's All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine of the Emergencies Ministry of Russia, St. Petersburg, Russia

³N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

e-mail: tdk180@rambler.ru

Аннотация. Зонулин – кишечный гомолог холерного энтеротоксина Zonula occludens – вовлечен в регуляцию проницаемости кишечной стенки и врожденного кишечного иммунитета. Это единственный белок млекопитающих, в т.ч. человека, который обратимо регулирует межклеточные плотные контакты (tight junctions – TJ), в том числе, за счет взаимодействия со специфическим активирующим протеиназы рецептором и активации внутриклеточных сигнальных путей, приводящих к открытию межклеточных TJ. В настоящее время уже признано, что изменения проницаемости кишечной стенки в результате нарушения TJ тесно связано с патогенезом многих аутоиммунных заболеваний,

включая целиакию, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, сахарный диабет 1 типа. В предварительных исследованиях показано увеличение экспрессии зонулина в глиомах, а также увеличение его уровня в плазме или сыворотке крови пациентов с плоскоклеточным назофарингеальным раком, раком легкого, поджелудочной железы, причем эти исследования проведены преимущественно протеомными методами. В то же время данных о роли зонулина при опухолях желудочно-кишечного тракта, в частности, при колоректальном раке (КРР) пока не опубликовано. Относительно немного работ посвящено и клиническому значению зонулина в качестве маркера воспалительных заболеваний кишечника, причем их результаты неоднозначны.

Ключевые слова: зонулин, болезнь Крона, эрозивно-язвенный колит, синдром раздражения толстой кишки, колоректальный рак

Abstract. Zonulin – an intestinal homologue of cholera enterotoxin Zonula occludens, is involved in the regulation of intestinal wall permeability and innate intestinal immunity. It is the only mammalian protein, including human, that reversibly regulates intercellular tight junctions (tight junctions – TJ), including through interaction with a specific proteinase-activating receptor and activation of intracellular signaling pathways leading to the opening of intercellular TJ. Currently, it is already recognized that changes in the permeability of the intestinal wall as a result of TJ disorders are closely related to the pathogenesis of many autoimmune diseases, including celiac disease, multiple sclerosis, rheumatoid arthritis, type 1 diabetes mellitus. Preliminary studies have shown an increase in zonulin expression in gliomas, as well as an increase in its level in plasma or serum of patients with squamous nasopharyngeal cancer, lung cancer, pancreatic cancer, and these studies were conducted mainly by proteomic methods. At the same time, data on the role of zonulin in tumors of the gastrointestinal tract, in particular, in colorectal cancer (CRC) has not yet been published. Relatively few papers are devoted to the clinical significance of zonulin as a marker of inflammatory bowel diseases, and their results are ambiguous.

Keywords: zonulin, Crohn's disease, erosive ulcerative colitis, irritable bowel syndrome, colorectal cancer

Цель исследования. Сравнительный иммуноферментный анализ уровней зонулина в сыворотке крови здоровых доноров, больных колоректальным раком и доброкачественными новообразованиями толстой кишки, аутоиммунными заболеваниями и синдромом раздраженного кишечника.

Материалы и методы. В исследование включено 184 пациента с новообразованиями толстой кишки в различных стадиях опухолевого процесса: 152 КРР (79 женщин и 73 мужчины; возраст 30–84; медиана 63 года) и 32 с доброкачественными опухолями (23 женщины и 9 мужчин; возраст 39–82; медиана 62 года). У всех пациентов КРР выявлен впервые и подтвержден данными гистологического исследования опухоли. По гистологическому строению подавляющее большинство опухолей (149/152) охарактеризованы как аденокарцинома ($n = 33$, степень дифференцировки G1; $n = 108$, G2; $n = 3$, G3).

Среди доброкачественных новообразований большинство ($n=22$) представляли собой тубуло-ворсинчатую, 9 тубулярную и 1 ворсинчатую аденому.

Группу здорового контроля составили 50 доноров (27 женщин и 23 мужчины; возраст 25–68 лет; медиана 42 года); группу патологического контроля составили 84 пациента (55 женщин и 29 мужчин; возраст 18–84 года; медиана 41 год) с неопухолевыми заболеваниями (синдром раздраженного кишечника — 29; аутоиммунные заболевания — болезнь Крона — 5, язвенно-некротический колит — 50).

Содержание зонулина в сыворотке крови, полученной по стандартной методике, определяли с помощью наборов для конкурентного иммуноферментного анализа IDK® Zonulin ELISA (Immundiagnostik AG) в соответствии с инструкциями производителя. В наборе используются поликлональные антитела, основанные на последовательности зонулина, в ранее опубликованных работах. Измерения проводили на полуавтоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens). Содержание маркера выражали в нанogramмах (нг) на 1 мл сыворотки крови. Аналитическая чувствительность составляет 0,183 нг/мл; перекрестной реакции с человеческим НР не выявлено.

Полученные данные обрабатывали с помощью программ «Statistica 7.0» и SPSS Statistics 21. При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна-Уитни, Краскела-Уоллиса, тест корреляции рангов Спирмена. Различия и корреляции считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для расчета порогового уровня и оценки диагностической эффективности применяли метод построения ROC (Receiver Operating Characteristic) кривых с оценкой площади под кривой (AUC — Area Under Curve). В качестве критерия выбора порогового значения использовали максимальное значение индекса Юдена (Youden index, Jmax).

Результаты. Не установлено связи концентраций зонулина с возрастом обследованных доноров группы контроля. Вместе с тем, выявлено значимо более высокое содержание сывороточного зонулина у здоровых мужчин ($47,7 \pm 3,1$ пг/мл) по сравнению с таковым в группе женщин ($32,6 \pm 2,2$ пг/мл; $p=0,0005$). Уровень зонулина статистически значимо повышен по сравнению с группой здорового контроля как у больных КРП ($p < 0,0001$), так и у пациентов с доброкачественными опухолями толстой кишки ($p < 0,01$). Он также значимо повышен у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника по сравнению с контролем ($p < 0,001$). При этом у больных КРП уровень зонулина статистически значимо выше, чем у пациентов с неопухолевыми заболеваниями ($p < 0,05$). При построении ROC кривых установлено, что при оптимальном пороговом уровне зонулина, рав-

ном 52,2 нг/мл, диагностическая чувствительность выявления КРР составила 66,7%, специфичность относительно здорового контроля — 81,8%. Однако специфичность относительно объединенной контрольной группы (здоровый контроль + воспалительные и аутоиммунные заболевания кишечника) — 68,9%. Приемлемых пороговых значений для разделения злокачественных и доброкачественных опухолей, а также для дифференциальной диагностики опухолевой и неопухолевой патологии кишечника не найдено. В группе здорового контроля уровень зонулина у женщин статистически значимо ниже, чем у мужчин ($p < 0,001$). Установлено, что уровень маркера повышается с увеличением стадии заболевания с 51,8 нг/мл при I стадии до 58,1 нг/мл — при IV ($p < 0,01$ по критерию Каскела-Уоллиса). Статистически значимых взаимосвязей с отдельными показателями системы TNM, локализацией, гистологическим строением и степенью злокачественности опухоли не обнаружено. У пациентов с опухолевыми и неопухолевыми заболеваниями кишечника отличий в уровне маркера не найдено.

Закключение. Таким образом, уровень зонулина в сыворотке крови больных КРР значимо выше, чем у здоровых доноров и пациентов с неопухолевыми заболеваниями кишечника и возрастает с увеличением стадии заболевания. Значительное увеличение уровня зонулина в сыворотке крови обнаружено и при доброкачественных аденомах толстой кишки. На основании этих данных можно предположить, что вызываемое зонулином нарушение TJ и последующие, в том числе и иммунологические, изменения играют определенную роль в патогенезе этих опухолей. К сожалению, невысокая диагностическая чувствительность и низкая специфичность относительно доброкачественных опухолей толстой кишки и неопухолевых воспалительных заболеваний кишечника не позволяет рассматривать этот белок в качестве диагностического маркера КРР, однако он заслуживает дальнейшего изучения в качестве прогностического показателя, а возможно и мишени для анти-зонулин-направленной терапии.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НУКЛЕОПРОТЕИновых КОМПЛЕКСОВ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

COMPARATIVE PROTEOMIC ANALYSIS OF CIRCULATION BLOOD NUCLEOPROTEIN COMPLEXES IN HEALTHY WOMEN AND PATIENTS WITH BREAST CANCER

Тамкович С.Н.¹, Тутанов О.С.¹, Центалович Ю.П.²

¹ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт «Международный Томографический Центр» Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Tamkovich S.N.¹, Tutanov O.S.¹, Tsentalovich Y.P.²

¹ Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia

² Institute «International Tomographic Center» Novosibirsk, Russia

e-mail: s.tamkovich@g.nsu.ru

Аннотация. Выделены и охарактеризованы нуклеопротеиновые комплексы из плазмы крови здоровых женщин и больных раком молочной железы на начальных стадиях заболевания. Методом масс-спектрометрии идентифицированы белки, опосредующие транспорт внеклеточной ДНК. В составе НПК крови больных РМЖ выявлено 129 уникальных белков, из которых 53 (41%) являются опухоле-ассоциированными, что указывает на то, что часть циркулирующей ДНК имеет опухолевое происхождение.

Ключевые слова: внеклеточная ДНК, нуклеопротеиновые комплексы, масс-спектрометрия

Abstract. Nucleoprotein complexes were isolated and characterized from the blood plasma of healthy women and patients with breast cancer at the initial

stages of the disease. Proteins mediating the transport of extracellular DNA have been identified by mass spectrometry. 129 unique proteins were found in the blood NPC of patients with breast cancer, of which 53 (41%) are tumor-associated, which indicates that part of the circulating DNA is of tumor origin.

Keywords: extracellular DNA, nucleoprotein complexes, mass spectrometry

Введение. Одним из перспективных направлений разработки неинвазивных методов диагностики онкологических заболеваний является анализ циркулирующей в крови внеклеточной ДНК (внДНК). Форма циркуляции и биологические функции внДНК до сих пор остаются малоизученными. Показано, что в крови онкологических больных часть внДНК имеет опухолевое происхождение, а в ряде исследований показано ее участие в развитии метастазирования. Нуклеопротеиновые комплексы (НПК) позволяют не только увеличить длительность циркуляции внДНК, благодаря защите внДНК от действия эндонуклеаз крови, но и обеспечить адресность доставки ДНК к клеткам-мишеням для осуществления различных биологических функций. Таким образом, не вызывает сомнений перспективность идентификации и характеристики протеома НПК крови здоровых женщин (ЗЖ) и больных раком молочной железы (РМЖ) для понимания роли данных структур в развитии рака и разработки методов обогащения опухолевой внДНК для дальнейшего использования жидкой биопсии.

Цель исследования. Разработка подхода к выделению с последующей идентификацией нуклеиновой и белковой составляющих НПК, циркулирующих в плазме крови ЗЖ и больных РМЖ на начальных стадиях заболевания.

Материалы и методы. НПК из плазмы крови женщин выделяли аффинной хроматографией на сорбентах с иммобилизованными антителами против гистонов. Концентрацию внДНК в составе НПК определяли количественной ПЦР (Line-1 и α -sattelite), размер ДНК оценивали с помощью капиллярного электрофореза (Agilent Technologies Inc., Palo Alto, CA) с использованием High Sensitivity DNA Kit. Концентрацию белка в составе НПК оценивали при помощи NanoOrange Protein Quantitation Kit (Invitrogen), белки идентифицировали методом масс-спектрометрии.

Результаты. Установлено, что у ЗЖ в составе гистон-содержащих НПК плазмы крови преобладает ДНК длиной 170–180 п. о., в то время как в НПК больных РМЖ представлены в равном количестве ДНК длиной 170–180 п. н. и более 6 тыс. п. н.

Методом MALDI-TOF-масс-спектрометрии с высокой достоверностью (score более 56) идентифицировано 182 белка и 170 белков в составе гистон-содержащих НПК, циркулирующих в крови ЗЖ и больных РМЖ, соответственно. Наиболее универсальными бел-

ками НПК плазмы крови (представлены более чем в 40% всех образцов) являются Инсулин-деградирующий фермент, Белок гомеобокса Нох-С5 и Вероятный G-белок-ассоциированный рецептор 22.

Закключение. Таким образом, в составе НПК крови больных РМЖ выявлено 129 уникальных белка, из которых 53 (41%) являются опухоле-ассоциированными, что указывает на то, что часть циркулирующей вДНК имеет опухолевое происхождение.

*Исследование выполнено при поддержке
Российского научного фонда № 22-25-00130,
<https://rscf.ru/project/22-25-00130/>
25 февраля 2022 г.*

ГЛУБОКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ КАПЕЛЬНОЙ МИКРОФЛЮИДИКИ

DEEP FUNCTIONAL PROFILING OF SINGLE CELLS WITH DROPLET MICROFLUIDICS

**Баранова М.Н., Пипия С.О., Мокрушина Ю.А.,
Габиров А.Г., Смирнов И.В., Терехов С.С.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия

**Baranova M.N., Pipiya S.O., Mokrushina Y.A.,
Gabibov A.G., Smirnov I.V., Terekhov S.S.**

Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

e-mail: sterekhoff@gmail.com

Аннотация. Разработана инновационная технология ультравысокопроизводительного скрининга индивидуальных клеток для отбора редких субпопуляций, обладающих заданным фенотипом. Технология глубокого функционального профилирования может быть использована для поиска клеток, обладающих уникальным фенотипом, а также исследования межклеточных взаимодействий.

Ключевые слова: глубокое функциональное профилирование, ультравысокопроизводительный скрининг, капельная микрофлюидика

Abstract. We have developed an innovative technology for ultrahigh-throughput single-cell screening to isolate rare subpopulations with a predefined phenotype. The technology of deep functional profiling can be used to search for cells with a unique phenotype as well as to study cell-cell interactions.

Keywords: deep functional profiling, ultrahigh-throughput single-cell screening, droplet microfluidics

Классические методы молекулярной биологии не позволяют детально исследовать функциональную активность индивидуальных клеток, что особенно актуально для минорных субпопуляций клеток. Инновационные методы, основанные на принципах инкапсуляции и последующем высокопроизводительном анализе индивидуальных биологических объектов, позволяют осуществлять глубокое фенотипическое и генотипическое профилирование биоразнообразия. Инкапсуляция индивидуальных биологических объектов не только позволяет наиболее эффективно сохранить биоразнообразие, но также является незаменимым инструментом для поиска уникальных представителей с заданной функциональностью. Ввиду своей универсальности, данная концепция была эффективно использована для глубокого функционального профилирования природного и синтетического биоразнообразия. Инкапсулируя индивидуальные клетки в каплях эмульсии, были выделены субпопуляции клеток с заданной ферментативной активностью, идентифицированы минорные поверхностные антигены, осуществлена направленная эволюция белков, исследованы межклеточные взаимодействия, проведена оценка эффективности препарата на клеточное сообщество, а также проведена реконструкция природного репертуара антител человека. Полученные результаты свидетельствуют о том, что технологические платформы, основанные на принципах инкапсуляции и ультравысокопроизводительного скрининга, позволяют перейти на новый уровень понимания функционирования живых систем.

*Исследования выполнены при поддержке гранта
РНФ 21-14-00357.*

СОДЕРЖАНИЕ VEGF В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЯМИ ЭНДОМЕТРИЯ И ЯИЧНИКОВ В СОПОСТАВЛЕНИИ С ЗДОРОВЫМ КОНТРОЛЕМ

THE CONTENT OF VEGF IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH ENDOMETRIAL AND OVARIAN TUMORS IN COMPARISON WITH HEALTHY CONTROLS

Терешкина И.В., Ермилова В.Д., Паяниди Ю.Г., Жордания К.И.

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

Tereshkina I.V., Ermilova V.D., Payanidi Yu.G., Zhordania K.I.

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

e-mail: irinadari13@gmail.com

Аннотация. Уровни VEGF исследовали до лечения в сыворотке крови у 263 больных опухолями эндометрия, у 288 больных различными типами новообразований яичников и сравнивали с таковым показателем у 190 здоровых женщин. Установлено, что медиана содержания VEGF в сыворотке крови статистически значимо выше в группе женщин с опухолями эндометрия (396; 232–489 пг/мл) по сравнению с практически здоровыми женщинами (259; 161–409 пг/мл) и не отличалась от таковой в группе пациенток с опухолями яичников (440; 188–667 пг/мл). В то же время, содержание VEGF в группах больных раком эндометрия было статистически значимо ниже, чем у больных раком яичников (392; 226–482 и 554; 391–789 пг/мл соответственно, $p < 0,0001$). При этом не выявлено статистически значимых различий в содержании VEGF у больных доброкачественными (397; 252–608 пг/мл) и злокачественными (392; 226–482 пг/мл) опухолями эндометрия. Многофакторный анализ выявил связь уровней VEGF с основными клинико-морфологическими характеристиками рака эндометрия и яичников.

Ключевые слова: рак яичников, рак эндометрия, VEGF, сыворотка крови

Abstract. VEGF levels were studied before treatment in serum in 263 patients with endometrial tumors, in 288 patients with various types of ovarian neoplasms

and compared with that in 190 healthy women. It was found that the median content of VEGF in blood serum was statistically significantly higher in the group of women with endometrial tumors (396; 232–489 pg/ml) compared with practically healthy women (259; 161–409 pg/ml) and did not differ from that in group of patients with ovarian tumors (440; 188–667 pg/ml). At the same time, the content of VEGF in the groups of patients with endometrial cancer was statistically significantly lower than in patients with ovarian cancer (392; 226–482 and 554; 391–789 pg/ml, respectively, $p < 0.0001$). At the same time, there were no statistically significant differences in the content of VEGF in patients with benign (397; 252–608 pg/ml) and malignant (392; 226–482 pg/ml) endometrial tumors. Multivariate analysis revealed an association between VEGF levels and the main clinical and morphological characteristics of endometrial and ovarian cancer.

Keywords: ovarian cancer, endometrial cancer, VEGF, blood serum

Введение. Прогресс в изучении опухолевых маркеров, затруднялся огромным биологическим разнообразием проявлений новообразований. Тем не менее, основоположники молекулярной онкологии D. Hanahan и R. Weinberg обобщили эти признаки и показали, что почти все опухоли характеризуются несколькими неотъемлемыми чертами и среди них выделили стимуляцию опухолевого процесса ангиогенными факторами, направленными на удовлетворение повышенных потребностей быстроделящихся неопластических компонентов в оксигенации.

Цель исследования. Анализ уровней ключевого активатора ангиогенеза у больных раком эндометрия и яичников фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в сыворотке крови и его связь с основными клинико-морфологическими характеристиками этих новообразований.

Материалы и методы. Исследовали уровни VEGF в сыворотке крови у 263 больных опухолями эндометрия, у 288 больных различными типами новообразований яичников и сравнивали с таковым показателем у 190 здоровых женщин. У всех обследованных больных диагноз новообразования подтвержден данными гистологического исследования опухоли.

Концентрацию VEGF определяли до лечения иммуноферментным анализом реактивами фирмы «R&D» (США). Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Концентрации всех маркеров выражали в нанogramмах на 1 мл сыворотки крови.

Результаты. Содержание VEGF в сыворотке крови женщин в общей группе больных новообразованиями яичников было статистически высокозначимо выше по сравнению с группой практически здоровых женщин (медианы 440; 188–667 пг/мл vs 252; 160–410 пг/мл). Медиана содержания VEGF в сыворотке крови больных доброкачественными (273; 163–545 пг/мл) и пограничными (286; 245–692 пг/мл) опухолями яичников не отличалась от таковой в контроле

($p = 0,3$), медиана показателя в сыворотке крови больных раком яичников (554; 391–789 пг/мл) была высокосignificantly выше, чем в контроле. Отмечена связь уровней VEGF с максимальным размером первичной опухоли, гистологическим строением и степенью дифференцировки рака яичников. В группе больных раком яичников медиана VEGF была значимо выше в постменопаузальном периоде жизни (582 пг/мл), в группе больных G2 (690 пг/мл), при метастазах в матку (705 пг/мл), незначимо выше при наличии опухолевых клеточек в смывах из брюшной полости (564 пг/мл).

Обнаружено, что медиана VEGF в сыворотке крови женщин с опухолями эндометрия была статистически значимо выше (396; 232–489 пг/мл) по сравнению с группой практически здоровых женщин (259; 161–409 пг/мл), но не отличалась значимо от таковой в группе больных опухолями яичников. Не выявлено статистически значимых различий в содержании VEGF больных доброкачественными (397; 252–608 пг/мл) и злокачественными (392; 226–482 пг/мл) опухолями эндометрия. В группе больных доброкачественными опухолями эндометрия с полипом медиана VEGF была незначимо меньше (352 пг/мл), чем при железистой (434 пг/мл) и атипической (396 пг/мл) гиперплазии. В группе больных раком эндометрия уровень VEGF был значимо больше при низкодифференцированном варианте аденокарциномы (567 пг/мл). Маркер VEGF не связан с возрастом больных опухолями эндометрия всех групп. В группе больных раком эндометрия концентрация VEGF была значимо ниже при Ia стадии (340 пг/мл). Установлено статистически значимое повышение медианы содержания VEGF в сыворотке крови больных раком эндометрия при размерах опухоли от 5,0 см и более (571 пг/мл). Содержание VEGF увеличивалось по мере увеличения глубины прорастания опухоли в миометрий и было статистически значимо выше у больных раком эндометрия с прорастанием опухолью более $\frac{1}{2}$ глубины миометрия (469 пг/мл). Содержание VEGF статистически значимо повышалось у больных с наличием метастазов в большом сальнике (673 пг/мл) и в подвздошных лимфоузлах (482 пг/мл). В группе больных раком эндометрия с локализацией опухоли в углах матки медиана VEGF была в 2 раза ниже (214 пг/мл), чем при локализации опухоли в теле матки (432 пг/мл) и соответствовала таковой в группе контроля. В группе больных раком эндометрия с локализацией опухоли во всей полости матки выявлена наибольшая медиана маркера (467 пг/мл).

Заключение. Полученные нами данные свидетельствуют о тесной связи уровней ключевого активатора ангиогенеза VEGF с основными клинико-морфологическими характеристиками рака эндометрия и яичников. Это дает основание для использования антиангиогенной лекарственной терапии в лечении этих злокачественных опухолей наряду с общепринятой стандартной химиотерапией.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА НА СЛЕПОЙ ВЫБОРКЕ

MOLECULAR DIAGNOSIS OF MALIGNANT THYROID TUMORS: TEST VALIDATION ON A BLINDED SAMPLE

Титов С.Е.^{1,2,3}, **Лукьянов С.А.**⁴, **Козорезова Е.С.**⁵, **Деменков П.С.**^{3,6},
Сергийко С.В.⁴, **Веряскина Ю.А.**^{1,6}, **Воробьев С.Л.**⁵,
Слепцов И.В.⁷, **Гостимский А.В.**⁸

¹ ФГБУН Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

² АО Вектор-Бест, Новосибирск, Россия

³ ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

⁴ ФГБОУ ВО Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия

⁵ ООО Национальный центр клинической морфологической диагностики, Санкт-Петербург, Россия

⁶ ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

⁷ Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

⁸ ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

Titov S.E.^{1,2,3}, **Lukyanov S.A.**⁴, **Kozorezova E.S.**⁵, **Demenkov P.S.**^{3,6},
Sergiyko S.V.⁴, **Veryaskina Y.A.**^{1,6}, **Vorobyev S.L.**⁵,
Sleptsov I.V.⁷, **Gostimskii A.V.**⁸

¹ Institute of Molecular and Cellular Biology, Novosibirsk, Russia

² AO Vector-Best, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁴ South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

⁵ National Center for Clinical Morphological Diagnostics, Saint Petersburg, Russia

⁶ Institute of Cytology and Genetics, Novosibirsk, Russia

⁷ Saint-Petersburg State University, Clinic of high medical technologies named after Pirogov NI, Saint Petersburg, Russia

⁸ Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

e-mail: titovse78@gmail.com

Аннотация. В настоящей работе показано, что алгоритм молекулярной диагностики, включающий определение экспрессии микроРНК-375, -221, -146b, -551b, -31, мРНК (HMGA2 и GCM2), мутации V600E в гене BRAF и соотношение митохондриальной и ядерной ДНК, позволяет с высокой точностью выявлять неоплазии паращитовидной железы (чувствительность – 100%; специфичность – 100%), папиллярный (90.8%; 98.4%) и медуллярный (100%, 100%) рак щитовидной железы, а с меньшей точностью — гюртлеклеточный (60%; 98.1%) и фолликулярный (50%; 95.6%) рак.

Ключевые слова: рак щитовидной железы, дооперационная диагностика, молекулярные маркеры, HMGA2, микроРНК, митохондриальная ДНК

Abstract. In the present study, it is shown that the algorithm of molecular diagnostics, including the determination of the expression of microRNA-375, -221, -146b, -551b, -31, mRNA (HMGA2 and GCM2), BRAF V600E mutation, and the ratio of mitochondrial and nuclear DNA, allows to detect with high accuracy parathyroid neoplasia (sensitivity – 100%; specificity – 100%), papillary (90.8%; 98.4%) and medullary (100%, 100%) thyroid cancer, and with less accuracy – Hurtle cell cancer (60%; 98.1%) and follicular thyroid cancer (50%; 95.6%).

Keywords: Thyroid carcinoma, preoperative diagnosis, molecular markers, HMGA2, microRNA, mitochondrial DNA

Введение. Рак щитовидной железы (РЩЖ) является самым распространенным заболеванием эндокринной системы и имеет тенденцию к увеличению во всех странах мира. Основным методом дооперационной диагностики узлов ЩЖ является тонкоигольная аспирационная пункционная биопсия (ТАПБ) под контролем УЗИ с последующим цитологическим исследованием полученного аспирата. До 30% цитологических репортов оказываются неопределенными с онкологических позиций, поскольку цитологических признаков недостаточно для разделения доброкачественных и злокачественных опухолей щитовидной железы.

В течение последнего десятилетия для большинства цитологически неопределенных узлов щитовидной железы (группы Bethesda III, IV, V) обычной практикой было хирургическое вмешательство. Поэтому основной целью молекулярного тестирования на дооперационном этапе является выявление пациентов, которые могут избежать хирургических операций.

В недавней работе нами был предложен вариант диагностического теста, позволяющего повысить точность выявления злокачественных опухолей ЩЖ с помощью анализа ряда молекулярных маркеров в материале цитологических образцов.

Цель исследования. Определение диагностических характеристик предложенного алгоритма на материале цитологических образцов в рамках ретроспективного слепого многоцентрового исследования.

Материалы и методы. В исследовании использовались цитологические препараты ТАПБ пациентов из трех медицинских учреждений: Южно-Уральского Государственного Медицинского Университета (г. Челябинск), Санкт-Петербургского Государственного Педиатрического Университета (г. Санкт-Петербург) и Клиники Высоких Медицинских Технологий им. Н. И. Пирогова Санкт-Петербургского Государственного Университета (г. Санкт-Петербург). Ретроспективный цитологический и гистологический материал направлялся в центр ослепления (Клиника Высоких Медицинских Технологий им. Н. И. Пирогова Санкт-Петербургского Государственного Университета), где каждому случаю присваивался уникальный номер, а прежняя информация со стекол удалялась.

В работе было использовано 329 цитологических образцов, по типам патологических процессов распределение было следующее: доброкачественный узел — 32 случая, фолликулярная аденома — 125, Гюртлеклеточная аденома — 60, фолликулярный рак (ФР) — 9, Гюртлеклеточный рак (ГКР) — 10, папиллярный рак (ПР) — 76, медулярный рак (МР) — 10, неоплазии паращитовидной железы — 5, низкодифференцированная карцинома — 1, анапластическая карцинома — 1.

Все образцы были проанализированы с помощью ПЦР в реальном времени на содержание нескольких молекулярных маркеров: мутация BRAF V600E, относительного количества мРНК *HMGA2* и *GCM2*, микроРНК-375, -221, -146b, -551b, -31 и соотношения митохондриальной / ядерной ДНК.

Результаты. Триста двадцать девять образцов было проанализировано с помощью молекулярного теста, из них 5 относились к опухолям паращитовидной железы. Образцы классифицировали как паращитовидную железу на основании анализа экспрессии гена *GCM2*. В данной работе точность определения опухолей паращитовидной железы оказалась 100%.

Стратификация образцов ЩЖ с помощью молекулярного теста показала, что правильно были определены: 10 из 10 образцов МР (100%); 69 из 76 образцов ПР (90.7%), как рак — 72 образца (94.7%); 6 из 10 образцов ГКР (60%); 4 из 9 образцов ФР (44.4%) как рак — 5 образцов (55.5%); 32 из 32 образцов доброкачественных узлов (100%); 112 из 125 образцов фолликулярной аденомы (88.3%) и 53 из 60 образцов Гюртлеклеточной аденомы (89.6%).

Получившиеся диагностические характеристики для выявления рака и разных типов злокачественных опухолей ЩЖ приведены в табл. 3.

**Диагностические характеристики выявления различных типов РЩЖ
(включая ДИ 95%)**

	Рак, n=107	МР, n=10	ПР, n=76	ФР, n=9	ГКР, n=10
Специфичность, %	90.8 (86.1–94.3)	100.0 (98.8–100.0)	98.4 (95.9–99.5)	95.6 (92.7–97.5)	98.1 (95.9–99.3)
Чувствительность, %	86.9 (79.0–92.7)	100.0 (69.1–100.0)	90.8 (81.9–96.2)	50.0 (15.7–84.3)	60.0 (26.2–87.8)
Точность, %	89.5 (85.6–92.6)	100.0 (98.9–100.0)	96.6 (94.0–98.3)	94.4 (91.4–96.7)	96.9 (94.4–98.5)
ПЦПР, %	82.3 (75.3–87.7)	100.0	94.5 (86.7–97.9)	22.2 (10.8–40.3)	50.0 (28.1–71.9)
ПЦОР, %	93.4 (89.6–95.8)	100.0	97.2 (94.5–98.6%)	98.7 (97.4–99.3)	98.7 (97.3–99.4)

ПЦПР – предсказательная ценность положительного результата; ПЦОР – предсказательная ценность отрицательного результата.

Что касается пациентов с неопределенной цитологией (с цитологическими заключениями Bethesda IV или Bethesda V), то диагностические характеристики молекулярного классификатора при выявлении рака среди получились (включая 95% доверительный интервал): специфичность — 90% (85–93.8%), чувствительность — 71.9% (53.2–86.2%), ПЦПР — 53.5% (41.8–64.8%) и ПЦОР — 95.2% (92–97.2%).

Заключение. Оценивая полученные результаты, можно констатировать, что 200 из 232 пациентов с цитологическим заключением Bethesda IV или Bethesda V, включенных в наше исследование, по данным гистологического анализа не требовали хирургического лечения. Из этих 200 образцов 180 (77.6% от всех пациентов с неопределенной цитологией) наш алгоритм определил как доброкачественные, т. е. они могли бы избежать ненужной операции. В то же время молекулярный тест не выявил имеющийся по гистологическому заключению рак в 9 (3.9%) образцах: это 4 ГКР, 1 низкодифференцированная карцинома и 4 высокодифференцированных малоинвазивных фолликулярных раков. Такая частота соответствует количеству пропусков рака ЩЖ среди узлов с цитологическим заключением Bethesda II.

Таким образом, в данной работе мы продемонстрировали, что диагностическая панель, включающая анализ экспрессии мРНК, мРНК, мутацию V600E в гене BRAF и соотношение митохондриальной и ядерной ДНК позволяет с высокой точностью выявлять опухоли парашитовидной железы и такие опухоли щитовидной железы, как ПР, МР, и, с меньшей точностью, ГКР и ФР. Для повышения ПЦОР теста требуются дополнительные маркеры для ФР, ГКР и низко- /недифференцированных опухолей.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА ПРОТИВ МАННАНА CANDIDA ALBICANS В СЫВОРОТКАХ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

INVESTIGATION OF THE ANTIBODY RESPONSE AGAINST CANDIDA ALBICANS MANNAN IN THE BLOOD SERA OF HEALTHY DONORS

*Царапаев П.В.¹, Соловьев А.С.², Крылов В.Б.²,
Яшунский Д.В.², Кушлинский Н.Е.¹, Нифантьев Н.Э.²*

¹ ФГБУ НИИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России, Российская Федерация, Москва, Россия

² Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук, Российская Федерация, Москва, Россия

*Tsarapaev P.V.¹, Solovlev A.S.², Krylov V.B.²,
Yashunsky D.V.², Kushlinskii N.E.¹, Nifantiev N.E.²*

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

² Laboratory of Glycoconjugate Chemistry, N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Аннотация. С использованием библиотеки синтетических олигоманнозидов был исследован анти-маннанный антителный ответ у здоровых доноров. Мы обнаружили высокий уровень антител против антигенов содержащих β -маннозные остатки, при этом для антигенов, содержащих только α -маннозные остатки, значимого уровня антител не наблюдалось.

Ключевые слова: α -маннан, β -маннан, антитела, IgG, IgM, нормальная человеческая сыворотка, грибы, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*

Abstract. Using a library of synthetic oligomannosides, the anti-mannan antibody response was studied in healthy donors. We found a high level of antibodies against antigens which contained β -mannose residues, while for antigens containing only α -mannose residues no significant level of antibodies was observed.

Keywords: α -mannan, β -mannan, antibodies, IgG, normal human serum, fungi, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*

Введение. Маннан — полисахаридный антиген, входящий в состав клеточной стенки различных грибов, в том числе наиболее распространенного возбудителя тяжелых грибковых инфекций человека *Candida albicans*. Определение уровня анти-маннанных антител используется в медицинской диагностике кандидозов, а также иных заболеваний, в частности, болезни Крона (так называемый «ASCA-тест», выявляющий антитела к маннану *Saccharomyces cerevisiae* и применяемый при дифференциальной диагностике болезни Крона и неспецифического язвенного колита). Работы по разработке новых диагностикумов, основанных на определении антител к манновым антигенам активно ведутся. Тем не менее, создание таких диагностических систем осложняется высокой гетерогенностью природных маннанов. Одно из решений данной проблемы заключается в выявлении конкретных эпитопов маннана, характеристических для того или иного заболевания, что может быть осуществлено с использованием синтетических олигосахаридов строго заданного строения. Кроме того, следует учитывать возможность появления антител к маннанам у здоровых людей и, как следствие, получение ложных положительных результатов диагностики.

Цель исследования. Выявление конкретных эпитопов маннана, характеристических для того или иного заболевания, что может быть осуществлено с использованием синтетических олигосахаридов строго заданного строения.

Материалы и методы. В данной работе с использованием 11 синтетических манноолигосахаридов различной структуры уровень антител классов IgG и IgM был измерен методом иммуноферментного анализа в случайной выборке из 31 сыворотки крови здоровых доноров.

Результаты. Было выяснено, что антитела в сыворотках крови здоровых доноров преимущественно распознают олигосахарид, содержащий на невосстанавливаемом конце дисахаридный фрагмент β -Man-(1 \rightarrow 2)- β -Man. Увеличение или уменьшение числа β -маннозных остатков приводит к существенному снижению связывания антител IgG с олигосахаридами, что предположительно объясняется образованием спиралевидных структур β -маннана с затрудненным доступом к основному эпитопу. Ранее мы показали, что антитело EB-SA1, которое используется для обнаружения фрагментов маннана при диагностике кандидозов, также распознает эпитоп, содержащий остаток β -маннозы, а именно, трисахарид β -Man-(1 \rightarrow 2)- α -Man-(1 \rightarrow 2)- α -Man [1].

В свою очередь, антигенные факторы *C. albicans*, содержащиеся в своей структуре только α -маннозидные остатки, практически

не показывают статистически достоверного отличия от контроля. Эти данные согласуются с тем фактом, что α -маннаны, содержащие (1 \rightarrow 2)-, (1 \rightarrow 3)- и (1 \rightarrow 6)-гликозидные связи, являются естественным паттерном гликозилирования белков человека и потому должны обладать слабой иммуногенностью.

Заключение. Таким образом, β -маннозиды проявляют более выраженные антигенные свойства по сравнению с α -маннозидами. Возможное наличие и уровень антител против β -маннана у здоровых доноров следует учитывать при разработке тест-систем для диагностики грибковых инфекций.

*Работа выполнена при финансовой поддержке
Российского научного фонда (грант 19-73-30017).*

Литература

1. Krylov V.B., Solovev F.S., Puchkin I.A., Yashunsky D.V., Antonets A.V., Kutsevalova O.Y., Nifantiev N.E. *J. Fungi*. Reinvestigation of Carbohydrate Specificity of EBCA-1 Monoclonal Antibody Used for the Detection of *Candida Mannan*. 2021, 7, 504.

УРОВНИ SPSSL-1 В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ

PSGL-1 LEVELS IN THE BLOOD PLASMA OF OVARIAN CANCER PATIENTS

**Царапаев П.В., Барышникова М.А., Короткова Е.А.,
Кушлинский Д.Н., Герштейн Е.С.**

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия.

**Tsarapaev P.V., Baryshnikova M.A.,
Korotkova E.A., Kushlinsky D.N., Gershtein E.S.**

Federal State Budgetary Institution N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia

e-mail: biochimia@yandex.ru

Аннотация. Проведен сравнительный анализ содержания растворимой формы sPSGL-1 в плазме крови здоровых доноров и больных раком яичников с учетом основных клинических и морфологических характеристик заболевания.

Ключевые слова: рак яичников, sPSGL-1, плазма крови

Abstract. A comparative analysis of the content of the soluble form of PSGL-1 in the blood plasma of healthy donors and patients with ovarian cancer was carried out, taking into account the main clinical and morphological characteristics of the disease.

Keywords: ovarian cancer, sPSGL-1, blood plasma

Введение. Рак яичников — наиболее частая причина смерти от гинекологических злокачественных новообразований. Современные исследования направлены на поиск новых биомаркеров в диагностике и выявлении терапевтических мишеней рака яичников. Одним из перспективных маркеров считают PSGL-1 — ключевой лиганд семейства селектинов, который также участвует в миграции лейкоцитов в очаг воспаления. Этот биологический маркер относится к белкам контрольных точек иммунитета. Экспериментальные исследования

показали, что полное отсутствие гена кодирующего SPSSL-1 привело к снижению роста опухоли, а также к увеличению резистентности организма к введенным опухолевым клеткам.

Цель исследования. Сравнительный анализ содержания растворимой формы sPSGL-1 в плазме крови здоровых доноров и больных раком яичников с учетом основных клинических и морфологических характеристик заболевания.

Материалы и методы. В исследование включены 64 первичных больных раком яичников в возрасте от 18 до 78 лет и 16 здоровых доноров (группа контроля) в возрасте от 18 до 77 лет. У 19 пациенток диагностирована I, у 11 — II, у 34 — III стадия рака яичников. Уровни sPSGL-1 в плазме крови определяли методом иммуноферментного анализа наборами реактивов Human PSGL-1/CD162 Elisa kit (Ray Biotech, США) и выражали в медианах.

Результаты. sPSGL-1 выявлен в плазме крови у 49/76,5% больных раком яичников и у 5/31,2% здоровых доноров, при этом, отмечена тенденция к снижению концентрации маркера в плазме крови больных раком яичников (0,42 пг/мл) по сравнению с контрольной группой (3,9 пг/мл). У большинства больных с различными гистологическими вариантами опухолей яичников уровни sPSGL-1 не различались: серозный рак яичников (1,03 пг/мл), муцинозный (0,77 пг/мл), эндометриоидный (3,42 пг/мл). При снижении степени дифференцировки опухоли отмечена тенденция к увеличению sPSGL-1 в плазме крови. Кроме того, наиболее высокие концентрации маркера выявлены при III стадии рака яичников.

Выводы. Уровни sPSGL-1 в плазме крови не отличались между больными раком яичников и здоровыми донорами, отмечена связь маркера с основными клиническими и морфологическими характеристиками заболевания.

**ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ КОНЦЕНТРАЦИИ
МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ
И ИХ ТКАНЕВЫХ ИНГИБИТОРОВ
В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ
НОВООБРАЗОВАНИЯМИ КОСТЕЙ С УЧЕТОМ
ИХ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ**

**STUDYING THE RELATIONSHIP
OF THE CONCENTRATION OF MATRIX
METALLOPROTEINASES AND THEIR TISSUE
INHIBITORS IN THE BLOOD SERUM
OF PATIENTS WITH NEOFORMATIONS
OF BONES, TAKING INTO ACCOUNT THEIR
HISTOLOGICAL STRUCTURE**

**Черномаз И.С., Булычева И.В., Герштейн Е.С.,
Сушенцов Е.А.**

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

**Chernomaz I.S., Boulitcheva I.V., Gershtein E.S.,
Sushentsov E.A.**

*Federal State Budgetary Institution N.N. Blokhin National Medical Research Center of
Oncology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia*

e-mail: marvel2602@mail.ru

Аннотация. Проведено сравнительное определение содержания матриксных металлопротеиназ (ММП-2, ММП-7, ММП-9) и их тканевых ингибиторов (ТИМП-1 и ТИМП-2) в сыворотке крови больных опухолями костей и у практически здоровых людей (контрольная группа). Выявлена взаимосвязь уровней изучаемых показателей с гистологическим строением опухолей.

Ключевые слова: опухоли костей, ММП-2, ММП-7, ММП-9, ТИМП-1, ТИМП-2

Abstract. The content of matrix metalloproteinases (MMP-2, MMP-7, MMP-9) and their tissue inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2) was determined in the blood

serum of patients with bone tumors and in practically healthy people (control group). The relationship between the levels of the studied parameters and the histological type of tumors was revealed.

Keywords: bone tumors, MMP-2, MMP-7, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2

Введение. Матричные металлопротеиназы опосредуют многие изменения в микроокружении опухоли во время ее прогрессирования, участвуют в опухолевом неоангиогенезе, способствуя развитию новых кровеносных сосудов и метастазированию. Изучение содержания матричных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в периферической крови пациентов с опухолями костей представит новую информацию об их связи с основными клинико-морфологическими характеристиками опухолей, которая может быть использована как в оценке клинического течения заболевания и его прогноза, так и в плане стратегии нео- и адьювантной терапии больных.

Цель исследования. Провести сравнительное определение содержания металлопротеиназ — ММП-2, ММП-7, ММП-9 и их тканевых ингибиторов — ТИМП-1 и ТИМП-2 в сыворотке крови больных первичными злокачественными и пограничными новообразованиями костей (до начала специфического лечения) для выявления возможной их взаимосвязи с гистологическим строением опухоли.

Материалы и методы. Среди обследованных больных злокачественные опухоли костей выявлены в 108 наблюдениях и среди них: остеосаркома (ОС) — 58 (45,3%), хондросаркома (ХС) — 29 (22,7%), саркома Юинга (СЮ) — 15 (11,7%), хордома — 3 (2,3%), недифференцированная плеоморфная саркома (НПС) кости — 3 (2,3%); пограничная ГКО кости выявлена у 20 больных. Группу контроля составили 90 здоровых доноров. Исследования ММП-2, ММП-7, ММП-9, ТИМП-1, ТИМП-2 проведены иммуноферментным методом с помощью реактивов фирмы «R&D» (США).

Результаты. Получены значимые различия в содержании ММП-2 между больными СЮ и ХС. Наибольшие концентрации маркера выявлены у больных хордомой кости. При этом частота сниженных относительно контроля значений ММП-2 равнялась 0% в группе больных хордомой, 27,6% — при ХС, 51,7% — при ОС, 55% — при ГКО, 66,7% — при НПС кости и была наибольшей у больных СЮ (73,3%) ($p=0,028$). Наименьшие значения медианы ММП-9 выявлены при СЮ, а наибольшие — при ХС, при этом медиана содержания фермента не отличалась от таковой в контроле. В малочисленной группе больных хордомой также выявлены значения белка, сопоставимые с таковыми у здоровых людей. У больных СЮ установлены наиболее отличные от контроля — низкие значения ММП-9 ($p=0,0003$). Наименьшие уровни ММП-7 обнаружены при саркоме Юинга, а наибольшие — при ГКО.

Установлены значимые различия содержания ТИМП-1 в группах больных опухолями костей различного гистологического строения. Так, наибольшие значения маркера выявлены у больных СЮ, ОС и ГКО, которые значимо отличались от контроля. Концентрация ТИМП-1 была достоверно выше при СЮ по сравнению с ОС ($p=0,013$), а при ОС значимо выше, чем при ХС ($p=0,003$). Следует отметить, что при ГКО значения ТИМП-1 были не достоверно выше, чем при ХС ($p=0,07$). Частота выявления значений ТИМП-1 выше показателей контрольной группы составила 45,0% у больных ГКО (9 из 20), 44,8% — в группе больных ОС (26 из 58), была наибольшей у больных СЮ — 60,0% (9 из 15) и низкой — у больных ХС — 13,8% (4 из 29). Показатели ТИМП-2 во всех выделенных группах больных значимо отличались от показателей контрольной группы, наибольшие значения маркера выявлены у больных СЮ.

Заключение. Подводя итог настоящего исследования, можно отметить, что у больных опухолями костей выявлена взаимосвязь между уровнями ММП и ТИМП и гистологическим строением новообразований, которая была разной для каждого из изучаемых типов ММП и ТИМП.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ ТИПИРОВАНИЕ МЕЛАНОМ РАДУЖНОЙ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗА

MOLECULAR TYPING OF IRIS MELANOMAS

**Чудакова Л.В.¹, Яровая В.А.², Яровой А.А.²,
Зарецкий А.Р.¹**

¹ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва;

²ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, Москва, Россия

**Chudakova L.V.¹, Yarovaya V.A.², Yarovoy A.A.²,
Zaretsky A.R.¹**

¹N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

²S.N. Fedorov National Medical Research Center «MNTK «Eye Microsurgery»», Moscow, Russia

e-mail: chudakovalv@gmail.com

Аннотация. Проанализировали 16 образцов меланомы радужной оболочки глаза на основные мутации, характерные для меланом эпидермального и не-эпидермального типа, с целью уточнения типовой принадлежности опухолей данной локализации.

Ключевые слова: меланома глаза, радужная оболочка, типы меланомы, молекулярное тестирование, ПЦР, секвенирование по Сэнгеру

Abstract. In attempt to define the place of iris tumors in melanoma molecular classification we have tested 16 iris melanoma samples for all main mutations typical for epidermal and non-epidermal melanomas.

Keywords: eye melanoma, iris, melanoma types, molecular testing, PCR, Sanger sequencing

Введение. Меланомы глаза — гетерогенная группа заболеваний, включающая опухоли как эпидермального (классы I—III по классификации ВОЗ 2018 г.), так и неэпидермального типа (классы VIII—IX). Показано, что меланомы века представлены практически исключительно эпидермальными опухолями, а меланомы хориоидеи — неэпидермальными. В отношении типовой принадлежности меланом других внутриглазных локализаций — конъюнктивы, радуж-

ной оболочки, цилиарного тела и орбиты — в литературе высказывались различные, противоречащие друг другу утверждения. Целью настоящего исследования было уточнение типовой принадлежности меланом радужной оболочки глаза (МР) путем типирования основных молекулярных нарушений, характерных для эпидермальных и неэпидермальных меланом.

Материалы и методы. В исследование были включены 16 образцов парафиновых блоков с фиксированной формалином опухолевой тканью от 16 пациентов, проходивших хирургическое лечение по поводу МР. Преаналитические процедуры — морфологический контроль материала, макродиссекцию, выделение ДНК и контроль ее концентрации и качества — проводили по стандартным протоколам. Поиск драйверных мутаций в «горячих точках» генов *BRAF* (экзон 15, район кодонов 600–601), *NRAS* (экзон 3, район кодона 61), *GNAQ* (экзон 5, район кодона 209) и *GNAI1* (экзон 5, район кодона 209) проводили методом мутационно-специфической ПЦР-РВ. Поиск меланом-специфических мутаций в «горячих точках» генов *TERT* (промоторная область, район позиций с.-146 — с.-124), *EIF1AX* (экзон 1 и начало экзона 2) и *SF3B1* (экзон 14, район кодона 625) проводили методом ПЦР с последующим секвенированием продуктов ПЦР по Сэнгеру.

Результаты. По результатам преаналитических процедур все 16 образцов были признаны удовлетворяющими критериям для достоверного генетического тестирования. Мутации, характерные для неэпидермальных меланом, были обнаружены в 10 образцах из 16 (в том числе *GNAQ* — 3 образца, *GNAI1* — 6 образцов, *EIF1AX* — 4 образца), тогда как мутации в «горячих точках» генов *BRAF*, *NRAS* и *TERT*, характерные для эпидермальных меланом, не были обнаружены ни в одном случае.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют, что МР по мутационному профилю сходны с меланомами неэпидермального типа. Образцы, в которых не было обнаружено ни одной мутации (6 из 16), требуют дополнительного тестирования на «редкие» мутации в исследованных генах; это тестирование проводится нами в настоящее время, его результаты будут представлены в докладе. Также в докладе будут представлены результаты анализа нарушений копийности прогностически значимых регионов хромосом 1, 3, 6 и 8 в образцах МР.

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПОДТИПОВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

IMMUNOPHENOTYPICAL FEATURES OF MOLECULAR SUBTYPES OF BREAST CANCER

**Чулкова С.В.^{1,2}, Шолохова Е.Н.¹, Поддубная И.В.³,
Тулицын Н.Н.¹**

¹ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Москва, Россия

² ФГАОУ ВО РНИМУ им. И.И. Пирогова Минздрава России; Москва, Россия

³ ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия

**Chulkova S.V.^{1,2}, Sholokhova E.N.¹, Poddubnaya I.V.³,
Tupitsyn N.N.¹**

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

² Pirogov Russian National Research Medical University Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

³ FSBEI DPO RMANPO, Ministry of Health of Russia (FSBEI DPO RMANPO, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia)

e-mail: chulkova@mail.ru

Аннотация. Современная стратегия лечения рака включает применение иммунотропных препаратов, при этом важное значение уделяется иммунологическим маркерам опухоли. Особый вклад вносит изучение иммунофенотипических характеристик рака молочной железы в зависимости от его биологического подтипа. В работе изучена экспрессия молекул HLA-I, HLA-II, CD71, MUC1,0 Pgp170 клетками рака молочной железы, оценена их связь с молекулярно-биологическим подтипом опухоли. Установлено, что люминальный рак молочной железы характеризовался прогностически неблагоприятными иммунофенотипическими признаками.

Ключевые слова: рак молочной железы, иммунофенотипирование, иммунофлюоресценция, HLA-I, HLA-DR, MUC1, CD71, Pgp 170, криостатные срезы

Abstract. The modern strategy for cancer treatment includes the immunotropic drugs. Importance is given to immunological markers of the tumor. A special

contribution is made by the study of the breast cancer immunophenotype depending on molecular biological subtype. This work the expression of HLA-I, HLA-II, CD71, MUC1,0 Pgp170 molecules by breast cancer cells was studied, their relationship with the molecular biological subtype of the tumor was assessed. It was established that luminal breast cancer was characterized by prognostically unfavorable immunophenotypic features.

Keywords: breast cancer, immunophenotyping, HLA-I, HLA-DR, MUC1, CD71, Pgp 170, immunofluorescence, cryostat sections

Введение. Современная стратегия лечения рака включает применение иммунотропных препаратов, при этом важное значение уделяется иммунологическим маркерам опухоли. Известно, что они могут быть полезны в предсказании эффективности лечения. В этой связи изучение иммунофенотипа опухоли становится одним из ведущих научных направлений. Существенную значимость представляет изучение иммунофенотипических характеристик рака молочной железы в зависимости от его биологического подтипа.

Цель исследования. Оценить частоту экспрессии молекул HLA-I, HLA-II, CD71, MUC1,0 Pgp170 клетками рака молочной железы и определить их взаимосвязь с молекулярно-биологическим подтипом опухоли.

Материалы и методы. Изучены образцы опухолей 120 больных раком молочной железы, которые получали лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина» МЗ РФ. В исследовании рака молочной железы люминального подтипа составил 58,3% (n = 70), нелюминального — в 41,7% (n = 50). II и III стадии опухоли преобладали: 56,7% и 33,4% соответственно. Опухоли преимущественно были умеренно дифференцированными (G2). Иммунофенотипирование первичной опухоли выполнено на криостатных срезах методом иммунофлуоресцентного окрашивания. Использованы немеченные антитела HLA-I, HLA-II, CD71, MUC1,0 Pgp170, ФИТЦ-меченные F(ab)2 — фрагменты антисыворотки. Оценка реакции проводилась с помощью люминисцентного микроскопа ZEISS (AXIOSKOP; Германия) полуколичественным методом. Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета IBM-SPSS Statistics v.21. Осуществляли анализ корреляций по Пирсону или Спирмену, подсчет распределения частот по категориям с непрерывными и дискретными переменными (критерий Фишера и χ^2 по Пирсону). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Молекулы HLA-I, HLA-II на клетках рака молочной железы отсутствовали в 89,6% образцов. Мономорфная экспрессия отмечена в 23,4% случаев. HLA-II класса чаще экспрессированы при люминальном подтипе. Мозаичный и мономорфный типы реакции наблюдались в 30,5% (20/65) случаев, при нелюминальном — 20,0%

(10/47) случаев. Трансферриновый рецептор экспрессировался при люминальном подтипе чаще, чем при нелюминальном: 85,9% (n = 5) и 65,2% (n = 30), $p = 0,011$. Клетки люминального рака молочной железы экспрессируют рецепторы трансферрина преимущественно мономорфно: 75,4% (n = 49) против 43,5% (n = 20) при нелюминальном подтипе, $p = 0,003$. MUC1 экспрессировался мономорфно: при люминальном раке частота экспрессии выше: 83,3% (n = 35) против 65% (n = 26) при нелюминальном подтипе. Мономорфная экспрессия Pgp70 при люминальном раке молочной железы отмечена чаще.

Заключение. При люминальном подтипе чаще наблюдается экспрессия CD71, преимущественно мономорфная. При нелюминальном подтипе экспрессия Pgp 170 наблюдается реже. Экспрессия молекул HLA-I и II класса достоверно не различалась. Таким образом, люминальный рак молочной железы характеризуется прогностически неблагоприятными иммунофенотипическими признаками.

АНАЛИЗ ПРОТЕОМА ЭКЗОСОМ, СЕКРЕТИРУЕМЫХ КЛЕТКАМИ ГЛИОБЛАСТОМЫ, ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ БИОМАРКЕРОВ ЗАБОЛЕВАНИЯ

ANALYSIS OF PROTEOME OF EXOSOMES SECRETED BY GLIOBLASTOMA CELLS TO DETECT DISEASE BIOMARKERS

Штам Т.А.^{1,3}, Волницкий А.В.^{1,3}, Гараева Л.А.^{1,3}, Камышинский Р.А.³, Копылов А.Т.², Зорина Е.С.², Байрамуков В.Ю.¹, Спицына А.С.¹, Шлихт А.⁴, Нарыжный С.Н.^{1,2}

¹ ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

² ФГБУ «Научно-исследовательский Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича», Москва, Россия

³ НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

⁴ Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

Shtam T.A.^{1,3}, Volnitskiy A.V.^{1,3}, Garaeva L.A.², Kamyshinsky R.A.³, Kopylov A.T.², Zorina E.C.², Bairamukov V.¹, Spycina A.C.¹, Shlikht A.⁴, Naryzhny S.N.^{1,2}

¹ Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute», Gatchina, Russia

² V.N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

³ National Research Center «Kurchatov Institute», Moscow, Russia

⁴ Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

e-mail: shtam_ta@npni.nrcki.ru

Аннотация. Определение молекулярного состава опухолевых экзосом может привести к разработке новых, неинвазивных способов диагностики злокачественных глиом, основанных на выявлении специфических онкомаркеров в периферической крови. В данной работе исследуя белковый состав (протеом) экзосом, секретлируемых клетками глиом в модельной системе клеточной культуры были выявлены несколько белков, которые экспрессируются в повышенных количествах в глиомных клетках – продуцентах экзосом. Таким

образом, предложена панель из 11 белков, потенциально являющихся маркерами глиобластомы.

Ключевые слова: глиобластома, экзосомы, биомаркеры

Abstract. Determination of the molecular composition of tumor exosomes can lead to the development of new, non-invasive methods for diagnosing malignant gliomas based on the detection of specific tumor markers in peripheral blood. In this work, while studying the protein composition (proteome) of exosomes secreted by glioma cells in a model cell culture system, several proteins were identified that are expressed in increased amounts in glioma cells that produce exosomes. Thus, a panel of 11 proteins that are potentially markers of glioblastoma has been proposed.

Keywords: glioblastoma, exosomes, biomarkers

Введение. Экзосомы — это мембранные везикулы (30–150-нм), секретируемые клетками и выполняющие роль системы межклеточного транспорта веществ и информации. Экзосомы участвуют в основных процессах развития злокачественных глиом, включая злокачественную трансформацию, манипуляцию иммунным ответом, ангиогенез и инвазию. Секретированные глиомами экзосомы могут пересекать гематоэнцефалический барьер и попадать в периферический кровоток. Таким образом, определение молекулярного состава опухолевых экзосом может привести к разработке новых, неинвазивных способов диагностики злокачественных глиом, основанных на выявлении специфических онкомаркеров в периферической крови.

Цель исследования. Анализ внеклеточных везикул, выделенных из кондиционированной среды 5-ти линий глиобластом.

Материалы и методы. С помощью масс-спектрометрии высокого разрешения мы провели протеомный анализ внеклеточных везикул, выделенных из кондиционированной среды 5-ти линий глиобластом. Везикулы были выделены методом ультрацентрифугирования и охарактеризованы по размеру, количеству и морфологии с помощью динамического светорассеяния, анализа траектории наночастиц, атомно-силовой и криоэлектронной микроскопии. Соответствие выявленных параметров критериям ISEV и наличие специфических поверхностных маркеров CD9 и CD81 позволило идентифицировать эти везикулы, как экзосомы.

Анализ данных масс-спектрометрии выявил 133 белка, содержащихся в экзосомах всех 5 линий глиом. Соотнося каждый белок с его основной функцией, были выявлены целые группы белков, которые связаны как с процессами, происходящими в опухолевых клетках, так и с возможными функциями секретируемых ими экзосом. Так, особое место занимает группа белков, регулирующих межклеточные контакты (адгезию). Эти белки могут влиять на микроокружение опухолевых клеток, способствуя таким паталогическим

процессам как инвазия, ангиогенез и манипулирование иммунным ответом. Некоторые из них, например, Appexin A2 (ANXA2), CD44 и Tenascin-C (TNC), могут рассматриваться, как перспективные онкомаркеры, так как наличие их в крови коррелирует со степенью злокачественности опухоли.

Заключение. В данной работе, исследуя белковый состав (протеом) экзосом, секретируемых клетками глиом в модельной системе клеточной культуры, выявлены несколько белков, которые экспрессируются в повышенных количествах в глиомных клетках — продуцентах экзосом. Таким образом, предложена панель из 11 белков (KPYM, ANXA1, TPIS, VIME, ANXA2, TERA, ENOA, PRDX1, G3P, HS90B, 1433E), потенциально являющихся маркерами глиобластомы.

*Работа выполнена при поддержке РФФ
(грант № 19-74-20146).*

ОСОБЕННОСТИ ФРАГМЕНТИРОВАНИЯ СЦДНК В РЕГИОНАХ ОТКРЫТОГО ХРОМАТИНА КАК ОПУХОЛЕВЫЙ МАРКЕР

CFDNA FRAGMENTATION FEATURES IN OPEN- CHROMATIN REGIONS AS CANCER MARKERS

*Щербо Д.С.¹, Коваль А.П.¹, Алферов А.А.², Житнюк Ю.В.¹,
Кушлинский Н.Е.², Чудаков Д.М.¹*

¹ ФГАОУ ВО РНИМУ им Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

*Shcherbo D.S.¹, Koval A.P.¹, Alferov A.A.², Zhitnyuk Yu.V.¹,
Kushlinskii N.E.², Chudakov D.M.¹*

¹ Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

² Federal State Budgetary Institution N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

e-mail: dshcherbo@gmail.com

Аннотация. Наличие в плазме крови пациентов с онкологическими заболеваниями фрагментов ДНК опухолевого происхождения делает возможным неинвазивный анализ опухолевых геномов. При этом также может быть получена информация об эпигенетических изменениях. В частности, показано, что фрагментирование сцДНК носит неслучайный характер и отражает изменения в структуре хроматина. Мы исследовали особенности фрагментирования сцДНК в опухолевоспецифичных регионах открытого хроматина и показали возможность их применения в качестве опухолевых маркеров при колоректальном раке и раке почки.

Ключевые слова: сцДНК, жидкостная биопсия, фрагментомика

Abstract. The presence of tumor-derived DNA fragments in the blood plasma of cancer patients enables non-invasive analysis of tumor genomes. Furthermore, it can also provide information on epigenetic changes. It has been shown that cfDNA fragmentation is nonrandom and reflects changes in the chromatin structure. We analyzed the cfDNA fragmentation features in tumor-specific open chromatin regions and showed the possibility of their use as tumor markers in colorectal and renal cancers.

Keywords: cfDNA, liquid biopsy, fragmentomics

Введение. Свободно циркулирующая внеклеточная ДНК (сцДНК) плазмы крови служит важным источником информации о процессах, протекающих в организме. В частности, фракция сцДНК опухолевого происхождения у пациентов с онкологическими заболеваниями несет в себе признаки, специфичные для опухоли. Наряду с соматическими мутациями, в качестве опухолевых маркеров в последние годы широко изучаются особенности фрагментирования сцДНК, так как они отражают изменения в структуре хроматина в опухолевых клетках. Данные свидетельствуют о том, что степень фрагментирования сцДНК выше в межнуклеосомных линкерах и функционально активных участках открытого хроматина.

Цель исследования. Изучение диагностического потенциала особенностей фрагментирования сцДНК в опухоль-специфичных регионах открытого хроматина у больных раком почки и колоректальным раком.

Материалы и методы. Для направленного исследования концов фрагментов сцДНК мы разработали протокол cfDNA-FEP, основанный на якорной мультиплексной ПЦР и высокопроизводительном секвенировании. Мы подготовили панель, включающую 96 регионов открытого хроматина, специфичных для аденокарциномы кишки и светлоклеточного рака почки по данным TCGA. Выборка для исследования включала 175 человек: 58 с подтвержденным колоректальным раком, 57 с почечно-клеточным раком и 60 без признаков онкопатологии. Данные о распределениях координат концов фрагментов сцДНК в целевых регионах и их нуклеотидных последовательностях использовались в качестве предикторов при классификации методом опорных векторов (пакет R kernlab v 0.9–29). Для классификации выборка была разделена на обучающую ($n = 119$) и тестовую ($n = 52$) части. Анализ данных осуществлялся в R.

Результаты. Разработанный метод cfDNA-FEP показал способность различать образцы сцДНК от пациентов колоректальной аденокарциномой или светлоклеточным почечно-клеточным раком и здоровых доноров со значением площади под ROC-кривой (AUC) равном 0,91 ($sd = 0,09$) на обучающей части выборки и 0,94 на тестовом наборе данных. Для I и II стадий заболевания значение AUC составило 0,91, что сопоставимо со значением для III и IV стадий, равном 0,96.

Заключение. Использование новых классов маркеров способно расширить возможности методов «жидкостной биопсии» для определения опухолевого присутствия. Фрагментомика сцДНК в последние годы демонстрирует значительный диагностический потенциал, что подтверждает наше исследование. Разработанный метод основан на направленном исследовании особенностей фрагментирования сцДНК в определенных регионах генома и предъявляет меньшие требования к объему секвенирования по сравнению с полногеномным подходом.

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Абрикосова В.А., Мокрушина Ю.А., Царапаев П.В., Кузьмин Ю.Б., Терехов С.С., Смирнов И.В., Кушлинский Н.Е., Габиров А.Г.</i> АНАЛИЗ РЕПЕРТУАРОВ ОПУХОЛЬ-ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ В-ЛИМФОЦИТОВ.....	3
<i>Алферов А.А., Козлова Е.В., Булычева И.В., Вашкетова О.И., Сушенцов Е.А.</i> ОЦЕНКА УРОВНЕЙ SPD-1, SPD-L1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ КОСТЕЙ И В ГРУППЕ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ С УЧЕТОМ ВОЗРАСТА И ПОЛА.....	5
<i>Бабкина И.В., Кушлинский Д.Н., Ермилова В.Д., Адамян Л.В.</i> КОМПОНЕНТЫ СИСТЕМЫ VEGF/VEGFR ПРИ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ЯИЧНИКОВ.....	8
<i>Базарный В.В., Копенкин М.А.</i> КЛИНИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ РУТИННЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ ТЕСТОВ В ДИАГНОСТИКЕ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПЕРИКАРДИТА.....	11
<i>Бидерман Б.В., Северина Н.А., Королева Д.А., Габеева Н.Г., Беляева А.В., Татарникова С.А., Бабаева Ф.Э., Нестерова Е.С., Мангасарова Я.К., Марголин О.В., Багова М.О., Магомедова А.У., Кравченко С.К., Обухова Т.Н., Звонков Е.Е., Сударииков А.Б.</i> РАЗНООБРАЗИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ TP53 У БОЛЬНЫХ В-КЛЕТОЧНЫМИ ЛИМФОМАМИ.....	13
<i>Дубова О.Е., Рисинская Н.В., Юшкова А.А., Шихвеледова Ф.К., Дроков М.Ю., Кузьмина Л.А., Сударииков А.Б.</i> ДИСКОРДАНТНОСТЬ ХИМЕРИЗМА В КРОВИ И В КОСТНОМ МОЗГЕ КАК ВЕРОЯТНЫЙ ПРИЗНАК НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ АЛЛО-ТГСК.....	17
<i>Козлова Е.В., Булычева И.В., Ковалева О.В., Сушенцов Е.А.</i> ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ВЫБОР ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ ХРЯЩЕВЫХ ОПУХОЛЕЙ.....	20
<i>Брага Э.А., Бурденный А.М., Филиппова Е.А., Лукина С.С., Пронина И.В., Логинов В.И., Казубская Т.П., Кушлинский Н.Е.</i> ГИПЕРМЕТИЛИРОВАНИЕ ГЕНОВ МИКРОРНК И ДЛИННЫХ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК НА РАЗНЫХ СТУПЕНЯХ РАЗВИТИЯ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ.....	23

<i>Великанова Л.И., Ворохобина Н.В., Калугина В.В., Шафигуллина З.Р., Малеваная Е.В., Бохан В.Ю., Стилиди И.С., Кушлинский Н.Е., Бритвин Т.А.</i> ОСОБЕННОСТИ СТЕРОИДНЫХ ПРОФИЛЕЙ МОЧИ, ПОЛУЧЕННЫХ С ПОМОЩЬЮ ГАЗОВОЙ ХРОМАТО-МАСС- СПЕКТРОМЕТРИИ, В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КЛИНИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК БОЛЬНЫХ АДРЕНОКОРТИКАЛЬНЫМ РАКОМ.....	27
<i>Востряхина О.А., Мирлина Е.Д., Бутрович Г.М., Шахматова А.Д., Вербенко В.Н.</i> ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ.....	30
<i>Галстян С.А., Тельшева Е.Н., Котельникова А.О., Рыжова М.В., Шайхаев Е.Г.</i> УТОЧНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГРУППЫ СУПРАТЕНТОРИАЛЬНЫХ ЭПЕНДИМОМ МЕТОДОМ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ.....	33
<i>Головня Е.Г., Лебедева А.В., Харитиди Т.Ю., Сотников А.В., Соменова О.В.</i> УРОВНИ БИОМАРКЕРОВ В ДИАГНОСТИКЕ СЕПСИСА У ДЕТЕЙ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ.....	37
<i>Гордиев М.Г., Рыбникова А.В., Ожегов Г.Д.</i> ПРОЕКТ ГЕНЕТИЧЕСКОГО СКРИНИНГА «ОНКЕТА».....	41
<i>Гуляева Л.Ф., Ахметова Д.А., Конончук В.В., Калинина Т.С., Козлов В.В.</i> АНР-РЕГУЛИРУЕМАЯ ЭКСПРЕССИЯ МИКРОРНК И PD-1/PD-L1 ПРИ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО.....	44
<i>Казачков С.П., Решетняк Д.В., Клеина И.В., Рукавицын О.А.</i> ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ В СТРАТИФИКАЦИИ БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ.....	47
<i>Карпачева К.Е.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ БИОМАРКЕРОВ ПРИ НМРЛ МЕТОДОМ NGS: ОТ «ХОРОШО БЫ» К «НЕ ОБОЙТИСЬ БЕЗ».....	51
<i>Кечин А.А., Боробова В.С., Субботина К.В., Боярских У.А., Тархов А.В., Филипенко М.Л.</i> ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ OXFORD NANOPORE ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕРМИНАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ.....	55
<i>Клейменова О.Н., Тимофеев Ю.С., Томс М.Г., Соменова О.В., Любимова Н.В.</i> РОЛЬ ГЛИОФИБРИЛЛЯРНОГО КИСЛОГО ПРОТЕИНА В ДИАГНОСТИКЕ И ПРОГНОЗЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ.....	57
<i>Козлова Е.В., Булычева И.В., Ковалева О.В., Сушенцов Е.А.</i> СОВРЕМЕННЫЕ КРИТЕРИИ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХРЯЩЕОБРАЗУЮЩИХ ОПУХОЛЕЙ КОСТЕЙ.....	60

<i>Ковалева О.В., Подлесная П.А., Кушлинский Н.Е., Грачев А.Н.</i> ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ТАКСОНОМИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РЕЗИДЕНТНОГО МИКРОБИОМА ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОГО РАКА	62
<i>Ковалева О.В., Подлесная П.А., Мочальникова В.В., Грачев А.Н.</i> КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПРОЛИФЕРИРУЮЩИХ МАКРОФАГОВ ОПУХОЛЕВОЙ СТРОМЫ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО.....	65
<i>Кузнецова О.А., Федянин М.Ю., Трякин А.А., Иванов М.В., Лебедева А.А., Моисеенко Ф.В., Шило П.С., Степанова М.Л., Румянцев А.А., Покатаев И.А., Ледин Е.В., Плакса И.Л., Гайрян М.А.</i> ПРИМЕНИМОСТЬ МУЛЬТИГЕННЫХ ПАНЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ СЕКВЕНИРОВАНИЯ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ И ШКАЛЫ ОЦЕНКИ ЗНАЧИМОСТИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ АЛЬТЕРАЦИЙ (ЕССАТ) В ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С МЕТАСТАТИЧЕСКИМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ОПУХОЛЯМИ	67
<i>Кузьмин Ю.Б., Короткова Е.А., Алферов А.А., Царапаев П.В., Ковалева О.В., Сушенцов Е.А.</i> ОЦЕНКА УРОВНЕЙ РАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ КОНТРОЛЬНОЙ ТОЧКИ ИММУНИТЕТА VISTA В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ КОСТЕЙ С УЧЕТОМ ПОЛА.....	71
<i>Лебедева А.А., Иванов М.В., Кузнецова О., Шарова М., Игнатова Е.О., Трякин А.А., Милейко В.А., Федянин М.Ю., Носов Д.А.</i> КРИТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МОЛЕКУЛЯРНЫХ АЛЬТЕРАЦИЙ, ОБНАРУЖЕННЫХ В ХОДЕ КОМПЛЕКСНОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ ПЕРЕД ОБСУЖДЕНИЕМ В РАМКАХ МОЛЕКУЛЯРНОГО ОНКОКОНСИЛИУМА.....	74
<i>Лебедева А.В., Любимова Н.В., Тимофеев Ю.С.</i> УРОВНИ ХРОМОГРАНИНА В НЕЙРОЭНДОКРИННЫХ ОПУХОЛЯХ.....	77
<i>Лисица Т.С., Абрамов И.С., Строганова А.М., Поспехова Н.И., Шагина А.Д., Хахина А.О., Авдонина М.А., Ибрагимова А.Ш., Шипулин Г.А.</i> ОЦЕНКА ВКЛАДА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ	80
<i>Масленников В.В., Короткова Е.А., Делекторская В.В., Кудлай Д.А., Мамедли З.З.</i> РАСТВОРИМЫЕ ФОРМЫ РЕЦЕПТОРА ПРОГРАММИРУЕМОЙ ГИБЕЛИ КЛЕТКИ SPD-1 И ЕГО ЛИГАНДА SPD-L1 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ	82
<i>Меркурьева О.Н., Бабкина И.В., Бульчева И.В., Карамышева Е.И., Кузнецов И.Н., Сушенцов Е.А.</i> СЫВОРОТОЧНЫЙ УРОВЕНЬ ЭНДОСТАТИНА У ПАЦИЕНТОВ С САРКОМАМИ КОСТЕЙ.....	85

<i>Мокрушина Ю.А., Терехов С.С., Габиров А.Г., Смирнов И.В.</i> ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ АКТИВИРОВАННЫХ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ	87
<i>Орлинская Н.Ю., Гришин А.С. Обухова Л.М., Конторщикова К.Н., Медеяник И.А., Никифорова О.Н., Конторщиков М.М.</i> ПАРАМЕТРЫ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ГЛИОМ С УЧЕТОМ МОЛЕКУЛЯРНОГО ПРОФИЛЯ	89
<i>Подлесная П.А., Ковалева О.В., Мочальникова В.В., Грачев А.Н.</i> КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ ИММУННЫХ КЛЕТОК РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	93
<i>Полянская Е.М., Федянин М.Ю., Боярских У.А., Попова А.С., Игнатова Е.О., Кечин А.А., Мороз Е.А., Храпов Е.А., Оскоробин И.П., Шамовская Д.В., Поляков А.Н. Кудашкин Н.Е., Подлужный Д.В., Алиев В.А., Мамедли З.З., Триголосов А.В., Никулин М.П., Неред С.Н., Калинин А.Е., Стилиди И.С., Трякин А.А., Филипенко М.Л., Тюляндин С.А.</i> ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ЦОДНК У ПАЦИЕНТОВ С ЛОКАЛИЗОВАННЫМИ СТАДИЯМИ ОПУХОЛЕЙ ЖКТ.....	96
<i>Помазной М.Ю., Гордиев М.Г., Каманова Е.П., Шелестова А.О., Григорьев А.С., Храпцов С.Ю., Тарасенко Е.Ф.</i> ПРОГРАММНЫЙ МОДУЛЬ ДЛЯ ИНТЕРПРЕТАЦИИ ОНКО ОБРАЗЦОВ НА ПЛАТФОРМЕ NGS WIZARD (GENOMENAL).....	100
<i>Рейнгардт Г.В., Полетика В.С., Курносенко А.В., Колобовникова Ю.В., Уразова О.И.</i> ГАЛЕКТИНЫ 1 И 3 КАК ФАКТОРЫ ПРОГРЕССИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА.....	103
<i>Рукша Т.Г.</i> ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ПОКОЯЩИХСЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК	107
<i>Саянова Е.П., Зыбина Н.Н., Царапаев П.В., Делекторская В.В., Никонов Е.Л., Мамедли З.З.</i> СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЗОНУЛИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ТОЛСТОЙ КИШКИ И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ	109
<i>Тамкович С.Н., Тутанов О.С., Центалович Ю.П.</i> СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НУКЛЕОПРОТЕИНОВЫХ КОМПЛЕКСОВ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ	113
<i>Баранова М.Н., Пипия С.О., Мокрушина Ю.А., Габиров А.Г., Смирнов И.В., Терехов С.С. Г</i> ГЛУБОКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТЕХНОЛОГИИ КАПЕЛЬНОЙ МИКРОФЛЮИДИКИ	116

<i>Терешкина И.В., Ермилова В.Д., Паяниди Ю.Г., Жордания К.И.</i> СОДЕРЖАНИЕ VEGF В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ОПУХОЛЯМИ ЭНДОМЕТРИЯ И ЯИЧНИКОВ В СОПОСТАВЛЕНИИ С ЗДОРОВЫМ КОНТРОЛЕМ.....	118
<i>Титов С.Е., Лукьянов С.А., Козорезова Е.С., Деменков П.С., Сергийко С.В., Веряскина Ю.А., Воробьев С.Л., Слепцов И.В., Гостимский А.В.</i> МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТА НА СЛЕПОЙ ВЫБОРКЕ.....	121
<i>Царапаев П.В., Соловьев А.С., Крылов В.Б., Яшунский Д.В., Кушлинский Н.Е., Нифантьев Н.Э.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА ПРОТИВ МАННАНА CANDIDA ALBICANS В СЫВОРОТКАХ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ.....	125
<i>Царапаев П.В., Барышникова М.А., Короткова Е.А., Кушлинский Д.Н., Герштейн Е.С.</i> УРОВНИ SP5GL-1 В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ.....	128
<i>Черномаз И.С., Булычева И.В., Герштейн Е.С., Сушенцов Е.А.</i> ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ КОНЦЕНТРАЦИИ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ИХ ТКАНЕВЫХ ИНГИБИТОРОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ КОСТЕЙ С УЧЕТОМ ИХ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ.....	130
<i>Чудакова Л.В., Яровая В.А., Яровой А.А., Зарецкий А.Р.</i> МОЛЕКУЛЯРНОЕ ТИПИРОВАНИЕ МЕЛАНОМ РАДУЖНОЙ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗА.....	133
<i>Чулкова С.В., Шолохова Е.Н., Поддубная И.В., Тупицын Н.Н.</i> ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПОДТИПОВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ.....	135
<i>Штам Т.А., Волницкий А.В., Гараева Л.А., Камышинский Р.А., Копылов А.Т., Зорина Е.С., Байрамуков В.Ю., Спицына А.С., Шлихт А., Нарыжный С.Н.</i> АНАЛИЗ ПРОТЕОМА ЭКЗОСОМ, СЕКРЕТИРУЕМЫХ КЛЕТКАМИ ГЛИБЛАСТОМЫ, ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ БИОМАРКЕРОВ ЗАБОЛЕВАНИЯ.....	138
<i>Щербо Д.С., Коваль А.П., Алферов А.А., Житнюк Ю.В., Кушлинский Н.Е., Чудаков Д.М.</i> ОСОБЕННОСТИ ФРАГМЕНТИРОВАНИЯ СЦДНК В РЕГИОНАХ ОТКРЫТОГО ХРОМАТИНА КАК ОПУХОЛЕВЫЙ МАРКЕР.....	141

TABLE OF CONTENTS

<i>Abrikosova V.A., Mokrushina Y.A., Tsarapaev P.V., Kuzmin Y.B., Terekhov S.S., Smirnov I.V., Kushlinskii N.E., Gabibov A.G.</i> ANALYSIS OF REPERTOIRES OF TUMOR-INFILTRATING B-LYMPHOCYTES.....	3
<i>Alferov A.A., Kozlova E.V., Boulytcheva I.V., Vashketova O.I., Sushentsov E.A.</i> EVALUATION OF THE LEVELS OF SPD-1, SPD-L1 IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH BONE NEOPLASMS AND IN THE GROUP OF HEALTHY DONORS, TAKING INTO ACCOUNT AGE AND GENDER	5
<i>Babkina I.V., Kushlinsky D.N., Ermilova V.D., Alamyán L.V.</i> COMPONENTS OF THE VEGF/VEGFR SYSTEM AT OVARIAN NEOPLASMS	8
<i>Bazarnyi V.V., Kopenkin M.A.</i> CLINICAL VALUE OF ROUTINE LABORATORY TESTS IN THE DIAGNOSIS OF METASTATIC PERICARDITIS	11
<i>Biderman B.V., Severina N.A., Koroleva D.A., Gabeeva N.G., Belyaeva A.V., Tatarnikova S.A., Babaeva F.E., Nesterova E.S., Mangasarova Ya.K., Margolin O.V., Bagova M.O., Magomedova A.U., Kravchenko S.K., Obukhova T.N., Zvonkov E.E., Sudarikov A.B.</i> TP53 GENE MUTATION DIVERSITY IN RUSSIAN PATIENTS WITH B-CELL LYMPHOMAS	13
<i>Dubova O.E., Risinskaya N.V., Yushkova A.A., Shikhveledova F.K., Drovkov M.Y., Kuzmina L.A., Sudarikov A.B.</i> DISCORDANCE OF CHIMERISM IN THE BLOOD AND BONE MARROW AS A POSSIBLE SIGN OF ADVERSE OUTCOME AFTER ALLO-HSCT.....	17
<i>Kozlova E.V., Boulytcheva I.V., Kovaleva O.V., Sushentsov E.A.</i> DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC FACTORS INFLUENCING THE CHOICE OF TACTICS FOR THE TREATMENT OF THE CARTILAGINOUS TUMORS.....	20

<i>Braga E.A., Burdenny A.M., Filippova E.A., Lukina S.S., Pronina I.V., Loginov V.I., Kazubskaya T.P., Kushlinskii N.E.</i> HYPERMETHYLATION OF MICRORNA AND LONG NON-CODING RNA GENES AT DIFFERENT STEPS OF OVARIAN CANCER DEVELOPMENT AND METASTASIS.....	23
<i>Velikanova L.I., Vorokhobina N.V., Kalugina V.V., Shafigullina Z.R., Malevanaya E.V., Bokhyan V. Yu., Stilidi I.S., Kushlinskii N.E., Britvin T.A.</i> URINE STEROID PROFILES FEATURES OBTAINED USING GAS CHROMATOGRAPHY- MASS SPECTROMETRY WITH REGARD TO ADRENOCORTICAL CARCINOMA PATIENT'S CLINICAL CHARACTERISTICS	27
<i>Vostriukhina O.A., Mirlina E.D., Butrovich G.M., Shakhmatova A.D.</i> GENETIC AND EPIGENETIC MARKERS OF COLORECTAL CANCER: PROBLEMS AND PROSPECTS	30
<i>Galstyan S.A., Telysheva E.N., Kotelnikova A.O., Ryzhova M.V., Shaikhaev E.G.</i> DETERMINATION OF THE MOLECULAR GROUP OF SUPRATENTORIAL EPENDYMOMAS BY REAL-TIME PCR.....	33
<i>Golovnya E.G., Lebedeva A.V., Kharitidi T. Yu., Sotnikov A.V., Somonova O.V.</i> BIOMARKER LEVELS IN THE DIAGNOSIS OF SEPSIS IN CHILDREN WITH ONCOLOGICAL DISEASES	37
<i>Gordiev M.G., Rybnikova A.V., Ozhegov G.D.</i> GENETIC SCREENING PROJECT «ONKETA».....	41
<i>Gulyaeva L.F., Akhmetova D.A., Kononchuk V.V., Kalinina T.S., Kozlov V.V.</i> AHR-REGULATING EXPRESSION OF MICRORNAs AND PD-1/PD-L1 IN LUNG SQUAMOUS CARCINOMA.....	44
<i>Kazakov S.P., Reshetnyak D.V., Kleina E.V., Rukavitsyn O.A.</i> EXPERIENCE OF USING CYTOGENETIC METHODS OF LABORATORY DIAGNOSTICS IN STRATIFICATION OF PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA.....	47
<i>Karpacheva K.E.</i> NGS TESTING OF NSCLC BIOMARKERS: FROM NICE-TO-HAVE TO MUST.....	51
<i>Kechin A.A., Borobova V.S., Subbotina K.V., Boyarskikh U.A., Tarhov A.V., Filipenko M.L.</i> EXPERIENCE IN USING OXFORD NANOPORE SEQUENCING TECHNOLOGY TO DETECT TERMINAL MUTATIONS.....	55
<i>Kleimenova O.N., Timofeev Yu.S., Toms M.G., Somonova O.V., Lyubimova N.V.</i> THE ROLE OF GLIOFIBRILLARY ACIDIC PROTEIN IN THE DIAGNOSIS AND PROGNOSIS OF MALIGNANT GLIAL TUMORS	57
<i>Kozlova E.V., Boulytcheva I.V., Kovaleva O.V., Sushentsov E.A.</i> MODERN CRITERIA FOR THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF CARTILAGE-FORMING BONE TUMORS.....	60

<i>Kovaleva O., Podlesnaya P., Kushlinskii N., Gratchev A.</i> PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF TAXONOMIC DIVERSITY OF THE RESIDENT MICROBIOME OF RENAL CELL CANCER.....	62
<i>Kovaleva O.V., Podlesnaya P.A., Mochalnikova V.V., Gratchev A.N.</i> CLINICAL SIGNIFICANCE OF PROLIFERATING MACROPHAGES IN THE TUMOR STROMA OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER.....	65
<i>Kuznetsova O.A., Fedyanin M.Y., Tryakin A.A., Ivanov M.V., Lebedeva A.A., Moiseenko F.V., Shilo P.S., Stepanova M.L., Rumyantsev A.A., Pokataev I.A., Ledin E.V., Plaksa I.L., Gairyan M.A.</i> THE APPLICABILITY OF MULTIGENIC PANELS BASED ON NEXT GENERATION SEQUENCING AND THE SIGNIFICANCE SCALE OF MOLECULAR ALTERATIONS (ESCAT) IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH METASTATIC MALIGNANT TUMORS.....	67
<i>Kuzmin Yu.B., Korotkova E.A., Alferov A.A., Tsarapaev P.V., Kovaleva O.V., Sushentsov E.A.</i> EVALUATION OF THE LEVELS OF THE SOLUBLE FORM OF THE VISTA IMMUNITY CHECKPOINT IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH BONE NEOPLASMS, TAKING INTO ACCOUNT GENDER	71
<i>Lebedeva A.A., Ivanov M.V., Kuznetsova O., Sharova M., Ignatova E.O., Tryakin A.A., Mileyko V.A., Fedyanin M., Nosov D.A.</i> IMPORTANCE OF CRITICAL EVALUATION OF GENOMIC FINDINGS REPORTED FOLLOWING COMPREHENSIVE TUMOR MOLECULAR PROFILING (CTMP) FOR DISCUSSION WITHIN MOLECULAR TUMOR BOARDS (MTB).....	74
<i>Lebedeva A.V., Lyubimova N.V., Timofeev Yu.S.</i> CROMOGRANIN LEVELS IN NEUROENDOCRINE TUMORS	77
<i>Abramov I.S., Lisitsa T.S., Stroganova A.M., Pospekhova N.I., Shagina A.D., Khakhina A.O., Avdonina M.A., Ibragimova A. Sh., Shipulin G.A.</i> ASSESSING THE CONTRIBUTION OF GENETIC FACTORS TO THE DEVELOPMENT OF BREAST CANCER BY NGS	80
<i>Maslennikov V.V., Korotkova E.A., Delektorskaya V.V., Kudlay D.A., Mamedli Z.Z.</i> CONTENT OF SOLUBLE FORMS OF PROGRAMMED CELL DEATH RECEPTOR SPD-1 AND ITS LIGAND SPD-L1 IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER	82
<i>Merkureva O.N., Babkina I.V., Boulytcheva I.V., Karamisheva E.I., Kuznetsov I.N., Sushentsov E.A.</i> SERUM LEVEL OF ENDOSTATIN IN PATIENTS WITH BONE SARCOMAS	85
<i>Mokrushina Y.A., Terekhov S.S., Gabibov A.G., Smirnov I.V.</i> GENETIC PROFILING OF ACTIVATED CYTOTOXIC T-LYMPHOCYTES	87
<i>Orlinskaya N. Yu., Grishin A.S., Obukhova L.M., Kontorshchikova K.N., Medyanik I.A., Nikiforova O.N., Kontorshchikov M.M.</i> PARAMETERS OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN GLIOMAS TAKING INTO ACCOUNT THE MOLECULAR PROFILE	89

<i>Podlesnaya P.A., Kovaleva O.V., Mochalnikova V.V., Gratchev A.N.</i> CLINICAL SIGNIFICANCE OF TUMOR-ASSOCIATED IMMUNE CELLS OF PROSTATE CANCER	93
<i>Polyanskaya E.M., Fedyanin M. Yu., Boyarskikh U.A., Popova A.S., Ignatova E.O., Kechin A.A., Moroz E.A., Khrapov E.A., Oskorobin I.P., Shamovskaya D.V., Polyakov A.N., Kudashkin N.E., Podluzhnyi D.V., Aliev V.A., Mammedli Z.Z., Trigolosov A.V., Nikulin M.P., Nered S.N., Kalinin A.E., Stilidi I.S., Tryakin A.A., Filipenko M.L., Tjulandin S.A.</i> THE PROGNOSTIC ROLE OF CDNA IN LOCALIZED STAGES OF GASTROINTESTINAL TUMORS	96
<i>Pomaznoy M.Y., Gordiev M.G., Kamanova E.P., Shelestova A.O., Grigoriev A.S., Khramtsov S.Y., Tarasenko E.F.</i> SOFTWARE FOR INTERPRETATION OF ONCOLOGICAL SAMPLES IN NGS WIZARD (GENOMENAL) SOFTWARE	100
<i>Reyngardt G.V., Poletika V.S., Kurnosenko A.V., Kolobovnikova Yu.V., Urazova O.I.</i> GALECTINS 1 AND 3 AS FACTORS OF COLORECTAL CANCER PROGRESSION	103
<i>Ruksha T.G.</i> EPIGENETIC MECHANISMS OF REGULATION OF RESTING TUMOR CELLS.....	107
<i>Salyanova E.P., Zybina N.N., Tsarapaev P.V., Delektorskaya V.V., Nikonov E.L., Mamedli Z.Z.</i> COMPARATIVE STUDY OF ZONULIN IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH COLON DISEASES AND HEALTHY DONORS.....	109
<i>Tamkovich S.N., Tutanov O.S., Tsentlovich Y.P.</i> COMPARATIVE PROTEOMIC ANALYSIS OF CIRCULATION BLOOD NUCLEOPROTEIN COMPLEXES IN HEALTHY WOMEN AND PATIENTS WITH BREAST CANCER	113
<i>Baranova M.N., Pipiya S.O., Mokrushina Y.A., Gabibov A.G., Smirnov I.V., Terekhov S.S.</i> DEEP FUNCTIONAL PROFILING OF SINGLE CELLS WITH DROPLET MICROFLUIDICS	116
<i>Tereshkina I.V., Ermilova V.D., Payanidi Yu.G., Zhordania K.I.</i> THE CONTENT OF VEGF IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH ENDOMETRIAL AND OVARIAN TUMORS IN COMPARISON WITH HEALTHY CONTROLS	118
<i>Titov S.E., Lukyanov S.A., Kozorezova E.S., Demenkov P.S., Sergiyko S.V., Veryaskina Y.A., Vorobyev S.L., Sleptsov I.V., Gostimskii A.V.</i> MOLECULAR DIAGNOSIS OF MALIGNANT THYROID TUMORS: TEST VALIDATION ON A BLINDED SAMPLE	121
<i>Tsarapaev P.V., Solovev A.S., Krylov V.B., Yashunsky D.V., Kushlinskii N.E., Nifantiev N.E.</i> INVESTIGATION OF THE ANTIBODY RESPONSE AGAINST CANDIDA ALBICANS MANNAN IN THE BLOOD SERA OF HEALTHY DONORS.....	125

<i>Tsarapaev P.V., Baryshnikova M.A., Korotkova E.A., Kushlinsky D.N., Gershtein E.S.</i> PSGL-1 LEVELS IN THE BLOOD PLASMA OF OVARIAN CANCER PATIENTS.....	128
<i>Chernomaz I.S., Boulitcheva I.V., Gershtein E.S., Sushentsov E.A.</i> STUDYING THE RELATIONSHIP OF THE CONCENTRATION OF MATRIX METALLOPROTEINASES AND THEIR TISSUE INHIBITORS IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH NEOFORMATIONS OF BONES, TAKING INTO ACCOUNT THEIR HISTOLOGICAL STRUCTURE.....	130
<i>Chudakova L.V., Yarovaya V.A., Yarovoy A.A., Zaretsky A.R.</i> MOLECULAR TYPING OF IRIS MELANOMAS.....	133
<i>Chulkova S.V., Sholokhova E.N., Poddubnaya I.V., Tupitsyn N.N.</i> IMMUNOPHENOTYPICAL FEATURES OF MOLECULAR SUBTYPES OF BREAST CANCER	135
<i>Shtam T.A., Volnitskiy A.V., Garaeva L.A., Kamyshinsky R.A., Kopylov A.T., Zorina E.C., Bairamukov V., Spycina A.C., Shlikht A., Naryzhny S.N.</i> ANALYSIS OF PROTEOME OF EXOSOMES SECRETED BY GLIOBLASTOMA CELLS TO DETECT DISEASE BIOMARKERS.....	138
<i>Shcherbo D.S., Koval A.P., Alferov A.A., Zhitnyuk Yu.V., Kushlinskii N.E., Chudakov D.M.</i> CFDNA FRAGMENTATION FRATURES IN OPEN-CHROMATIN REGIONS AS CANCER MARKERS.....	141