

# Молекулярный портрет опухоли

В РНПЦ онкологии и медрадиологии им. Н. Н. Александрова сегодня выполняется 56 научных проектов, из них 23 связаны с молекулярно-генетическими исследованиями. Проводятся они в Республиканской молекулярно-генетической лаборатории канцерогенеза (онкоотделения генетики, клеточных и биочиповых технологий, вирусологии, иммунологии и протеоники).

**Дмитрий Патыко, «МВ».**  
**Фото Сергея Мицевича, «МВ».**

— Традиционные средства диагностики исчерпывают свой потенциал, — считает заместитель директора по научной работе РНПЦ, член-корреспондент НАН Беларуси, доктор мед. наук,

профессор Сергей Красный. — Пришло время использовать такой резерв, как молекулярно-генетические исследования. Они дают возможность с высокой точностью тестировать опухоли

для определения химиочувствительности, по генетическому портрету пациента устанавливать наследственный характер заболевания и целенаправленно действовать на опережение, назначая адресное лечение.

В 2016 году через РНПЦ прошло около 10 000 пациентов, примерно 7 000 из них были выполнены молекулярно-биологические исследования; масштабное профилирование опухоли для индивидуализации терапии было проведено примерно сотне человек. На основании молекулярно-биологических маркеров выполнялась диагностика опухолей ЦНС, мягких тканей и костей, лимфомы, велись исследования по оценке наследственных рисков

развития злокачественных новообразований, мониторингу концентрации лекарственных средств в жидкостях организма для индивидуальной коррекции дозы препарата, разрабатывались и внедрялись технологии клеточной терапии.

Для внедрения достижений молекулярной биологии в отечественную клинику уже получены первые международные сертификаты, приобретено современное оборудование для выполнения методик флуоресцентной *in situ* гибридизации, молекулярного секвенирования, полимеразной цепной реакции (ПЦР), иммуногистохимии, хромато-масс-спектрометрии, проточной цитометрии, иммуноферментного анализа.

Биолог Виктория Майорова проводит пробоподготовку образцов к проведению ПЦР-реакции.



Врач лабораторной диагностики Ана Маградзе выявляет вирусные и бактериальные инфекции на иммуноферментном анализаторе.



Биолог Игорь Северин в криобанке опухолевых клеточных линий.



## НОВЫЕ РАЗРАБОТКИ

### Метод оценки прогноза клинического течения рака мочевого пузыря посредством комплексного анализа клинико-морфологических параметров опухоли и молекулярно-генетического статуса гена FGFR3.

На основе этого анализа была создана модель молекулярных путей патогенеза рака мочевого пузыря. В зависимости от наличия определенной мутации патология может развиваться двумя путями: так называемый поверхностный рак, характеризующийся низкой злокачественностью и благоприятным прогнозом (мутации в генах FGFR3 и HRAS); более агрессивный мышечно-инвазивный рак, рано дающий метастазы и характеризующийся неблагоприятным прогнозом (мутации в генах TP53 и RUNX3). С помощью этого метода была выделена группа пациентов с очень высоким риском прогрессирования заболевания, у которых выявлены мутации в генах TP53 и RUNX3. Это важно для прогноза течения заболевания и определения степени агрессивности лечения. Зная, что у пациента опухоль будет развиваться как поверхностная, после лечения в основном будет контролироваться мочевой пузырь. Если же предполагается прогрессирование заболевания, то в отношении метастазирования будет отслеживаться состояние других внутренних органов. Кроме того, могут быть определены пациенты, которым надо немедленно выполнять радикальное удаление мочевого пузыря, иначе разовьются метастазы.

**Неинвазивный комплексный метод молекулярно-генетической и лучевой диагностики рака предстательной железы.** Такое обследование должно проводиться, когда пациенту с высоким уровнем простат-специфического антигена (ПСА) в крови выполнена первичная биопсия, которая оказалась отрицательной. Обычно спустя полгода выполняется еще одна биопсия, следом еще одна (и так 10–15 раз), однако это агрессивное исследование, так что требовалось решение, позволяющее ограничиться только одним подобным вмешательством. Ученые нашли выход. Благодаря определению в моче экспрессии онкогена PCA3 и химерного гена TMPRSS2-ERG можно выделять пациентов, которым действительно необходимо выполнять биопсию (у остальных можно повременить).

### Разработка и внедрение метода трансплантации тканеинженерных дыхательных путей с их поражением опухолевой или рубцовой этиологии.

Речь идет о категории пациентов, которые умирают в течение 2–5 месяцев. Был предложен метод децеллюляризации трупной трахеи, по сути, с приготовлением матрицы, затем заселением ее хондроцитами и после этого — эпителиоцитами. Кроме того, технология предусматривает реваскуляризацию трахеи с последующей трансплантацией пациентам. Все это делается с целью замещения дефекта трахеи после удаления опухоли либо рубца. В настоящее время проведены 3 операции. Все пациенты живут уже более полугода — это считается обнадеживающим результатом.

## ПЛАНЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Совместно с Институтом генетики и цитологии НАН Беларуси запланирована тема «Протеомные и молекулярно-генетические исследования створовых опухолевых клеток (СОК) колоректального рака для разработки новых методов направленной клеточной терапии» (программа Союзного государства «Створовая клетка — 2»). На модели, устойчивой к 5-фторурацилу клеточной линии колоректального рака, планируется изучить роль СОК в механизмах опухолевой прогрессии и подобрать возможные молекулярные мишени направленного воздействия на СОК методами клеточной терапии на основе вакцин с использованием дендритных клеток и/или дендритных клеток и лимфокин-активированных киллеров. Это будет новый этап в иммунотерапии злокачественных опухолей.

Еще один проект — «Разработка технологии выявления риска онкологических заболеваний на основе молекулярно-генетических и эпигенетических маркеров» (программа Союзного государства «ДНК-идентификация»). Планируется разработать инновационную ДНК-технологию, позволяющую определить молекулярно-генетические и эпигенетические маркеры риска рецидивирования или прогрессирования заболевания у пациентов с колоректальным раком. По оценкам специалистов, новая технология позволит вовремя провести профилактическое лечение и предотвратить появление метастазов.

## СИГНАЛ ПОДАЕТ микроРНК

Перспективным направлением исследований становится изучение эпигенетических механизмов регуляции, т. е. процессов, которые не затрагивают структуру генов, однако изменяют их уровень активности. Одним из них является

## НУЖНО ЛИ РАСШИРЯТЬ ГЕОГРАФИЮ ИССЛЕДОВАНИЙ?

**Анна Портянко**, заведующая Республиканской молекулярно-генетической лабораторией канцерогенеза, доктор мед. наук:

— На современном этапе из группы глиобластом выделили варианты, которые характеризуются разным прогнозом. С морфологической точки зрения легко перепутать глиобластому и анапластическую олигодендроглиому: при окраске гематоксилином-эозином они выглядят практически одинаково. Но благодаря генетическим тестам мы находим отличия. Более того, это рутинно выполняется в нашем патологоанатомическом отделении.

Подобным образом «размножились» и лимфомы. Например, благодаря молекулярно-генетическому тестированию было выделено несколько лимфом из лимфомы Ходжкина. Раньше на основании гематоксилин-эозиновой гистологии их классифицировали как лимфому Ходжкина, а когда появился молекулярно-генетический анализ по Т-клеточным рецепторам, выяснилось, что это фолликулярная Т-клеточная лимфома. Как это сказывается на лечении? Прежде всего, можно дать более точный прогноз. Если у человека глиобластома, то медиана выживаемости составляет 1 год, а если речь об анапластической олигодендроглиоме, то 10 лет.

Мы развиваем связи с зарубежными специалистами из лучших европейских научных центров. Вместе с коллегами из Германии пытаемся развить важные направления протеомики — анализ не одного белка, а протеома в целом. Создан весь цикл начиная от цитологического препарата, есть система лазерной микродиссекции на базе микроскопа, которая позволяет из большой опухоли выделить именно опухолевые клетки, сделать после этого масс-спектрометрию и определить спектр всех белков в этой опухоли.

Нужно ли расширять географию исследований? Думаю, для страны достаточно иметь один такой центр — Республиканскую молекулярно-генетическую лабораторию канцерогенеза, где можно оперативно выполнять все необходимые молекулярно-биологические исследования (в т. ч. с гистологическим материалом, полученным из областей).

У нас есть возможность проводить не только гистологическую диагностику, но и предварительную диагностику с помощью проточного цитофлуориметра. Буквально в течение часа после того, как у человека удалили лимфатические узлы, мы можем предварительно сказать, есть ли лимфома (и если да, то какая). Это большое подспорье для клиницистов.

РНК-интерференция — механизм подавления экспрессии генов на этапе трансляции, когда РНК синтезируется, но не проявляет себя в белке. И если обнаруживается высокий уровень экспрессии какой-то микроРНК, можно предположить, что именно в этом органе имеется проблема.

Семейство генов микроРНК составляет немногим более 1 % от всего генома человека, но регулирует экспрессию почти трети всех генов. Ряд выполняемых научных проектов посвящен изучению микроРНК при различных опухолях. В отделении разрабатывается неинвазивный метод диагностики герминогенных опухолей яичка, основанный на определении в крови экспрессии панели микроРНК. Это же семейство молекул, кроме диагностики заболеваний, используется для прогнозирования течения онкозаболеваний и для выбора индивидуальной лекарственной терапии.

Задача исследования — определить маркеры неблагоприятного прогноза (можно выделить группу таких пациентов и подобрать дополнительное лечение). Также важно определить спектр микроРНК. Он будет свидетельствовать о чувствительности к определенным схемам химиотерапии (речь о РМЖ, для которого найдена панель маркеров).

Изучая молекулярные характеристики в ходе лечения, можно корректировать схему лечения при появлении дополнительных мутаций.

Метод называется «жидкой» биопсией: по анализу крови можно следить за генетическими изменениями и гораздо раньше предполагать прогрессирование развития заболевания. Препараты для терапии дорогостоящие и высокотоксичные, поэтому важно на ранних этапах определить резистентность к лекарству и найти замену.

Молекулярное профилирование предполагает определение генетических нарушений, характерных для каждой конкретной опухоли, поскольку известно, что одни и те же нозологические формы различаются по молекулярным характеристикам. Знать молекулярный портрет опухоли необходимо и для прогнозирования течения онкопроцесса и индивидуализации лечения. Персонализированный подход к назначению цитостатических препаратов и средств направленной терапии у онкопациентов с учетом молекулярных биомаркеров чувствительности и токсичности обеспечивает наиболее точный подбор лекарственных средств.

В рамках молекулярного профилирования опухолей на основании масштабного анализа данных мировых публикаций разработаны многоплатформенные панели биомаркеров РМЖ, рака яичников, колоректального рака, немелкоклеточного рака легкого, меланомы, предназначенные для выбора системной противоопухолевой терапии.

## Чего опасалась Анджелина Джоли?

— Мы изучаем генетические поломки, возникающие в процессе развития опухоли, — рассказывает заведующая онкологическим отделением генетики Республиканской молекулярно-генетической лаборатории канцерогенеза Елена Субоч. — Актуальное направление — оценка наследственных рисков развития онкозаболеваний. Наследственные формы опухолей составляют 1–2 % всех онкопатологий, и здесь должны применяться особые схемы лечения и оперативного вмешательства. Важная цель выявления семейных опухолевых синдромов — идентификация еще здоровых родственников пациента, у которых имеются патогенные мутации. В итоге можно разработать комплекс мероприятий,

направленных на предотвращение неблагоприятного исхода онкопатологии.

На слуху пример: американская актриса Анджелина Джоли, имеющая мутацию в гене BRCA1, увеличивающую риск развития РМЖ, пошла на радикальную операцию, чтобы предотвратить возникновение злокачественной опухоли.

Ученые Республиканской молекулярно-генетической лаборатории канцерогенеза занимаются этой патологией. По гранту Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований в 2015–2017 годах была выполнена работа «Система аллельной дискриминации мутационного статуса генов BRCA1 и BRCA2 при злокачественных

новообразованиях молочной железы человека». Проведено популяционное исследование, и оказалось, что частота мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 составляет примерно 2,5 % среди женщин (частотный спектр мутаций отличается от того, что наблюдается у жителей соседних стран).

Для каждой популяции типичен свой спектр генетических нарушений. Зная характерные мутации, можно в первую очередь протестировать их, а потом уже искать другие варианты. Результатом выполнения научного проекта стала разработка системы аллельной дискриминации мутационного статуса генов BRCA1/BRCA2 с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени.

Выделили 5 основных мутаций, которые встречаются у белорусских женщин.

Специалисты онкологического отделения генетики также тестируют большую панель маркеров, позволяющую оценить риск развития рака яичников, эндометрия, щитовидной железы, почки, колоректального рака, меланомы, полипозных синдромов.

На сегодня имеются новые международные классификации опухолей головного мозга и лимфом, требующие обязательного проведения молекулярно-генетических исследований. Поэтому в отделениях генетики и клеточных технологий разрабатывается алгоритм диагностики таких заболеваний с использованием биомаркеров.