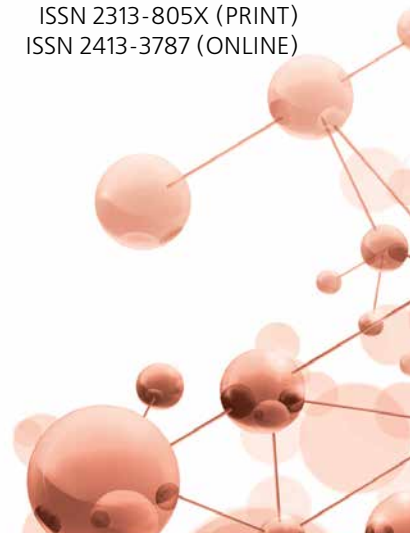


УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ
ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ
РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ
ЖУРНАЛ



*Использование белка p53 как мишени
для иммунотерапии онкологических
заболеваний*

*Молекулярные механизмы костного
метастазирования*

*Повышенный уровень экспрессии гена
MUC16 как потенциальный маркер
рака яичников*

*Спектр герминальных патогенных
мутаций у российских пациенток
с диагностированным раком
молочной железы*

*Асинхронная репликация генов AURKA
и TP53 у больных со злокачественными
новообразованиями желудочно-
кишечного тракта*



Журнал «Успехи молекулярной онкологии» входит в перечень ведущих рецензируемых научных периодических изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией (ВАК) для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук. Журнал включен в Научную электронную библиотеку и Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), имеет импакт-фактор, зарегистрирован в базе данных Scopus, в CrossRef, статьи индексируются с помощью идентификатора цифрового объекта (DOI).

Электронная версия журнала представлена в DOAJ.

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КАНЦЕРОГЕНЕЗА ФГБУ «НМИЦ ОНКОЛОГИИ ИМ. Н.Н. БЛОХИНА»
МИНЗДРАВА РОССИИ

УСПЕХИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ОНКОЛОГИИ



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

Онлайн-версия журнала
доступна по адресу:
<http://umo.abvpress.ru/jour>

Е Ж Е К В А Р Т А Л Ы Й Н А У Ч Н О - П Р А К Т И Ч Е С К И Й Р Е Ц Е Н З И Р У Е М Ы Й Ж У Р Н А Л

Главная задача журнала «Успехи молекулярной онкологии» – публикация современной информации о проведенных фундаментальных и клинико-экспериментальных исследованиях в области молекулярной онкологии.

Цель издания – дать читателям представление об актуальных направлениях современной молекулярной онкологии, ознакомить с наиболее значимыми работами отечественных и зарубежных исследователей в этой области, создать общую площадку, на которой специалисты разных областей, включая онкологов, молекулярных биологов, генетиков, биохимиков, вирусологов, химиотерапевтов, смогут поделиться результатами своих научных исследований.

О С Н О В А Н В 2 0 1 4 Г .

1
ТОМ 13
'26

Учредители:
ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
ООО «ИД «АБВ-пресс»

Издатель:
ООО «ИД «АБВ-пресс»
115478 Москва,
Каширское шоссе, 24, стр. 15

Адрес редакции:
115478 Москва, Каширское шоссе, 24,
стр. 15, НИИ канцерогенеза, 3-й этаж.
Тел.: +7 (499) 929-96-19
E-mail: abv@abvpress.ru
www.abvpress.ru

Прием статей:
онлайн на сайте
<http://umo.abvpress.ru/jour>
или по адресу
adv.mol.onc@ronc.ru

Выпускающий редактор
И.В. Пучкова

Корректор Т.Н. Помилуйко

Дизайн: Е.В. Степанова

Верстка: Е.В. Степанова

Служба подписки и распространения
info@abvpress.ru

*Журнал зарегистрирован в Федеральной
службе по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых
коммуникаций (ПИ № ФС77-57560
от 08.04.2014)*

**При полной или частичной перепечатке
материалов ссылка на журнал «Успехи
молекулярной онкологии» обязательна.
Редакция не несет ответственности
за содержание публикуемых рекламных
материалов. В статьях представлена
точка зрения авторов, которая может
не совпадать с мнением редакции.**

ISSN 2313-805X (Print)
ISSN 2413-3787 (Online)

Успехи молекулярной онкологии.
2026. Том 13. № 1. 1–112.

© Оформление, верстка.
ООО «ИД «АБВ-пресс», 2026

Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» – 93562.

Отпечатано в типографии
«Лайдер принт».
105082 Москва, Переведеновский
пер., 13, стр. 16.

Тираж 1000 экз. Бесплатно.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Красильников Михаил Александрович, д.б.н., профессор, директор Научно-исследовательского института канцерогенеза (НИИ канцерогенеза) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заведующий отделом экспериментальной биологии опухолей (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Якубовская Марианна Геннадиевна, д.м.н., заведующая отделом химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Гудкова Маргарита Владимировна, к.б.н., ученый секретарь НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Александрова Антонина Юрьевна, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Барлев Николай Анатольевич, д.б.н., профессор РАН, руководитель лаборатории регуляции экспрессии генов ФГБУ «Институт цитологии РАН» (Санкт-Петербург, Россия)

Боженко Владимир Константинович, д.м.н., профессор, руководитель лаборатории биохимии отдела патоморфологии и лабораторной диагностики, ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, заслуженный врач РФ (Москва, Россия)

Бойчук Сергей Васильевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей патологии, декан медико-биологического факультета ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Казань, Россия)

Глушанкова Наталия Александровна, д.б.н., заведующая лабораторией механизмов канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Григорьева Эльвира Витальевна, д.б.н., руководитель лаборатории гликобиологии Института молекулярной биологии и биофизики ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины» (Новосибирск, Россия)

Гудков Андрей Владимирович, д.б.н., профессор, старший вице-президент по фундаментальной науке и заведующий отделом биологии клеточного стресса Института онкологии им. Розвелла Парка (Баффало, Нью-Йорк, США)

Животовский Борис Давидович, д.б.н., профессор, лауреат Государственной премии СССР, заведующий лабораторией исследования механизмов апоптоза факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», профессор Каролинского института (Стокгольм, Швеция)

Имянитов Евгений Наумович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Казанский Дмитрий Борисович, д.б.н., профессор, заведующий лабораторией механизмов регуляции иммунитета НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Карамышева Аида Фуадовна, д.б.н., главный научный консультант лаборатории генетики опухолевых клеток отдела молекулярной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Кжышковска Юлия Георгиевна, д.б.н., профессор, руководитель отдела врожденного иммунитета и толерантности Института трансфузионной медицины и иммунологии медицинского факультета Мангейма университета Гейдельберга (Гейдельберг, Германия)

Кирсанов Кирилл Игоревич, д.б.н., заведующий лабораторией канцерогенных веществ отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, доцент кафедры общей врачебной практики ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (Москва, Россия)

Ковалева Ольга Владимировна, д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Лазаревич Наталья Леонидовна, д.б.н., профессор, заведующая отделом иммунохимии НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Лихтенштейн Анатолий Владимирович, д.б.н., главный научный консультант отдела экспериментальной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Мазуренко Наталья Николаевна, д.б.н., профессор, главный научный консультант лаборатории онкогеномики НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Миркин Сергей Моисеевич, именной профессор биологии Университета Тафтса (Медфорд, Орегон, США)

Муштафин Ильшат Ганиевич, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой биохимии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России (Казань, Россия)

Наседкина Татьяна Васильевна, д.б.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биологических микрочипов ФГБНУ «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН» (Москва, Россия)

Немцова Марина Вячеславовна, д.б.н., профессор, заведующий лабораторией медицинской генетики института молекулярной медицины ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), главный научный сотрудник лаборатории эпигенетики ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова, эксперт по онкогенетике лаборатории «Эвоген» (Москва, Россия)

Сергеева Наталья Сергеевна, д.б.н., профессор, руководитель лаборатории прогноза эффективности консервативного лечения Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Степанова Евгения Владиславовна, д.м.н., директор Департамента комплексных программ и проектов Минобрнауки России (Москва, Россия)

Чевкина Елена Максимовна, д.б.н., заведующая лабораторией регуляции клеточных и вирусных онкогенов НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Чердынцева Надежда Викторовна, д.б.н., профессор, член-корреспондент РАН, заместитель директора по научной работе, заведующая лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии Научно-исследовательского института онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН» (Томск, Россия)

Чешиков Виталий Тадеушевич, к.б.н., доцент, декан биотехнологического факультета Полесского государственного университета (Пинск, Беларусь)

Шербаков Александр Михайлович, заведующий лабораторией онкопротеомики отдела экспериментальной биологии опухолей НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Юришич Владимир, профессор факультета медицинских наук Университета Крагуеваца (Крагуевац, Сербия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Белицкий Геннадий Альтерович, д.м.н., профессор, главный научный консультант лаборатории механизмов химического канцерогенеза отдела химического канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Гуревич Владимир Эдуардович, д.м.н., профессор, главный научный консультант лаборатории вирусного канцерогенеза НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Зарилде Давид Георгиевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий отделом эпидемиологии и профилактики опухолей НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заслуженный деятель науки РФ (Москва, Россия)

Кубасова Ирина Юрьевна, к.м.н., ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Кушников Николай Евгеньевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Тюляндин Сергей Алексеевич, д.м.н., профессор, заведующий отделением клинической фармакологии и химиотерапии, заместитель директора по научной работе НИИ клинической онкологии им. Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

The journal "Advances in Molecular Oncology" is put on the Higher Attestation Commission (HAC) list of leading peer-reviewed scientific periodicals recommended to publish the basic research results of candidate's and doctor's theses.

The journal is included in the Scientific Electronic Library and the Russian Index of Science Citation (RISC) and has an impact factor; it is registered in the Scopus data base, CrossRef, its papers are indexed with the digital object identifier (DOI).

The journal's electronic version is available in the DOAJ.

RESEARCH INSTITUTE OF CARCINOGENESIS, N.N. BLOKHIN NATIONAL MEDICAL RESEARCH CENTER
OF ONCOLOGY, MINISTRY OF HEALTH OF RUSSIA

ADVANCES in MOLECULAR ONCOLOGY



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

Online version of the journal
is available at:
<http://umo.abvpress.ru/jour>

QUARTERLY PEER-REVIEWED SCIENTIFIC AND PRACTICAL JOURNAL

The main objective of the journal "Advances in Molecular Oncology" is publication of current information on basic, clinical and experimental research in molecular oncology.

The publication aim to provide insight into currently important areas of modern molecular oncology; present the most significant studies from Russian and foreign specialists in this field; create a forum for various researchers, including oncologists, molecular biologists, geneticists, biochemists, virologists, chemotherapists to share the results of their scientific research.

FOUNDED IN 2014

1 VOL. 13
'26

Founders:

N.N. Blokhin National Medical
Research Center of Oncology,
Ministry of Health of Russia;
PH "ABV-press"

Publisher

PH "ABV-Press" 24 Kashirskoe
Shosse, Bld. 15, Moscow 115478

Editorial Office:

Research Institute of Carcino-
genesis, Floor 3, 24 Kashirskoye
Shosse, Bld. 15, Moscow 115478.
Tel.: +7 (499) 929-96-19

E-mail: abv@abvpress.ru

www.abvpress.ru

Article submission:

on-line at <http://umo.abvpress.ru/jour>
or by e-mail to adv.mol.onc@ronc.ru

Managing editor I.V. Puchkova
Proofreader T.N. Pomilukho

Designer E.V. Stepanova
Maker-up E.V. Stepanova

Subscription & Distribution Service
info@abvpress.ru

*The journal was registered at the Federal
Service for Surveillance of Communications,
Information Technologies, and Mass Media
(FTH No. ФС77-57560 dated 08 April 2014).*

**If materials are reprinted in whole
or in part, reference must necessarily
be made to the journal "Uspekhi mole-
kulyarnoy onkologii".**

**The editorial board is not responsible
for advertising content. The authors, point
of view given in the articles may not coincide
with the opinion of the editorial board.**

ISSN 2313-805X (Print)
ISSN 2413-3787 (Online)

Uspekhi molekulyarnoy onkologii.
2026. Vol. 13 No. 1. 1–112.

© Design, layout PH "ABV-Press",
2026
Pressa Rossii catalogue index: 93562.

Printed at the Leader Print Ltd
Bld. 16, 13 Perevednovsky lane,
Moscow 105082.
1000 copies.
Free distribution.

EDITOR-IN-CHIEF

Krasil'nikov, Mikhail A., DSc, PhD, Professor, Director of the Research Institute of Carcinogenesis, Head of Department of Experimental Biology of Tumors (Moscow, Russia)

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Yakubovskaya, Marianna G., MD, PhD, Head of the Department of Chemical Carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EXECUTIVE EDITOR

Gudkova, Margarita V., PhD, Scientific Secretary of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Alexandrova, Antonina Yu., DSci, PhD, Leading Scientist of the Laboratory of Carcinogenesis Mechanisms of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Barlev, Nikolay A., DSc, PhD, Head of the Laboratory of Gene Expression Regulation at the Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences (Saint Petersburg, Russia)

Bozhenko, Vladimir K., MD, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Biochemistry of the Department of Pathomorphology and the Laboratory Diagnostics of the Russian Scientific Center of Roentgenoradiology of the Ministry of Health of Russia, Honored Doctor of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Boichuk, Sergey V., MD, PhD, Professor, Head of the Department of General Pathology, Dean of the Faculty of Medicine and Biology, Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Kazan, Russia)

Gloushankova, Natalia A., DSc, PhD, Head of the Laboratory of Carcinogenesis Mechanisms of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Gudkov, Andrey V., DSc, PhD, Professor, Sr. Vice-President for Basic Science and Head of the Department of Cell Stress Biology of the Roswell Park Cancer Institute (Buffalo, New York, USA)

Grigorieva, Elvira V., DSc, Head of the Laboratory of Glycobiology of the Institute of Molecular Biology and Biophysics of the Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine (Novosibirsk, Russia)

Zhivotovskiy, Boris D., DSc, PhD, Professor, Laureate of the State Award of the USSR, Head of the Department of Apoptosis Mechanisms, Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University, Professor of the Karolinska Institute (Stockholm, Sweden)

Imyanitov, Eugeny N., MD, PhD, Professor, Associate Member of RAS, N.N. Petrov National Medical Research Oncology Center of the Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia)

Kazansky, Dmitry B., DSc, PhD, Professor, Head of the Laboratory of Immune Regulation Mechanisms of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Karamysheva, Aida F., DSci, PhD, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of the Genetics of Tumor Cells of the Department of Molecular Biology of Tumors of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kirsanov, Kirill I., DSc, Head of the Laboratory of Carcinogenic Compounds, Department of Chemical carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Associate Professor of the Department of General Medical Practice of the Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia)

Kovaleva, Olga V., DSc, Sr. Researcher of the Laboratory of Regulation of Cellular and Viral Oncogenes of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kzhyskovska, Juliya G., DSc, PhD, Professor, Head of Department of Innate Immunity and Tolerance, Institute of Transfusion Medicine and Immunology, Medical Faculty Mannheim, Heidelberg University (Heidelberg, Germany)

Lichtenstein, Anatoly V., DSc, PhD, Chief Scientific Consultant of the Tumor Biochemistry Group, Department of Experimental Tumor Biology of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Lazarevich, Natalia L., DSc, PhD, Professor, Head of the Department of the Immunochimistry of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Mazurenko, Natalia N., DSc, PhD, Professor, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of Oncogenomics of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Mirkin, Sergey M., Professor, White Family Department of Biology, Head in Biology Tufts University (Medford, Oregon, USA)

Mustafin, Ilshat G., MD, Professor, Head of the Department of Biochemistry and Clinical Laboratory Diagnostics of Kazan State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Kazan, Russia)

Nasedkina, Tatiana V., PhD, DSc, Professor, Leading Researcher of the Laboratory for Biological Microchips of Engelhardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences

Nemtsova, Marina V., PhD, Head of the Laboratory of Medical Genetics of the Institute of Molecular Medicine of the Sechenov University of the Ministry of Health of Russia, Chief Researcher at the Epigenetics Laboratory of the N.P. Bochkov Medical and Genetic Research Center, Oncogenetics Expert of the Laboratory "Evogen" (Moscow, Russia)

Sergeeva, Natalia S., DSc, PhD, Professor, Head of the Prognostics of the Efficacy of Conservative Treatment Laboratory of the P.A. Herzen Moscow Oncology Research Center – branch of National Medical Research Radiology Center of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Shcherbakov, Alexander M., Head of the Laboratory of Oncoproteomics of the Department of Experimental Biology of Tumors of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Stepanova, Evgenia V., MD, PhD, Director of the Department of Complex Programs and Projects, Ministry of Science and Higher Education of Russia (Moscow, Russia)

Tchevkina, Elena M., DSc, PhD, Head of the Laboratory of the Regulation of Cell and Viral Oncogenes of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Tcherdyntseva, Nadezhda V., DSc, PhD, Professor, Associate Member of RAS, Deputy Director for Research Work, Head of the Laboratory of Molecular Oncology and Immunology of the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (Tomsk, Russia)

Juricic, Vladimir, Professor of the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (Kragujevac, Serbia)

Cheshechikov, Vitaly T., PhD, Associate Professor, Dean of the Biotechnology Faculty at Polesie State University (Pinsk, Belarus)

EDITORIAL COUNCIL

Belitsky, Gennady A., MD, PhD, Professor, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of Chemical Carcinogenesis Mechanisms of the Department of Chemical Carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Gurtsevitch, Vladimir E., MD, PhD, Professor, Chief Scientific Consultant of the Laboratory of Viral Carcinogenesis of the Research Institute of Carcinogenesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Zaridze, David G., MD, PhD, Professor, Associate Member of RAS, Head of the Department of Epidemiology and Prevention of Tumors of the N.N. Trapeznikov Research Institute of Clinical Oncology of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Honored Scientist of the Russian Federation (Moscow, Russia)

Kubasova, Irina Yu., PhD, Scientific Secretary of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kushlinskii, Nikolay E., MD, PhD, Professor, Associate Member of RAS, Head of the Clinical Biochemistry Laboratory, N.N. Trapeznikov Research Institute of Clinical Oncology of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Tjulandin, Sergey A., MD, PhD, Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Chemotherapy, Deputy Director for Scientific Research, N.N. Trapeznikov Research Institute of Clinical Oncology of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

При направлении статьи в редакцию журнала «Успехи молекулярной онкологии» авторам необходимо руководствоваться следующими правилами.

1. Общие правила

При первичном направлении рукописи в редакцию в копии электронного письма должны быть указаны все авторы данной статьи. Обратную связь с редакцией будет поддерживать ответственный автор, обозначенный в статье (см. пункт 2).

Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.

2. Оформление данных о статье и авторах

Первая страница должна содержать:

- название статьи,
- инициалы и фамилии всех авторов,
- ученые степени, звания, должности, место работы каждого из авторов, а также их ORCID (при наличии),
- полное название учреждения (учреждений), в котором (которых) выполнена работа,
- адрес учреждения (учреждений) с указанием индекса.

Последняя страница должна содержать сведения об авторе, ответственном за связь с редакцией:

- фамилия, имя, отчество полностью,
- занимаемая должность,
- ученая степень, ученое звание,
- персональный международный идентификатор ORCID (подробнее: <http://orcid.org/>),
- персональный идентификатор в РИНЦ (подробнее: http://elibrary.ru/projects/science_index/author_tutorial.asp),
- контактный телефон,
- адрес электронной почты.

3. Оформление текста

Статьи принимаются в форматах doc, docx, rtf.

Шрифт – Times New Roman, кегль 14, межстрочный интервал 1,5. Все страницы должны быть пронумерованы. Текст статьи начинается со второй страницы.

4. Объем статей (без учета иллюстраций и списка литературы)

Оригинальная статья – не более 12 страниц (большой объем допускается в индивидуальном порядке, по решению редакции).

Описание клинических случаев – не более 8 страниц.

Обзор литературы – не более 20 страниц.

Краткие сообщения и письма в редакцию – 3 страницы.

5. Резюме

Ко всем видам статей на отдельной странице должно быть приложено резюме на русском и английском (по возможности) языках. Резюме должно кратко повторять структуру статьи, независимо от ее тематики.

Объем резюме – не более 2500 знаков, включая пробелы. Резюме не должно содержать ссылки на источники литературы и иллюстративный материал.

На этой же странице помещаются ключевые слова на русском и английском (по возможности) языках в количестве от 3 до 10.

6. Структура статей

Оригинальная статья должна содержать следующие разделы:

- введение,
- цель,
- материалы и методы,
- результаты,
- обсуждение,
- заключение (выводы),
- вклад всех авторов в работу,
- конфликт интересов для всех авторов (в случае его отсутствия необходимо указать: «Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов»),
- одобрение протокола исследования комитетом по биоэтике (с указанием номера и даты протокола),
- информированное согласие пациентов (для статей с авторскими исследованиями и описаниями клинических случаев),

– при наличии финансирования исследования – указать его источник (грант и т. д.),

– благодарности (раздел не является обязательным).

7. Иллюстративный материал

Иллюстративный материал должен быть представлен в виде отдельных файлов и не фигурировать в тексте статьи. Данные таблиц не должны повторять данные рисунков и текста и наоборот.

Фотографии представляются в форматах TIFF, JPG с разрешением не менее 300 dpi (точек на дюйм).

Рисунки, графики, схемы, диаграммы должны быть редактируемыми, выполненными средствами Microsoft Office Excel или Office Word.

Все **рисунки** должны быть пронумерованы и снабжены подписочными подписями. Фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита – «а», «б» и т. д. Все сокращения, обозначения в виде кривых, букв, цифр и т. д., использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подписочной подписи. Подписи к рисункам даются на отдельном листе после текста статьи в одном с ней файле.

Таблицы должны быть наглядными, иметь название и порядковый номер. Заголовки граф должны соответствовать их содержанию. Все сокращения расшифровываются в примечании к таблице.

8. Единицы измерения и сокращения

Единицы измерения даются в Международной системе единиц (СИ).

Сокращения слов не допускаются, кроме общепринятых. Все аббревиатуры в тексте статьи должны быть полностью расшифрованы при первом упоминании (например, онкогематология (ОГ)).

9. Список литературы

На следующей после текста странице статьи должен располагаться список цитируемой литературы.

Все источники должны быть пронумерованы, нумерация осуществляется строго по порядку цитирования в тексте статьи, не в алфавитном порядке. Все ссылки на источники литературы в тексте статьи обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках начиная с 1 (например, [5]). Количество цитируемых работ: в оригинальных статьях – не более 20–25, в обзорах литературы – не более 60.

Ссылки должны даваться на первоисточники, цитирование одного автора по работе другого недопустимо.

Включение в список литературы тезисов возможно исключительно при ссылке на иностранные (англоязычные) источники.

Ссылки на диссертации и авторефераты, неопубликованные работы, а также на данные, полученные из неофициальных интернет-источников, не допускаются.

Для каждого источника необходимо указать: фамилии и инициалы авторов (если авторов более 4, указываются первые 3 автора, затем ставится «и др.» в русском или «et al.» в английском в тексте). Авторы цитируемых источников должны быть указаны в том же порядке, что и в первоисточнике.

При ссылке на **статьи из журналов** после авторов указывают название статьи, название журнала, год, том, номер выпуска, страницы, DOI статьи (при наличии). При ссылке на **монографии** указывают также полное название книги, место издания, название издательства, год издания, число страниц.

Статьи, не соответствующие данным требованиям, к рассмотрению не принимаются.

Общие положения:

- Рассмотрение статьи на предмет публикации занимает не менее 8 недель.
- Все поступающие статьи рецензируются. Рецензия является анонимной.
- Редакция оставляет за собой право на редактирование статей, представленных к публикации.
- Редакция не предоставляет авторские экземпляры журнала. Номер журнала можно получить на общих основаниях (см. информацию на сайте).

Материалы для публикации принимаются по адресу онлайн на сайте <http://umo.abvpress.ru/jour>.

Полная версия требований представлена на сайте журнала.

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

<i>М.Л. Филипенко, У.А. Боярских, Н.Е. Кушлинский</i> Использование белка p53 как мишени для иммунотерапии онкологических заболеваний	8
<i>С.А. Кулева, О.Е. Савельева, И.А. Балдуева, К.М. Борокшинова, Е.А. Михайлова, Т.Л. Нехаева, А.А. Кулева, Е.М. Сенчуков</i> Локальный и системный иммунные профили при злокачественных новообразованиях	16
<i>Н.А. Сахарнов, О.В. Уткин, С.П. Дмитриев, Е.Н. Филатова, С.В. Зиновьев, Н.А. Суслов, С.В. Гамаюнов</i> Молекулярно-генетические факторы онкогенеза, ассоциированного с вирусом Эпштейна—Барр	30
<i>А.Р. Зарипова, М.А. Бермишева</i> Молекулярные механизмы костного метастазирования	46

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

<i>А.К. Нургалиева, К.А. Кузин, Т.И. Фетисов, Р.И. Князев, Т.А. Невзорова, М.Г. Якубовская, К.И. Кирсанов, Р.Г. Киямова</i> Повышенный уровень экспрессии гена <i>MUC16</i> как потенциальный прогностический и предиктивный маркер рака яичников	62
<i>М.В. Немцова, М.В. Макарова, М.М. Бяхова, А.М. Данишевич, О.С. Мишина, М.С. Беленикин, А.А. Криницина, О.В. Сагайдак, А.Б. Семенова, Ч.В. Бабаджанова, М.Ю. Шаталова, Н.А. Бодунова, И.Е. Хатьков, В.Н. Галкин, С.М. Гаджиева</i> Спектр герминальных патогенных вариантов у российских пациенток с диагностированным раком молочной железы, выявленный по результатам полногеномного секвенирования	72
<i>В.В. Цепенко, Г.Ф. Михайлова, В.Н. Черкесов, А.П. Шинкаркина, В.М. Макачук, А.В. Мурзаева, С.А. Иванов</i> Асинхронная репликация генов <i>AURKA</i> и <i>TP53</i> у больных со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта в отдаленный период после лечения	86
<i>O.S. Fedyanina, A.O. Zakirova, A.I. Khamidullina, A.N. Khvastunova, I.V. Grebennik, A.V. Filatov, S.A. Kuznetsova</i> Enzyme-enhanced immunocytochemical detection of cytoplasmic proteins in human leukocytes sorted by surface antigens using anti-CD antibody microarray	93
<i>Н.Д. Бакиров, Ж.Т. Исакова, Б.Б. Тайлаков, В.Н. Кипень, А.К. Тойгонбеков, Э.Э. Омурбаев, Р.А. Рамалданов</i> Роль полиморфных вариантов генов <i>ERCC1</i> и <i>ERCC2</i> в развитии рака желудка в кыргызской популяции	103

REVIEWS

<i>M.L. Filipenko, U.A. Boyarskikh, N.E. Kushlinskii</i> Targeting p53 for immunotherapy of solid tumors	8
<i>S.A. Kulyova, O.E. Savelieva, I.A. Baldueva, K.M. Borokshinova, E.A. Mikhaylova, T.L. Nekhaeva, A.A. Kulyova, E.M. Senchurov</i> Local and systemic immune profiles in tumors	16
<i>N.A. Sakharov, O.V. Utkin, S.P. Dmitriev, E.N. Filatova, S.V. Zinovev, N.A. Suslov, S.V. Gamayunov</i> Molecular genetic factors of oncogenesis associated with the Epstein–Barr virus	30
<i>A.R. Zaripova, M.A. Bermisheva</i> Molecular mechanisms of bone metastasis	46

EXPERIMENTAL REPORTS

<i>A.K. Nurgalieva, K.A. Kuzin, T.I. Fetisov, R.I. Knyazev, T.A. Nevzorov, M.G. Yakubovskaya, K.I. Kirsanov, R.G. Kiyamova</i> High MUC16 gene expression levels as a potential prognostic and predictive marker in ovarian cancer	62
<i>M.V. Nemtsova, M.V. Makarova, M.M. Byakhova, A.M. Danishevich, O.S. Mishina, M.S. Belenikin, A.A. Krinitsina, O.V. Sagaydak, A.B. Semenova, Ch.V. Babadzhanova, M.Yu. Shatalova, N.A. Bodunova, I.E. Khatkov, V.N. Galkin, S.M. Gadzhieva</i> Germline pathogenic variants in Russian breast cancer patients revealed by whole-genome sequencing	72
<i>V.V. Tsepenko, G.F. Mikhaylova, V.N. Cherkesov, A.P. Shinkarkina, V.M. Makarchuk, A.V. Murzaeva, S.A. Ivanov</i> Asynchronous replication of AURKA and TP53 genes in patients with gastrointestinal tumors at the distant period after treatment	86
<i>O.S. Fedyanina, A.O. Zakirova, A.I. Khamidullina, A.N. Khvastunova, I.V. Grebennik, A.V. Filatov, S.A. Kuznetsova</i> Enzyme-enhanced immunocytochemical detection of cytoplasmic proteins in human leukocytes sorted by surface antigens using anti-CD antibody microarray	93
<i>N.D. Bakirov, Zh.T. Isakova, B.B. Tailakov, V.N. Kipen, A.K. Toigonbekov, E.E. Omurbaev, R.A. Ramaldanov</i> The role of polymorphic variants of the ERCC1 and ERCC2 genes in the development of gastric cancer in the Kyrgyz population	103

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-8-15>

Использование белка p53 как мишени для иммунотерапии онкологических заболеваний

М.Л. Филипенко¹, У.А. Боярских¹, Н.Е. Кушлинский²¹ФГБУ «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук»; Россия, Новосибирск 630090, ул. Академика Лаврентьева, 8;²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24**Контакты:** Максим Леонидович Филипенко mlfilipenko@gmail.com

В солидных опухолях соматические мутации чаще всего встречаются в гене *TP53*, что приводит к образованию опухоль-специфического антигена p53 за счет гиперэкспрессии p53 дикого типа (WT-p53) или образования мутант-специфических неопептидов (MUT-p53). Таким образом, белок p53 является перспективной мишенью для иммунотерапии.

В статье обобщены клинические и иммунологические данные по вакцинным стратегиям, нацеленным на p53. Показано, что вакцинация WT-p53 воспроизводимо индуцирует p53-специфические Т-клеточные ответы и безопасна, однако ее клиническая эффективность в монорежиме ограничена. Ключевыми проблемами являются центральная толерантность, низкая плотность комплексов p53-HLA (HLA – человеческие лейкоцитарные антигены) на поверхности опухолевых клеток, иммуносупрессивное микроокружение и вариабельность HLA. Для мутантных форм p53 валидированы иммуногенные эпитопы, но клинические исследования вакцин II фазы пока отсутствуют. Перспективы повышения эффективности p53-вакцин связаны с использованием комбинированных подходов (использование ингибиторов контрольных точек иммунитета, адъювантов), точной стратификацией пациентов, а для MUT-p53 – с применением TCR-технологий (TCR – Т-клеточные рецепторы) и разработкой персонализированных схем.

Ключевые слова: белок p53, солидная опухоль, терапевтическая вакцина, соматическая мутация, неоантиген, человеческий лейкоцитарный антиген, HLA

Для цитирования: Филипенко М.Л., Боярских У.А., Кушлинский Н.Е. Использование белка p53 как мишени для иммунотерапии онкологических заболеваний. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(1):8–15.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-8-15>

Targeting p53 for immunotherapy of solid tumors

M.L. Filipenko¹, U.A. Boyarskikh¹, N.E. Kushlinski²¹Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; 8 Akademika Lavrentieva St., Novosibirsk 630090, Russia;²N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia**Contacts:** Maksim Leonidovich Filipenko mlfilipenko@gmail.com

The most common somatic mutations in solid tumors affect the *TP53* gene, leading to the formation of the tumor-specific p53 antigen through overexpression of the wild-type antigen (WT-p53) or the generation of mutant-specific neoepitopes (MUT-p53). Thus, the p53 protein is a promising target for immunotherapy. This article summarizes clinical and immunological data on p53-targeting vaccine strategies. Vaccination against WT-p53 is shown to reproducibly induce p53-specific T-cell responses and has a favorable safety profile; however, its clinical efficacy as a monotherapy is limited. Key challenges include central immune tolerance to WT-p53 epitopes, low density of p53 peptide-HLA complexes on the tumor cell surface, an immunosuppressive tumor microenvironment, and HLA (HLA – human leukocyte antigens) heterogeneity. For mutant p53, specific immunogenic epitopes have been validated, yet phase II clinical trials of vaccines targeting frequent p53 mutations are still lacking. Future prospects for enhancing the efficacy of p53-targeted vaccines

lie in combination strategies (e.g., with immune checkpoint inhibitors, adjuvants), precise patient stratification, and for mutant p53, the application of TCR-based (TCR – T-cell receptor) technologies and the development of personalized neoantigen selection platforms.

Keywords: p53 protein, solid tumor, therapeutic vaccine, somatic mutation, neoantigen, human leukocyte antigen, HLA

For citation: Filipenko M.L., Boyarskikh U.A., Kushlinsky N.E. Targeting p53 for immunotherapy of solid tumors. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2026;13(1):8–15.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-8-15>

ВВЕДЕНИЕ

Нарушения в гене *TP53* — самые частые генетические события в опухолевых клетках. Мутации в данном гене обнаруживают более чем в 50 % первичных опухолей человека [1]. Это стимулирует поиск иммунотерапевтических подходов, которые могли бы избирательно распознавать опухолевые клетки на основе экспрессии p53 и его неопитопов [2]. За последние 10 лет именно иммунологические лекарственные подходы, основанные на применении ингибиторов контрольных точек иммунитета, обеспечили наиболее выраженные и стойкие ответы на терапию у некоторых пациентов. Однако далеко не все опухоли отвечают на иммунотерапию, что связано с ограниченной специфической активацией Т-клеток, иммуносупрессивным опухолевым окружением и гетерогенностью опухолевых антигенов. Терапевтические вакцины против опухолевых антигенов способны усилить действие ингибиторов контрольных точек, благодаря активации Т-клеточного звена противоопухолевого иммунного ответа [3]. Белок p53 является уникальным опухолевым антигеном: с одной стороны, он часто аномально стабилизирован и гиперэкспрессирован в опухолях, что способствует формированию пула иммунологически таргетируемых нормальных пептидов, с другой стороны, мутантные формы p53 создают неопитопы, качественно новые детерминанты для иммунной системы, которых нет в нормальных тканях [4].

Цель работы — обобщить состояние и клиническую готовность стратегий, использующих p53 в качестве мишени для иммунотерапии солидных опухолей.

РОЛЬ P53 В НОРМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ И ПРИ ОНКОГЕНЕЗЕ

Белок p53, кодируемый геном *TP53*, является одним из наиболее важных супрессоров опухолей в клетке человека. Он играет главную роль в поддержании геномной стабильности, регулируя клеточный цикл, репарацию ДНК, апоптоз и клеточное старение в ответ на стрессовые сигналы, такие как повреждение ДНК, гипоксия или онкогенный стресс [5]. Путь p53 может реагировать на клеточный стресс остановкой клеточного цикла в фазах G1 и G2, опосредуя любой из 5 вариантов клеточной гибели.

В нормальных условиях уровень p53 в клетке остается низким, благодаря его постоянной деградации,

опосредованной E3-убиквитинлигазой MDM2. При клеточном стрессе p53 стабилизируется, фосфорилируется и ацетируется, что приводит к усилению его транскрипционной активности. Активированный p53 регулирует экспрессию сотен генов, включая *p21* (ингибитор циклинзависимых киназ), *BAX* (проапоптотический белок), *PUMA* и *NOXA*, что останавливает клеточный цикл или инициирует апоптоз [6]. Однако в опухолях нормальная функция p53 часто нарушается. Более 50 % всех солидных опухолей человека содержат мутации в гене *TP53*, а при некоторых типах рака (например, при серозном раке яичников высокой степени злокачественности, трижды негативном раке молочной железы, плоскоклеточном раке легкого) частота мутаций превышает 80 % [2]. Инактивация p53 происходит за счет соматических мутаций или увеличения экспрессии негативных регуляторов MDM2/MDM4, вирусных онкобелков (например, E6 вируса папилломы человека), эпигенетической супрессии или нарушения паттерна посттрансляционных модификаций. Потеря функции p53 позволяет опухолевым клеткам избежать апоптоза, продолжать деление при поврежденной ДНК и накапливать дополнительные мутации, что способствует прогрессии опухоли, метастазированию и устойчивости к терапии [6].

СПЕКТР МУТАЦИЙ ГЕНА *TP53* В РАЗЛИЧНЫХ ОПУХОЛЯХ

Ген *TP53* расположен на хромосоме 17p13.1 и содержит 11 экзонов. Большинство мутаций (>90 %) локализованы в экзонах 5–8, кодирующих ДНК-связывающий домен (DBD) белка [7]. Миссенс-мутации приводящие к замене одной аминокислоты, часто нарушающей структуру DBD и способность p53 связываться с ДНК, встречаются чаще всего. По результатам репрезентативных исследований и согласно базам данных, доля миссенс-мутаций *TP53* в злокачественных опухолях человека составляет 70–80 % [1]. Около 30 % всех *TP53*-мутаций приходится на классические часто встречающиеся мутации в 6 кодонах: R175, G245, R248, R249, R273 и R282 (приводят к заменам аминокислот R175H, G245S, R248Q/W, R249S, R273C/H и R282W соответственно) [8].

Реже встречаются нонсенс-мутации, инсерции и делеции, приводящие к образованию нефункциональных укороченных форм p53. По данным базы

Международного агентства по изучению рака (International Agency for Research on Cancer, IARC) TP53, в 2024 г. зарегистрировано более 80 тыс. соматических мутаций в гене *TP53* в опухолях человека [9]. Мутации в *TP53* классифицируются на структурные мутации (вызывающие конформационные изменения (например, R175H, R249S и R282W)), контактные мутации, которые изменяют способность транскрипционного фактора p53 взаимодействовать со своими сайтами связывания в промоторах генов-мишеней (R248W и R273W), и инактивирующие мутации, вызывающие утрату полноценного p53 [7].

Распределение мутаций зависит от типа опухоли и вызывающих их этиологических факторов. Например, для рака легкого характерны мутации V157F и R158L (связано с курением) [10], для рака печени — R249S, что ассоциировано с воздействием афлатоксина B1 [11], для рака молочной железы — R175H, R248Q, R273H, для рака яичников — R273H, R248Q, для колоректального рака — R248W, R273H, R175H [9]. Так называемые GOF-мутации (gain-of-function) придают p53 новые функции, способствуя инвазии, метастазированию и устойчивости опухоли к химиотерапии [5]. Например, мутантные формы R175H и R273H активируют транскрипционный ядерный фактор κB, рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) и другие проканцерогенные пути. Высокая частота встречаемости мутаций p53 при различных типах опухолей обуславливает возможность разработки универсальных терапевтических вакцин, основанных на неоантигенах, определяемых этими мутациями.

ИММУНОГЕННОСТЬ ПЕПТИДОВ p53: ДИКИЙ ТИП, МУТАНТНЫЕ И МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ФОРМЫ

Несмотря на то что p53 является собственным белком организма, при онкологических заболеваниях он часто сверхэкспрессируется в опухолевых клетках, что делает его потенциальной мишенью для иммунной системы. В норме клетка содержит около 2×10^4 – 2×10^5 молекул p53 (в зависимости от клеточной линии) [12]. При генотоксическом стрессе концентрация p53 дикого типа (WT-p53) на короткое время увеличивается в 1,25–5 раз [13]. При злокачественной трансформации мутации в гене *TP53* (MUT-p53, например R175H, R248Q/W, R273H/C) приводят к стабилизации белка за счет нарушения его связывания с MDM2/MDMX, взаимодействия с шаперонами и других механизмов. В работах с использованием методов молекулярной визуализации уровни MUT-p53 были на порядок выше базального уровня WT-p53 и составили более 10^5 – 10^6 молекул на клетку [14].

Пептиды WT-p53, представленные молекулами главного комплекса гистосовместимости классов I (MHC I) и II (MHC II), распознаются Т-клетками, несущими WT-p53-специфичные Т-клеточные рецепторы (TCR). Такие Т-клетки были обнаружены

как у здоровых доноров, так и у онкологических пациентов, что говорит о частичной иммунной толерантности к этому белку [15]. Наиболее изученными WT-p53-эпитопами являются пептиды p53_{149–157} (STPPPGTRV), p53_{264–272} (LLGRNSFEV), p53_{139–147} (RMPEAAPV) для аллеля HLA-A*02:01 [16–19] и p53_{125–134} (AYVEGSDLII) — для HLA-A*24:02 [20]. Эти пептиды стимулируют образование специфических CD8⁺-Т-клеток *in vitro* и *in vivo*, однако их иммуногенность ограничена из-за центральной толерантности (удаление Т-клеток с высокоаффинными TCR в тимусе) и низкой аффинности к МНС. Слабое связывание описанных пептидов WT-p53 и иммунное редактирование снижают клиническую эффективность, мотивируют исследователей модифицировать эпитопы и искать пути усиления их презентации [21]. Изменения в механизмах протеолиза и презентации антигенов у опухолевых клеток, включающие модуляцию активности протеасом, TAP, ERAP1/2, HLA I/β2M/NLRC5 и другие, значительно изменяют набор пептидов p53, которые презентуются на поверхности клетки в составе HLA-комплекса [22]. Согласно результатам исследований лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (TIL) (например, при раке яичников), спектр «видимых» Т-клетками WT-p53-эпитопов варьирует между опухолями, что является совместным эффектом экспрессии p53, типа мутации в гене *TP53* и состояния антигенпрезентирующего молекулярного пути [23]. Таким образом, можно предположить значительную вариабельность возможной эффективности терапевтических вакцин, основанных на пептидах WT-p53.

Помимо гиперэкспрессируемых WT-p53-антигенов мутации в *TP53* могут генерировать неоантигены — пептиды, которых нет в нормальных клетках. Эти пептиды обладают более высокой иммуногенностью, так как не подвержены центральной толерантности. Рассмотрим в этом контексте наиболее часто встречающиеся несинонимичные замены аминокислот p53.

Мутация R175H является одной из наиболее часто детектируемых в различных солидных опухолях: ~5 % всех мутаций в гене *TP53* приходится именно на R175H. Для указанной мутации описан минимальный HLA-A*02:01-зависимый CD8-эпитоп p53_{168–176} (NMTEVVRHC). Продemonстрировано, что различные типы TCR специфично узнают мутантный пептид p53_{168–176} [24]. Функциональность данного эпитопа доказана с помощью кристаллографии комплексов TCR-pMHC и структур HLA-A2 с WT/Mut-пептидами, масс-спектрометрического анализа HLA-комплексов из клеток, экспрессирующих p53-R175H, а также в ходе работ по созданию TCR-инженерных Т-клеток (TCR-T) и антител, имитирующих Т-клеточный рецептор (TCR-m) [25–27]. Помимо МНС I-зависимого иммунного ответа p53-R175H индуцирует МНС II-ответ; так у пациентов с эпителиальными опухолями были выделены CD4⁺-Т-клетки специфичные для p53-R175H в комплексе с HLA-DRB1*13:01 [28]. Тем не менее

плотность специфических комплексов p53-R175H-пептидов и МНС низкая, что требует высокой чувствительности терапевтического распознавания (TCR-m, TCR-T, armored-подходы) [27].

Частые мутации p53 G245 и R248 также обладают иммуногенностью. Показано, что пептиды p53^{245–254} (GMNQRPIIT) и p53^{245–254} GMNWRPIIT, которые генерируются мутациями R248Q и R248W соответственно, существенно стабилизировали комплекс HLA-A*02:01 в клетках T2 (лимфобластоидной клеточной линии с дефицитом TAP2) и вызывали *ex vivo* CD8⁺-Т-клеточные реакции у некоторых пациентов и доноров с HLA-A*02:01. Примечательно, что описанные эффекты не наблюдались для пептидов — производных мутации R175H [29]. Результаты еще одного исследования показали, что длинный пептид p53 с мутацией R248W, центрированный вокруг позиций 240–254, вызывает образование специфических CD8⁺- и CD4⁺-Т-клеток у A2/DR1-гуманизированных мышей и *ex vivo* у человека [30]. Мутант-специфичные G245S CD4⁺-Т-клетки обнаружены в TIL яичника (HYNMCMNSSCMGSMN, HLA-DRB3*02:02) [23].

В процессе высокопроизводительного TIL-скрининга у пациентов с эпителиальными опухолями идентифицированы мутант-специфичные Т-клетки для R273C/H и R282W (ограниченные различными аллелями HLA I и HLA II) [28]. Пептид p53^{264–742} (LLGRNSFEV), содержащий мутацию R273H, был охарактеризован как иммуногенный неопитоп у больных с карциномой пищевода. Т-клетки, нагруженные этим пептидом, вызывали секрецию интерферона γ специфическими CD8⁺-Т-клетками, которые стимулировали их лизис [31].

Еще одна часто встречающаяся мутация p53 — Y220C — является валидированным неопитопом для CD4⁺- и CD8⁺-Т-клеток. Результаты исследования D.C. Deniger и соавт. показали, что TIL-культуры пациентов распознают содержащие Y220C пептиды p53^{217–225} (VVPCEPPEV) в контексте A*02:01 (CD8⁺) и p53^{211–225} (NTFRHSVVPCEPPE) в контексте DRB3*02:02 (CD4⁺), при этом частота встречаемости специфичных клонов в активированном пуле TIL доходила до нескольких десятков процентов [23]. Специфичные для p53 Y220C CD4⁺-клетки также обнаружены при HLA-DRB1*04:01 [28].

Более редкие соматические мутации p53 могут представлять интерес для разработки персонализированных вакцин, например на основе технологий синтетических матричных РНК (мРНК), несущих специфические потенциально иммуногенные для пациента неопитопы, выявленные в результате таргетного или экзомного секвенирования нового поколения ДНК или мРНК опухолевых клеток. Однако не все мутантные пептиды p53 иммуногенны, многие связываются с МНС с низкой эффективностью или не распознаются TCR.

Для усиления иммуногенности могут быть использованы нативные и мутантные пептиды p53 с замена-

ми аминокислот, повышающими аффинность к МНС или TCR. Например, в контексте аллеля HLA-A2 Y220C-неоэпитоп VVPCEPPEV обеспечивает сравнительно низкую стабильность комплекса пептида и HLA. В 2023 г. предложено ввести замену валина на лейцин в позицию P2 (VLPCEPPEV или TP53-Y220C—L2) [32]. Это повысило аффинность и стабильность связывания модифицированного пептида с HLA-A*02:01, усилило индукцию Y220C-специфичных CTL *in vitro* и подавление опухоли *in vivo* по сравнению с нативным Y220C-пептидом. Авторы предлагают использовать этот пептид как основу для дендритно-клеточных и пептидных вакцин.

Для пептида p53^{149–157} замена T>L в позиции 2 (STPPPGTRV → SLPPPGTRV) увеличивает аффинность к HLA-A*02:01 и усиливает CTL-ответ [33], для p53^{264–272} замена F>Y и V>I (LLGRNSFEV → LLGRNSYEI) усиливает стабильность комплекса пептида с МНС и его иммуногенность [17]. С развитием нейросетевого моделирования взаимодействия МНС с пептидами такой подход, как направленная модификация неопитопов, может существенно повысить эффективность противоопухолевых вакцин.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ВАКЦИНАЦИИ БЕЛКОВЫМИ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМИ P53

Уже в начале 2000-х годов данные, полученные в ходе клинических исследований, показали реализуемость иммунного нацеливания на WT-пептиды p53: вакцинация дендритными клетками (DC), нагруженными p53-пептидами, была безопасной и индуцировала p53-специфические Т-клеточные ответы у больных с солидными опухолями; при этом сравнивались разные режимы доставки антигена (прямые инъекции пептидов против DC-терапии) у пациентов с HLA-A*02 [33]. Несмотря на ограниченную эффективность использованного подхода в «трудных» когортах, полученные результаты заложили основу для дальнейших исследований. Последующие клинические испытания были направлены на поиск путей повышения иммунного ответа против p53 с помощью применения адъювантов, использования длинных пептидов классов I и II для расширения Т-клеточного спектра, а также вирусных векторов для доставки антигенов.

К настоящему моменту проведены более 30 клинических испытаний I/II фазы с целью оценки безопасности и эффективности вакцинации белковыми последовательностями WT-p53. Результаты клинических исследований II фазы, посвященных анализу вакцин, нацеленных на WT-p53, представлены в табл. 1. Сегодня нет положительных результатов испытаний III фазы вакцин против p53. Вакцинация полноразмерным WT-p53 или его пептидами демонстрирует иммуногенность (индукцию p53-специфических Т-клеток) в клинических исследованиях I/II фазы.

Эффективность таких вакцин не очень высока у предлеченных пациентов с рецидивами опухолевых заболеваний (как правило, у меньшей части больных наблюдаются стабилизация заболевания и отсутствие благоприятного влияния на выживаемость в рандомизированном дизайне) [21].

Попытки усилить иммунный ответ низкими дозами циклофосфида или комбинацией с вирусной терапией приводят к повышению иммунных ответов, однако убедительные данные о клинической эффективности такой терапии на данный момент ограничены неболь-

шими группами пациентов [34]. Ни одна WT-p53-вакцина не показала статистически значимого улучшения показателей выживаемости в рамках клинических исследований фазы II, что препятствует проведению испытаний фазы III. В большинстве программ используются комбинации анти-PD-1/PD-L1- (PD-1 — рецептор программируемой клеточной гибели 1, PD-L1 — лиганд-1 рецептора программируемой клеточной гибели), химио- и лучевой терапии и неоантигенных стратегий (в том числе TCR-/TCRm-подходы), которые проходят клинические исследования I/II фазы [21].

Таблица 1. Опубликованные клинические исследования II фазы вакцин, нацеленных на p53 дикого типа (WT-p53)

Table 1. Published phase II clinical trials of wild-type p53-targeted vaccines (WT-p53)

Исследование Study	Антиген Antigen	Нозология Nosology	Число пациентов (фаза) Number of patients (phase)	Клинические данные Clinical data
[35]	WT-p53 SLP (10 перекрывающихся 25–30-мерных пептидов в позиции p53 _{70–248}) WT-p53 SLP (10 overlapping 25–30 amino acid long peptides covering residues p53 _{70–248})	Рецидив РЯ OC recurrence	20 (II)	У 2 (10 %) из 20 пациентов — стабилизация заболевания; клинический эффект ограничен In 2 (10 %) of 20 patients the disease stabilized; clinical effect is limited
[36]	WT-p53 SLP	Рецидив РЯ OC recurrence	20 (II)	Показатели выживаемости — без улучшения Survival rates without improvement
NCT00844506 [34]	WT-p53 SLP + циклофосфамид WT-p53 SLP + cyclophosphamide	Рецидив РЯ (повышен CA-125) OC recurrence (elevated CA-125)	12 (II)	У 2 пациентов стабилизация заболевания In 2 patients the disease stabilized
NCT00001827 [37]	WT-p53 _{264–272} (DC + пептид LLGRNSFEV) WT-p53 _{264–272} (DC + LLGRNSFEV peptide)	РЯ с высоким риском рецидива OC with high risk of recurrence	21 (II)	Низкая токсичность, время до прогрессии и показатели общей выживаемости — без улучшения Low toxicity, time to progression and overall survival without improvement
NCT00617409, NCT00776295, NCT00049218 [38]	Ad. p53-DC (аутологичные DC, трансфицированные WT-p53) Ad. p53-DC (autologous DC, transfected WT-p53)	Рецидив мелкоклеточного рака легкого после 1-й линии терапии Recurrence of small cell lung cancer after 1 st line therapy	78 (II)	Частота ответов не выше, чем при химиотерапии Response rate not higher than for chemotherapy
NCT03113487 [39]	p53MVA (вирусный вектор Modified Vaccinia Ankara (MVA), экспрессирующий WT-p53) + пембролизумаб p53MVA (Modified Vaccinia Ankara (MVA) viral vector, expressing WT-p53) + pembrolizumab	Рецидив РЯ OC recurrence	17 (II)	У 3 из 11 пациентов — длительная стабилизация заболевания (30–49 нед); профиль безопасности приемлемый In 3 of 11 patients, long-term (30–49 weeks) disease stabilization was achieved; safety profile is acceptable

Примечание. РЯ — рак яичников; SLP — синтетические длинные пептиды; DC — дендритные клетки.

Note. OC — ovarian cancer; SLP — synthetic long peptides; DC — dendritic cells.

На сегодняшний день результаты клинических исследований II фазы вакцин, направленных исключительно на MUT-p53-неоантигены, не опубликованы. Однако MUT-p53-антигены (включающие мутации R175H, R248Q/W, R273H/C, R282W) исследуются в составе мультиэпитопных панелей, которые содержат p53-эпитопы наряду с неоэпитопами других генов [30]. Например, пептидная вакцина IMA901 (Immatix, Германия), содержащая 10 опухоль-ассоциированных пептидов, включая p53_{149–157} для метастатического рака почек относительно успешно прошла клинические исследования II фазы (NCT01265901), и сейчас проводятся испытания III фазы (NCT00523159) [40, 41].

ОГРАНИЧЕНИЯ ИММУНОТЕРАПИИ НА ОСНОВЕ P53 И СТРАТЕГИИ ИХ ПРЕОДОЛЕНИЯ

Очевидной проблемой использования WT-p53-иммунизации является наличие центральной толерантности. Высокоаффинные TCR к эпитопам WT-p53 частично удаляются в тимусе, это проявляется наличием иммуногенности и ограниченной клинической пользой вакцин при монотерапии [21]. Даже при высокой экспрессии белка представленный в комплексе с МНС пул p53-пептидов часто невелик (из-за ограничения протеолиза, конкуренции пептидов за связывание и HLA-аффинности). Так, для мутации R175H было показано натуральное представление эпитопа p53_{168–176} (HMTEVVRHC) в контексте HLA-A*02:01 [42], однако авторы отмечают чрезвычайно низкую плотность комплексов «пептид–МНС»; для преодоления этого ограничения используют биспецифическое антитело (TCRm/TCR-T).

Опухоли часто имеют дефекты пути процессинга и презентации антигенов, что уменьшает или смещает репертуар p53-эпитопов. Это один из центральных путей ускользания от иммунного ответа [43]. Ранее также было показано, что редактирование эпитопов протеазами может играть большую роль в их дальнейшей представленности. Гиперактивность ERAP1/2ERAP1, которые укорачивают пептиды до 8–10 а. о., приводит к потере отдельных эпитопов, а дисрегуляция иммунопротеасомы меняет С-концы и спектр пептидов [44].

Большое влияние на репертуар представленных пептидов оказывают HLA-рестрикция и вариабельность генетики пациентов. Результаты скринингов TIL показывают высокую, но неоднородную иммуногенность распространенных мутаций в TP53 для нескольких валидированных HLA-аллелей.

Сегодня одним из самых эффективных способов защиты опухолевых клеток от иммунной системы считается формирование иммунодепрессивного микроокружения. Регуляторные Т-клетки, миелоидные супрессорные клетки, PD-1/PD-L1-сигналинг и другие

регуляторные воздействия подавляют реализацию p53-опосредованных индуцированных иммунных реакций [45].

Несмотря на скромные результаты клинических исследований, интерес к использованию WT-p53 и MUT-p53 в иммунотерапии не ослабевает. Вакцинация ими может быть частью комбинированных стратегий (использование адъювантов, ингибиторов контрольных точек, онколитических вирусов, химерных антигенных рецепторов (CAR) и TCR), что с большей вероятностью позволит преодолеть толерантность и иммунное подавление в микроокружении [21]. Например, таргетирование R175H/A*02:01-антигенами с двойной специфичностью к опухолевому антигену и комплексу TCR-CD3 эффективно активировало Т-клетки для лизиса раковых клеток. На этом фоне начаты ранние клинические исследования TCR-T-терапии против R175H/A2. Выявлено, что неоэпитопы WT-p53 могут служить лекарственными мишенями, обладающими высокой специфичностью по отношению к опухоли [42]. Другим примером таких подходов является применение вакцины NT-175, которая представляет собой аутологичные Т-клетки с выключением эндогенного TCR и гена β-рецептора трансформирующего фактора роста типа 2 (TGFB2) с добавлением TCR, распознающего R175H-p53 (в комплексе с HLA-A*02:01). В ходе этого клинического исследования (NCT05877599, I фаза), начатого в 2023 г., будут оценены безопасность и предварительная противоопухолевая активность NT-175 [46, 47].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании данных клинических исследований можно сделать вывод, что WT-p53 остается иммуногенной и безопасной мишенью, но не самодостаточной для достижения устойчивого клинического эффекта у предлеченных пациентов. Определены механизмы, ограничивающие эффективность иммунотерапии, нацеленной на WT-p53: центральная толерантность к эпитопам дикого типа, невысокая и вариабельная плотность комплекса «p53-пептид–HLA», нарушения процессинга антигенов, HLA-зависимость распознавания, иммуносупрессивная опухолевая микросреда. Эти факторы объясняют невысокую эффективность монотерапевтических вакцин при устойчивой иммуногенности.

Будущее, вероятно, за индивидуализированными вакцинами, содержащими WT-p53, и за их комбинацией с модифицированными клеточными терапевтическими технологиями (применение DC, CAR, TCR и др.), в том числе с ингибиторами контрольных точек иммунитета и другими модификаторами опухолевого иммунного микроокружения.

Л и т е р а т у р а / References

- Chen X., Zhang T., Xia Q. et al. Mutant P53 in cancer: from molecular mechanism to therapeutic modulation. *Cell Death Dis* 2022;13(11):974. DOI: 10.1038/s41419-022-05408-1
- Levine A.J. Spontaneous and inherited TP53 genetic alterations. *Oncogene* 2021;40(41):5975–83. DOI: 10.1038/s41388-021-01991-3
- Schumacher T.N., Scheper W., Kvistborg P. Cancer Neoantigens. *Ann Rev Immunol* 2019;37:173–200. DOI: 10.1146/annurev-immunol-042617-053402
- Hassin O., Oren M. Drugging p53 in cancer: one protein, many targets. *Nat Rev Drug Discov* 2023;22(2):127–44. DOI: 10.1038/s41573-022-00571-8
- Liu Y., Su Z., Tavana O. et al. Understanding the complexity of p53 in a new era of tumor suppression. *Cancer Cell* 2024;42(6):946–67. DOI: 10.1016/j.ccell.2024.04.009
- Marei H.E., Althani A., Affi N. et al. P53 signaling in cancer progression and therapy. *Cancer Cell Int* 2021;21(1):703. DOI: 10.1186/s12935-021-02396-8
- Baugh E.H., Ke H., Levine A.J. et al. Why are there hotspot mutations in the *TP53* gene in human cancers? *Cell Death Differ* 2018;25(1):154–60. DOI: 10.1038/cdd.2017.180
- De Andrade K.C., Mirabello L., Stewart D.R. et al. The TP53 database: transition from the international agency for research on cancer to the US National Cancer Institute. *Cell Death Differ* 2022;29(5):1071–3. DOI: 10.1038/s41418-022-00976-3
- International Agency for Research on Cancer. TP53 database. IARC, 2024. Available at: <https://p53.iarc.fr>
- Barta J.A., Pauley K., Kossenkov A.V. et al. The lung-enriched p53 mutants V157F and R158L/P regulate a gain of function transcriptome in lung cancer. *Carcinogenesis* 2020;41(1):67–77. DOI: 10.1093/carcin/bgz087
- Gouas D., Shi H., Hainaut P. The aflatoxin-induced TP53 mutation at codon 249 (R249S): biomarker of exposure, early detection and target for therapy. *Cancer Lett* 2009;286(1):29–37. DOI: 10.1016/j.canlet.2009.02.057
- Ma L., Wagner J., Rice J.J. et al. A plausible model for the digital response of p53 to DNA damage. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(40):14266–71. DOI: 10.1073/pnas.0501352102
- Stewart-Ornstein J., Lahav G. P53 dynamics in response to DNA damage vary across cell lines and are shaped by efficiency of DNA repair and activity of the kinase ATM. *Sci Signal* 2017;10(476):eaah6671. DOI: 10.1126/scisignal.aah6671
- Alakonya A., Hudson A., Klymchenko A.S. et al. Molecular Imaging of p53 in mouse models of cancer using a radiolabeled antibody TAT conjugate with SPECT. *J Nucl Med* 2024;65(10):1626–32. DOI: 10.2967/jnumed.124.267736
- Houbiers J.G., Nijman H.W., van der Burg S.H. et al. *In vitro* induction of human cytotoxic T lymphocyte responses against peptides of mutant and wild-type p53. *Eur J Immunol* 1993;23(9):2072–7. DOI: 10.1002/eji.1830230905
- Albers A.E., Ferris R.L., Kim G.G. et al. Phenotype of p53 wild-type epitope-specific t cells in the circulation of patients with head and neck cancer. *Sci Rep* 2018;8(1):1–9. DOI: 10.1038/s41598-018-29067-5
- Petersen T.R., Bregenholt S., Nissen M.H., Claesson M.H. Human p53(264–272) HLA-A2 binding peptide is an immunodominant epitope in DNA-immunized HLA-A2 transgenic mice. *Cancer Lett* 1999;137:183–91. DOI: 10.1016/s0304-3835(98)00353-x
- Röpke M., Regner M., Claesson M.H. T cell-mediated cytotoxicity against p53-protein derived peptides in bulk and limiting dilution cultures of healthy donors. *Scand J Immunol* 1995;42(1):98–103. DOI: 10.1111/j.1365-3083.1995.tb03631.x
- Umamo Y., Tsunoda T., Tanaka H. et al. Generation of cytotoxic T cell responses to an HLA-A24 restricted epitope peptide derived from wild-type p53. *Br J Cancer* 2001;84(8):1052–7. DOI: 10.1054/bjoc.2000.1715
- Eura M., Chikamatsu K., Katsura F. et al. A wild-type sequence p53 peptide presented by HLA-A24 induces cytotoxic t lymphocytes that recognize squamous cell carcinomas of the head and neck. *Clin Cancer Res* 2000;6(3):979–86.
- Zhou S., Zhao Z., Zhang M. et al. Clinical and immunological effects of p53-targeting vaccines. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:762196. DOI: 10.3389/fcell.2021.762796
- Zou Z., Wang Y., Chen L. et al. Current landscape of the immunoproteasome: implications for disease and therapy. *Cell Death Discov* 2025;11(1):1. DOI: 10.1038/s41420-025-02698-0
- Deniger D.C., Pasetto A., Robbins P.F. et al. T-cell responses to *TP53* ‘hotspot’ mutations and unique neoantigens expressed by human ovarian cancers. *Clin Cancer Res* 2018;24(22):5562–73. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0573
- Wu D., Liu Y., Zhang L. et al. Structural basis for oligoclonal T cell recognition of a shared p53 cancer neoantigen. *Nat Commun* 2020;11(1):2908. DOI: 10.1038/s41467-020-16755-y
- Chiang Y.T., Chng W.J., Li Z. et al. The function of the mutant P53-R175h in cancer. *Cancers (Basel)* 2021;13(16):4088. DOI: 10.3390/cancers13164088
- Li J., Li L., Liu Y. et al. The screening, identification, design and clinical application of tumor-specific neoantigens for TCR-T cells. *Mol Cancer* 2023;22(1):141. DOI: 10.1186/s12943-023-01844-5
- Tornesello M.L. TP53 mutations in cancer: molecular features and therapeutic opportunities (review). *Int J Mol Med* 2025;55(1):1–11. DOI: 10.3892/ijmm.2024.5448
- Malekzadeh P., Pasetto A., Robbins P.F. et al. Neoantigen screening identifies broad TP53 mutant immunogenicity in patients with epithelial cancers. *J Clin Invest* 2019;129(3):1109–14. DOI: 10.1172/JCI123791
- Hoyos D., Zappasodi R., Schulze I. et al. Fundamental immune–oncogenicity trade-offs define driver mutation fitness. *Nature* 2022;606(7912):172–9. DOI: 10.1038/s41586-022-04696-z
- Quandt J., Schlude C., Bartoschek M. et al. Long-peptide vaccination with driver gene mutations in p53 and Kras induces cancer mutation-specific effector as well as regulatory T cell responses. *Oncoimmunology* 2018;7(12):e1500671. DOI: 10.1080/2162402X.2018.1500671
- Yuan Y., Zhao Y., Qiu L. et al. Identification of shared neoantigens in esophageal carcinoma by the combination of comprehensive analysis of genomic data and in silico neoantigen prediction. *Cell Immunol* 2022;377:104554. DOI: 10.1016/j.cellimm.2022.104537
- Chasov V., Zmievskaya E., Ganeva I. et al. Anticancer therapeutic strategies for targeting mutant P53-Y220C. *J Biomed Res* 2024;38(3):222–32. DOI: 10.7555/JBR.37.20230093
- Svane I.M., Pedersen A.E., Johansen J.S. et al. Vaccination with P53 peptide-pulsed dendritic cells is associated with disease stabilization in patients with p53 expressing advanced breast cancer; monitoring of serum YKL-40 and IL-6 as response biomarkers. *Cancer Immunol Immunother* 2007;56(9):1485–99. DOI: 10.1007/s00262-007-0293-4
- Vermeij R., Leffers N., Hoogeboom B.N. et al. Potentiation of a P53-SLP vaccine by cyclophosphamide in ovarian cancer: a single-arm phase II study. *Int J Cancer* 2012;131(5):E670–80. DOI: 10.1002/ijc.27388
- Leffers N., Lambeck A.J., Gooden M.J. et al. Immunization with a p53 synthetic long peptide vaccine induces p53-specific immune responses in ovarian cancer patients, a phase II trial. *Int J Cancer* 2009;125(9):2104–13. DOI: 10.1002/ijc.24597
- Leffers N., Vermeij R., Hoogeboom B.N. et al. Long-term clinical and immunological effects of p53-SLP® vaccine in patients with ovarian cancer. *Int J Cancer* 2012;130(1):105–12. DOI: 10.1002/ijc.25980
- Rahma O.E., Ashtar E., Czystowska M. et al. A gynecologic oncology group phase II trial of two p53 peptide vaccine approaches:

- subcutaneous injection and intravenous pulsed dendritic cells in high recurrence risk ovarian cancer patients. *Cancer Immunol Immunother* 2012;61(3):373–84. DOI: 10.1007/s00262-011-1100-9
38. Chiappori A.A., Williams C.C., Gray J.E. et al. Randomized-controlled phase II trial of salvage chemotherapy after immunization with a TP53-transfected dendritic cell-based vaccine (Ad.P53-DC) in patients with recurrent small cell lung cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2019;68(3):517–27. DOI: 10.1007/s00262-018-2287-9
 39. Chung V., Kos F.J., Jones S. et al. Evaluation of safety and efficacy of P53MVA vaccine combined with pembrolizumab in patients with advanced solid cancers. *Clin Transl Oncol* 2019;21(3):363–72. DOI: 10.1007/s12094-018-1932-2
 40. Walter S., Weinschenk T., Stenzl A. et al. Multi-peptide immune response to cancer vaccine IMA901 after single-dose cyclophosphamide associates with longer patient survival. *Nat Med* 2012;18(8):1254–61. DOI: 10.1038/nm.2883
 41. Rini B.I., Stenzl A., Zdrojowy R. et al. IMA901, a multi-peptide cancer vaccine, plus sunitinib versus sunitinib alone, as first-line therapy for advanced or metastatic renal cell carcinoma (IMPRINT): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016;17(11):1599–611. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30408-9
 42. Hsiue E.H.C., Wright K.M., Douglass J. et al. Targeting a neoantigen derived from a common *TP53* mutation. *Science* 2021;371(6533):eabc8697. DOI: 10.1126/science.abc8697
 43. Maggs L., Sadagopan A., Moghaddam A.S. et al. HLA class I antigen processing machinery defects in antitumor immunity and immunotherapy. *Trends Cancer* 2021;7(12):1089–101. DOI: 10.1016/j.trecan.2021.07.006
 44. Martín-Esteban A., Guasp P., Barnea E. et al. The ER aminopeptidases, ERAP1 and ERAP2, synergize to self-modulate their respective activities. *Front Immunol* 2022;13:1063324. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1066483
 45. Tufail M., Jiang C.H., Li N. Immune evasion in cancer: mechanisms and cutting-edge therapeutic approaches. *Signal Transduct Target Ther* 2025;10(1):10. DOI: 10.1038/s41392-025-02280-1
 46. Harrison C. TCR cell therapies vanquish solid tumors – finally. *Nat Biotechnol* 2024;42(10):1477–9. DOI: 10.1038/s41587-024-02435-5
 47. Tubb V., Foy S., Klatt M.G. et al. Non-clinical evaluation of NT-175, an autologous T cell product engineered to express an HLA-A*02:01-restricted TCR targeting TP53 R175H and resistant to TGF- β inhibition. *J Clin Oncol* 2024;42(16_suppl):2560. DOI: 10.1200/jco.2024.42.16_suppl.2560

Вклад авторов

М.Л. Филипенко: курирование проекта, написание текста статьи, редактирование;

У.А. Боярских: анализ данных литературы, написание текста статьи;

Н.Е. Кушлинский: консультирование по вопросам исследования, редактирование.

Authors' contributions

M.L. Filipenko: project curation, article writing, editing;

U.A. Boyarskikh: literature analysis, article writing;

N.E. Kushlinsky: research counseling, editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

М.Л. Филипенко / M.L. Filipenko: <https://orcid.org/0000-0002-8950-5368>

У.А. Боярских / U.A. Boyarskikh: <https://orcid.org/0000-0002-5660-2276>

Н.Е. Кушлинский / N.E. Kushlinsky: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-64-00028).

Funding. This work was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 24-64-00028).

Статья поступила: 07.11.2025. **Принята к публикации:** 30.12.2025. **Опубликована онлайн:** 16.03.2026.

Article submitted: 07.11.2025. **Accepted for publication:** 30.12.2025. **Published online:** 16.03.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-16-29>

Локальный и системный иммунные профили при злокачественных новообразованиях

С.А. Кулева^{1,2}, О.Е. Савельева², И.А. Балдуева¹, К.М. Борокшинова¹, Е.А. Михайлова¹, Т.Л. Нехаева¹, А.А. Кулева¹, Е.М. Сенчуров^{1,2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; Россия, 197758 Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, 68;

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России; 194100 Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

Контакты: Светлана Александровна Кулева Kulevadoc@yandex.ru

Иммунная система способна уничтожать опухоли, однако прогрессия злокачественного процесса свидетельствует о нарушении этого механизма. Анализ данных литературы о прогностическом эффекте различных Т-субпопуляций микроокружения опухоли показывает, что цитотоксические CD8⁺-Т-клетки и Т-клетки памяти, ассоциированные с типом Th1 иммунной реакции, коррелируют с благоприятным клиническим течением при большинстве изученных типах рака. Однако прогностическая ценность популяций Th2-, Th17- и Treg-клеток противоречива и варьирует в зависимости от типа и стадии злокачественного новообразования. В целом эти результаты убедительно свидетельствуют о том, что поведение опухоли следует рассматривать как результат баланса между инвазивным опухолевым процессом и скоординированной иммунной реакцией макроорганизма. У детей микроокружение солидных опухолей неоднородно, динамично и отличается от микроокружения неоплазий, встречающихся у взрослых. В связи с низкой мутационной нагрузкой опухолей для пациентов детского возраста характерен ограниченный набор неоантигенов, которые могли бы быть распознаны, а в опухолевом окружении представлено небольшое количество инфильтрирующих Т-клеток. Традиционная биопсия не всегда отражает гетерогенность опухоли, поэтому важно выполнять анализ периферической крови. Биомаркеры в крови позволяют проводить повторную оценку в разные моменты времени, они доступны, их забор менее инвазивен. Кроме того, эти биомаркеры могут предоставить больше информации об иммунном статусе и оказать помощь в оценке потенциала пациента для развития эффективного иммунитета против опухоли. Однако стоит учитывать, что в силу ряда причин при выходе клеток из опухоли в кровоток происходит изменение их фенотипа и биологических свойств, поэтому анализ циркулирующих клеток является лишь вспомогательным инструментом.

В обзоре представлен современный взгляд на иммунологический ландшафт злокачественных опухолей со сложной сетью различных клеточных популяций и взаимодействий между ними.

Ключевые слова: иммунный статус, иммуномониторинг, злокачественные новообразования, опухолевое микроокружение, системный иммунный ответ, иммунные клетки

Для цитирования: Кулева С.А., Савельева О.Е., Балдуева И.А. и др. Локальный и системный иммунные профили при злокачественных новообразованиях. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(1):16–29.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-16-29>

Local and systemic immune profiles in tumors

S.A. Kulyova^{1,2}, O.E. Savelyeva², I.A. Baldueva¹, K.M. Borokshinova¹, E.A. Mikhaylova¹, T.L. Nekhaeva¹, A.A. Kulyova¹, E.M. Senchurov^{1,2}

¹N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 68 Leningradskaya St., Pesochny Settlement, Saint Petersburg 197758, Russia;

²Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Health Russia; 2 Litovskaya St., Saint Petersburg 194100, Russia

Contacts: Svetlana Aleksandrovna Kulyova Kulevadoc@yandex.ru

The immune system is able to destroy tumors, but the progression of the malignant process indicates a violation of this mechanism. Analysis of literature data on the prognostic effect of different microenvironment T subpopulations shows that cytotoxic CD8⁺-T cells and memory T cells associated with Th1-type immune response correlate with good clinical course in most cancer types studied. On the other hand, the prognostic value of Th2, Th17 or Treg cell populations

is inconsistent and varies depending on the type and stage of malignancy. Overall, these results strongly suggest that tumor behavior should now be viewed as the result of a balance between an invasive tumor process and a coordinated macroorganism immune response. In children, the microenvironment of solid tumors is heterogeneous, dynamic, and distinct from the microenvironment of neoplasias found in adults. Due to the low mutation burden, tumors in children have a limited set of neoantigens that could be recognized, and a small number of infiltrating T cells are represented in their tumor environment. Traditional biopsy does not always reflect tumor heterogeneity, so the focus shifts to peripheral blood testing. Biomarkers in the blood allow reassessment at different time points, they are readily available and their sampling is less invasive for patients. In addition, they can provide more information on immune status and assist in assessing a patient's potential to develop effective immunity against a tumor. The article presents a modern view of immunological landscape of malignant tumors with a complex network of various cell populations and interactions between them.

Keywords: immune status, immunomonitoring, malignant neoplasms, tumor microenvironment, systemic immune response, immune cells

For citation: Kulyova S.A., Savelieva O.E., Baldueva I.A. et al. Local and systemic immune profiles in tumors. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2026;13(1):16–29.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-16-29>

ВВЕДЕНИЕ

Иммунный ответ представляет собой динамичное взаимодействие специализированных клеточных популяций, которые координируют свои действия путем непосредственного контакта и паракринной/эндокринной сигнализации, опосредованной цитокинами и другими растворимыми медиаторами.

Прогрессирование опухоли и ее молекулярные характеристики оказывают различное влияние на основные субпопуляции иммунных клеток. И наоборот, различные соотношения субпопуляций иммунных клеток и их поляризация или состояния активации могут по-разному влиять на прогрессию опухоли, ее ответ на терапию и выживаемость пациента.

Цель работы — рассмотреть особенности системной и местной иммунной среды при различных видах злокачественных опухолей.

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

До конца XX в. доминировала клеточная теория происхождения рака, известная как теория соматических мутаций, согласно которой опухоль — это клеточная патология, вызванная повреждением ДНК. Вследствие такой «клеточно-ориентированной» модели, опухолевые клетки автономны и функционируют независимо от своего микроокружения [1]. Со временем достижения в области молекулярной биологии опухолей позволили выявить недостатки данной модели [2]. Действительно, чрезвычайная сложность генома, разнообразие и огромное количество геномных изменений, наблюдаемых в клетках, а также нестабильность генома препятствуют созданию унифицированной, структурированной теории канцерогенеза [3].

В 2000 г. D. Hanahan и R.A. Weinberg предложили модифицировать «клеточно-ориентированную» модель [4]. Определены 6 приобретенных фенотипических поведенческих черт (отличительных признаков) злокачественной опухоли, вторичных по отношению

к геномным изменениям. В 2011 г. к ним добавлены функции перепрограммирования энергетического метаболизма (эффект Варбурга) и ускользания от иммунного надзора [5]. На смену парадигмы клеточной структуры пришло представление, согласно которому микроокружение является основным связующим звеном между опухолевыми клетками и иммунной системой и влияет на развитие рака [6].

Естественное развитие опухоли зависит от ее взаимодействия с защитными механизмами организма. Идея о том, что иммунная система может распознавать и устранять развивающиеся опухоли, постулируется уже более ста лет [7]. Эта концепция, получившая название «иммунный надзор за раком», в настоящее время доказана данными исследований с использованием клеточных культур и животных моделей [8, 9]. Позже эта концепция интегрирована в теорию иммунного редактирования рака, которая учитывает взаимодействие опухоли и иммунных клеток [10]. Если опухоль полностью не удастся элиминировать из организма, наступает временное состояние равновесия. Селективное давление, оказываемое иммунными клетками, вызывает отбор вариантов опухолевых клеток, что способствует установлению фазы побега. Во время этой фазы иммунная система больше не способна сдерживать рост опухоли, что приводит к развитию клинически обнаруживаемых злокачественных образований [11].

На принципах иммунного редактирования на сегодняшний день строится новая терапевтическая стратегия, предполагающая разработку комплекса прецизионных терапевтических вмешательств, адаптированных к специфике каждой фазы иммунного редактирования (контриммуноредактирующая терапия). Целью данных вмешательств является активное противодействие фазовому переходу из фазы элиминации в фазу побега или инверсия процесса иммунного редактирования. Вследствие этого опухоли, находящиеся в фазе побега,

переходят в фазу равновесия или элиминации, что позволяет осуществить целенаправленное терапевтическое воздействие.

МИКРООКРУЖЕНИЕ ОПУХОЛИ

Микроокружение опухоли представлено сложной экосистемой, включающей клеточный (стромальные, эпителиальные, нейроэндокринные, иммунные клетки), молекулярный (сигнальные молекулы) и сосудистый компоненты. Эти компоненты гетерогенны и динамичны, взаимодействуют друг с другом напрямую посредством межклеточного контакта или через секретруемые молекулы [5]. Микроокружение опухоли влияет на пролиферативную активность ее клеток и их резистентность к апоптозу, а также на интенсивность процессов ангиогенеза, воспаления, инвазии и метастазирования, способствующих развитию новообразования. Это открывает новые возможности для противоопухолевой терапии, которая может быть нацелена на элементы микроокружения опухоли или их сигнальные пути. Существует значительное терапевтическое преимущество в воздействии на микроокружение опухоли по сравнению с прямым воздействием на опухолевые клетки, поскольку они склонны к лекарственной устойчивости из-за нестабильности их генома, в то время как неопухолевые клетки в микроокружении генетически более стабильны и уязвимы для препаратов [12].

Иммунный компонент микроокружения опухоли.

Важным компонентом опухолевого микроокружения являются иммунные клетки: гранулоциты, лимфоциты и макрофаги. Они участвуют в различных иммунных процессах, включая воспалительные реакции, запускаемые опухолью для обеспечения собственного выживания.

Макрофаги. Наиболее распространенным типом иммунных клеток в опухолевом микроокружении являются макрофаги. Они играют двойственную роль, участвуя в различных анти- и проонкогенных процессах. Их фундаментальная особенность — высокие адаптивность и пластичность, проявляющаяся в двух основных формах: фенотипах M1 и M2. Фенотип макрофагов определяется получаемыми паракринными сигналами, а также характеристиками опухолевого микроокружения, включая тип ткани и стадию развития опухоли [13].

Макрофаги 2-го типа составляют до 45 % лейкоцитов, инфильтрирующих опухоль. Они дифференцируются в ответ на стимуляцию интерлейкинами (IL) 4, IL-10, IL-13, а также стероидными гормонами. Кроме того, ангиокринное воздействие IL-6 способствует альтернативной поляризации макрофагов и сдвигу в сторону M2-клеток. В отличие от моноцитарных клеток 1-го типа, стимулируемых интерфероном γ (IFN γ), которые продуцируют фактор некроза опухоли α (TNF- α), IL-12, оксид азота (NO) и активные формы кислорода и проявляют противоопухолевый

эффект за счет как прямой цитотоксичности, так и активации Th1-иммунного ответа, M2-макрофаги, напротив, потенцируют прогрессирование опухоли. Они синтезируют цитокины IL-1 β , -6, -8, металлопротеиназы и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), а также способствуют переключению с цитотоксического (Th1) иммунного ответа на гуморальный (Th2). Обогащение лейкоцитарной популяции, инфильтрирующей опухоль, данным типом клеток ассоциировано с высоким риском развития рецидива и низкой общей выживаемостью больных. Напротив, присутствие IFN γ -положительных клеток в инфильтрате приводит к усилению экспрессии лиганда 10 хемокина мотива C-X-C (CXCL10) клетками микроокружения опухоли, индукции спонтанного T-клеточного ответа и увеличению выживаемости [14].

Макрофаги выполняют разнообразные функции, которые связаны с развитием и прогрессированием рака. Так, они участвуют в интравасизации опухолевых клеток и могут подавлять противоопухолевые иммунные механизмы [15]. Получено много данных, свидетельствующих о том, что макрофаги могут способствовать диссеминированию циркулирующих опухолевых клеток, например в легкие, что может привести к развитию метастазов. Результаты многих исследований демонстрируют, что макрофаги, ассоциированные с опухолью, могут усиливать, опосредовать или противодействовать противоопухолевой активности облучения, цитотоксических агентов и ингибиторов контрольных точек [15].

Макрофаги M2 индуцируются противовоспалительными стимулами, например колониестимулирующим фактором 1, IL-4, -13 и -10. Этот подтип клеток вырабатывает такие противовоспалительные цитокины, как IL-10, глюкокортикоиды, TLR-ассоциированные лиганды (TLR — Toll-подобный рецептор) и трансформирующий фактор роста β (TGF- β), которые связаны с их различными функциями [16]. Известно, что они способны привлекать нейтрофилы и Th2-клетки, выделяя хемокин CCL17/18, который играет большую роль в гомеостазе [17]. Кроме того, данные клетки могут участвовать в фагоцитарной активности и способствовать ангиогенезу, восстановлению и ремоделированию тканей [18]. В свою очередь, условия, создаваемые макрофагами M1, могут также подготовить идеальную среду для провоспалительного микроокружения и тем самым потенциально оказать проопухолевое воздействие, как, например, при протоковой аденокарциноме поджелудочной железы [19]. Кроме того, они способствуют росту опухоли и метастазированию, вырабатывая матриксные металлопротеиназы, которые разрушают внеклеточный матрикс, облегчая инвазию раковых клеток, и ангиогенезу за счет выработки VEGF [20, 21].

Пластичность макрофагов во многом обеспечивается передачей сигналов от микроокружения ткани к ядерным компартментам этих клеток через мембран-

ные рецепторы и различные сигнальные пути, которые в совокупности приводят к перепрограммированию экспрессии генов в макрофагах [22]. В конечном счете это определяет фенотипические свойства макрофагов.

Клеточный паттерн иммунной системы. Несмотря на феномен ускользания от иммунной системы, солидные опухоли обычно инфильтрируются клетками врожденного (врожденные лимфоидные клетки, естественные киллеры (НК-клетки), НК-Т-, $\gamma\delta$ -Т-клетки, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы и тучные клетки) и адаптивного (Т-, В-лимфоциты и антигенпрезентирующие клетки (АПК)) иммунитета. На протяжении более 30 лет в ходе различных исследований оценивались качество, плотность и функциональная ориентация Т-клеток, инфильтрирующих опухоль. В настоящее время накоплены данные, свидетельствующие о положительной связи между плотностью внутриопухолевых лимфоцитарных инфильтратов в солидных образованиях и увеличением выживаемости пациентов [23].

Доказано также, что у иммунокомпрометированных пациентов сохраняется естественный противоопухолевый иммунный ответ, который работает против, казалось бы, нечувствительных к иммунной атаке опухолевых клеток. В ходе поиска механизмов, участвующих в дисфункции Т-клеток, выявлено, что их истощение, первоначально идентифицированное в CD8⁺-Т-клетках во время хронической инфекции (например, вирус иммунодефицита человека, гепатиты С и В), также происходит и при злокачественных опухолях [24]. На истощенных Т-клетках сверхэкспрессируются множественные ингибирующие рецепторы, включая рецептор программируемой клеточной гибели 1 (PD-1), цитотоксический антиген Т-лимфоцитов 4 (CTLA-4) и др. [25]. Важно отметить, что антитела, нацеленные на эти ингибирующие молекулы контрольных точек и блокирующие их, уже показали свою эффективность в лечении солидных опухолей [26]. Эти методы терапии положили начало новому, революционному направлению таргетной иммунотерапии.

Результаты клинических исследований продемонстрировали возможность усиления функции эндогенных противоопухолевых Т-клеточных ответов. Таким образом, CD8⁺-Т-клетки опухолевого микроокружения могут быть дисфункциональными не безвозвратно [27]. К сожалению, не всех пациентов можно излечить данными методами, поэтому необходимо определить прогностические маркеры эффективности стратегий иммунотерапии блокаторами контрольных иммунных точек. Глубокий анализ микроокружения, направленный на оценку опухолевого иммунного инфильтрата (типа, плотности, распределения в опухоли и статуса активации фенотипа), может стать главным тестом, коррелирующим с клиническим ответом на терапию.

Влияние иммунного компонента микроокружения опухоли на выживаемость пациентов. В 1931 г. W.C. MacCarty с помощью гистологического анализа срезов рака тол-

стой кишки, окрашенных гематоксилином и эозином, обнаружил, что сильный внутриопухолевый иммунный инфильтрат имеет положительную корреляцию с показателем выживаемости пациентов [28]. Это новаторское наблюдение позже было подтверждено не только при колоректальном раке [29, 30], но и при меланоме [31, 32], раке молочной железы [33] и других видах неоплазий. В 1986 г. J.R. Jass впервые продемонстрировал, что высокая плотность лимфоцитов, оцененная на гистологических срезах в инвазивном крае опухолей прямой кишки, является единственным показателем, который должен учитываться в многомерной прогностической модели наряду с классификацией Tumor, Nodus and Metastasis [34]. Данное наблюдение имело первостепенное значение, поскольку оно показало, что адаптивная иммунная реакция *in situ* является критической переменной, влияющей на общую выживаемость независимо от распространения опухоли. Это ставит под сомнение наше понимание естественной истории развития рака.

Последующая идентификация специфических маркеров и транскрипционных профилей позволила количественно оценить иммунные субпопуляции и определить их функциональную направленность. Для большинства солидных опухолей (злокачественные опухоли яичников [35], головы и шеи [36, 37], мочевого пузыря [38], молочной железы [39], печени [40], предстательной железы [41, 42], меланомы [43], легкого [44, 45], пищевода [46], толстой кишки [47–49]) продемонстрировано, что присутствие Т-клеток, экспрессирующих CD3 с CD8 или CD4, и CD45RO-положительных Т-клеток памяти связано с благоприятным прогнозом. Тем не менее получены противоречивые результаты при светлоклеточном почечно-клеточном раке [50, 51, 41], лимфоме Ходжкина и увеальной меланоме [52].

Th1-тип иммунных реакций. Th1-клетки играют ключевую роль в противоопухолевом ответе, связывая врожденную и адаптивную иммунные системы [53]. Эти клетки способствуют увеличению опухолеспецифичных CD8⁺-цитотоксических Т-клеток, индуцированных путем перекрестной презентации антигенных опухолевых пептидов на молекулах главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса I, представленных дендритными клетками (ДК) [54, 55]. Результаты исследований показали, что цитокин Th1-профиля IFN γ обладает антипролиферативным и/или проапоптотическим действием на опухолевые клетки [56, 57] и способностью повышать иммуногенность опухолевых клеток за счет активации компонентов процессинга и презентации антигена МНС класса I [58, 59]. Кроме того, IFN γ может приводить к стимулированию продукции макрофагами NO и супероксидного аниона [60, 61], а НК-клетки, активированные IFN γ , — элиминировать опухолевые клетки [62].

Транскриптомный анализ образцов колоректального рака подтвердил наличие сильной связи между

инфильтрирующим профилем опухоли, цитотоксическим и Th1-профилем иммунных клеток. Среди белков Th1-кластера отмечены фактор транскрипции T-bet (*TBX21*), регуляторный фактор IFN1 (*IRF1*) и сигнальный преобразователь и активатор транскрипции 1 (*STAT1*), цитокины IFN γ (*IFNG*) и IL12 (*IL12*), среди белков инфильтрирующего профиля — хемокины (*CXCL9*, *CXCL10*, *CCL5*, *CX3CL1* и *CCL2*), молекулы адгезии ICAM1, *MADCAM1* и *VCAM1*, среди протеаз цитотоксического профиля — гранзимы (GZMs — granzymes), перфорин 1 (*PRF1* — perforin-1) и гранулизин (*GNLY* — granulysin) [63, 64]. Таким образом, локальное присутствие IL-12 и IFN γ , хемоаттрактантов и молекул адгезии может привлекать в опухоль Т-клетки с профилями Th1, цитотоксические клетки и клетки памяти.

Выявлено, что генные сигнатуры Th1-профиля коррелируют с благоприятным прогнозом при колоректальном раке [55–67], а также при злокачественных опухолях молочной железы [68, 69], яичников [70] и меланоме [71]. Эти наблюдения согласуются с результатами многих исследований на мышиных моделях, показывающих, что дефицит генов, участвующих в Th1-типе иммунного ответа (например, *IFN γ* , *IFN γ R* и *IL12*), увеличивает частоту спонтанных или канцероген-индуцированных опухолей [72].

Th2-тип иммунных реакций. Данные о влиянии Th2-типа иммунных реакций на развитие злокачественных опухолей до сих пор противоречивы. Такие составляющие Th2-иммунитета, как Th2-цитокины (IL-4 и IL-13) и В-клетки, могут оказывать двойственное, разнонаправленное воздействие на прогрессирование опухоли [73–75]. Кроме того, выявлено, что эозинофилы уменьшают рост опухоли и инициируют противоопухолевую активность [76], а иммуносупрессивный цитокин IL-10 традиционно считается способствующим росту опухоли [77, 78]. Прогноз иммунной дифференцировки по Th2-типу при раке яичников [79], поджелудочной железы [80] и желудка [81] оценивался в ходе некоторых исследований, результаты которых также оказались противоречивыми. Th2-реакция связана с плохим прогнозом, и, наоборот, при раке молочной железы [82] и фолликулярной лимфоме или лимфоме Ходжкина [83] существует положительная связь между иммунным инфильтратом Th2 и высокими показателями выживаемости. Наконец, при колоректальном раке генная сигнатура Th2 не коррелировала с клиническим исходом [84].

Th17-клетки. Клетки Th17 в настоящее время признаны независимой от Th1 и Th2 субпопуляцией Т-клеток [85, 86]. Th17-клетки, продуцирующие IL-17 и IFN γ , вызывают воспаление и, следовательно, могут способствовать росту опухолевых клеток [87]. Они обнаружены в нескольких опухолях, но прогностическое значение, связанное с этим инфильтратом, варьирует в зависимости от типа рака. Например, клетки Th17

связаны с неблагоприятным прогнозом при колоректальной карциноме [88], раке легкого [89], гепатоцеллюлярной карциноме [90] и раке яичников [91], а при раке пищевода [92], наоборот, — с хорошим прогнозом. В целом выраженная внутриопухолевая инфильтрация Th17-клетками ассоциирована с более медленным прогрессированием рака предстательной железы [93], в то время как при гормонально-резистентной форме данного типа рака наблюдался противоположный эффект [94]. Эти противоречивые результаты могут быть связаны с пластичностью Th17-клеток: они могут обладать способностью редифференцироваться в супрессивные Treg-клетки (регуляторные Т-лимфоциты) или в качестве альтернативы — в Th1-подобные провоспалительные клетки, которые могут активировать цитотоксические иммунные эффекторы [95, 96].

Т-регуляторные клетки. Четвертой основной субпопуляцией CD4⁺-Т-клеток являются Treg-клетки [97]. Они могут подавлять функцию эффекторных Т-клеток и АПК путем либо межклеточного взаимодействия, либо высвобождения TGF- β и IL-10 — двух супрессивных цитокинов [98]. Прогностическое значение плотности Treg-клеток в опухоли до сих пор обсуждается. В работе T.J. Curiel и соавт. отмечена положительная корреляция присутствия большого количества FoxP3⁺-клеток в асците карциномы яичников со степенью распространения опухоли и снижением выживаемости [99]. Это отрицательное прогностическое значение также зарегистрировано при других солидных опухолях, например при раке поджелудочной железы [100], печени [101] и молочной железы [102]. На основании этих результатов выдвинута гипотеза о том, что присутствие естественных или индуцированных Treg-клеток в микроокружении может быть основным механизмом ускользания опухоли от цитотоксического иммунного ответа.

Благоприятный прогноз, связанный с высокой плотностью внутриопухолевых клеток FoxP3⁺, отмечен при фолликулярных лимфомах и лимфоме Ходжкина [103, 104], раке головы и шеи [105] и колоректальном раке [106–108]. Необходимы дополнительные исследования, поскольку фенотипические и функциональные маркеры, используемые в настоящее время для идентификации Treg-клеток, не являются полностью специфичными [109, 110].

Анализ данных литературы, посвященной прогностическому эффекту различных Т-субпопуляций, показывает, что цитотоксические CD8⁺-Т-клетки и Т-клетки памяти, ассоциированные с Th1-типом иммунной реакции, коррелируют с хорошим клиническим течением при большинстве изученных типов рака [111]. Однако прогностическая ценность популяций Th2-, Th17-или Treg-клеток противоречива и варьирует в зависимости от типа и стадии злокачественного процесса [112].

В целом результаты исследований убедительно свидетельствуют о том, что поведение опухоли зависит

от баланса между инвазивным опухолевым процессом и скоординированной иммунной реакцией макроорганов.

Опухолевое микроокружение у детей. У детей микроокружение солидных опухолей неоднородно, динамично и отличается от микроокружения неоплазий, встречающихся у взрослых. Успехов в применении таргетной иммунотерапии у пациентов детского возраста достичь не удалось, что связано с орфанностью заболеваний. Объединение различных исследовательских групп также не привело к разработке новых методов лечения и инициации рандомизированных клинических исследований. Одной из особенностей опухолей у детей является низкая мутационная нагрузка. Это влияет на этиопатогенез и особенности опухолевого микроокружения. У детей опухоли возникают из клеток-предшественников несамообновляющихся тканей (эмбриональных и фетальных), которые характеризуются небольшим количеством мутаций. Таким образом, геномные изменения и механизмы развития опухолей у детей и взрослых различны и нередко обусловлены не накоплением соматических генных мутаций, а эпигенетической дисрегуляцией транскрипции генов [113]. У детей часто наблюдаются уникальные генетические мутации, которые не встречаются во взрослой когорте [114].

В связи с низкой мутационной нагрузкой опухоли у детей имеют ограниченный набор неоантигенов, которые могли бы быть распознаны, а в опухолевом окружении содержится малое количество инфильтрирующих Т-клеток. Следовательно, применение ингибиторов контрольных точек иммунного ответа у пациентов детского возраста не всегда оправданно. Эти два обстоятельства обусловлены «холодной» (неиммунной) характеристикой опухоли у детей, что усложняет подбор таргетной терапии. Одним из способов преодоления такой ситуации может быть комбинирование различных стратегий и/или воздействие на другие компоненты микроокружения для снижения ее иммуносупрессивных и проопухолевых эффектов.

Анализ инфильтрации глиом у детей иммунными клетками показал, что миелоидные клетки являются основными компонентами опухолевого микроокружения, кроме того, глиомы низкой степени злокачественности содержат больше CD8⁺-Т-клеток и CD45⁺-лейкоцитов, чем глиомы высокой степени злокачественности [115]. В то время как количество ассоциированных с опухолью CD68⁺-макрофагов сопоставимо между подгруппами, в диффузных срединных глиомах наблюдается наименьшее количество инфильтрирующих CD8⁺-Т-клеток и CD163⁺-макрофагов, что способствует формированию иммуносупрессивного фенотипа [116].

Высокая инфильтрация микроокружения эпендимом у детей CD3⁺- и CD8⁺-Т-клетками коррелирует с увеличением выживаемости без прогрессирования, в то время как повышение содержания регуляторных

FoxP3⁺-Т-клеток и CD68⁺-макрофагов влияет на этот показатель отрицательно [117].

А.М. Griesinger и соавт. показали различия в инфильтрации иммунными клетками и степени иммуносупрессии в образцах пилоцитарной астроцитомы, эпендимомы, глиомы высокой степени злокачественности и медуллобластомы. По сравнению с глиомой и медуллобластомой пилоцитарные астроцитомы и эпендимомы имели значительную миелоидную (характеризующуюся как CD45⁺CD11b⁺) и лимфоцитарную инфильтрацию [118]. Толерантность микроокружения к иммунотерапии доказывал низкий уровень экспрессии PD-1 на инфильтрирующих иммунных клетках. В целом большинство опухолей головного мозга являются «холодными» с иммунологической точки зрения, характеризуются высоким содержанием миелоидных сигнатур и незначительной инфильтрацией Т-клетками. Однако некоторые авторы выявили наличие воспаления в определенных подтипах новообразований; в таких ситуациях показано применение ингибиторов иммунных контрольных точек [119].

В ходе систематического анализа данных РНК-секвенирования (TARGET) установлено, что количество CD8⁺-, Th17-, NKT-клеток, Treg и АПК было значимо выше в микроокружении нейробластомы группы высокого риска без амплификации *MYCN* по сравнению с группой с амплификацией *MYCN* ($p < 0,05$). Кроме того, Т-хелперы показали значимую положительную связь с выживаемостью пациентов с нейробластомой группы высокого риска без амплификации *MYCN* [120]. Экспрессия CTLA-4 обнаружена как в опухолевых клетках нейробластомы, так и в иммунных клетках опухолевого микроокружения. Результаты исследования В.Н. Kushner и соавт. показали, что высокие уровни экспрессии CTLA-4 связаны с худшим прогнозом [121].

В остеосаркоме, как правило, для инфильтрирующих иммунных клеток характерен иммуноактивный фенотип [122]. Высокие уровни АПК, нейтрофилов, макрофагов и моноцитов связаны с хорошим прогнозом, в то время как большое содержание В-клеток и $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов ассоциировано с худшими показателями выживаемости [123]. В отличие от остеосаркомы наиболее распространенными клетками в микроокружении саркомы Юинга являются иммуносупрессивные макрофаги M2-типа [124]. Р. Hingorani и соавт. изучили иммунную популяцию, присутствующую в кровотоке у детей с остеосаркомой и саркомой Юинга, и обнаружили повышенную экспрессию CTLA-4 как в CD4⁺-, так и в CD8⁺-Т-клетках, а также популяцию CD14⁽⁺⁾HLA-DR(lo/neg) иммуносупрессивных моноцитов, количество которых коррелировало с прогрессированием заболевания [125]. Авторы подчеркивают, что в ткани остеосаркомы повышена инфильтрация моноцитами CD14⁺, но значительно снижена инфильтрация Т-клетками по сравнению с саркомой Юинга [125].

Анализ иммунных инфильтратов в опухоли Вильмса показал, что CD8⁺- и CD4⁺-Т-клетки нахо-

дятся в состоянии активации [126], при этом наличие активированных CD8⁺-Т-клеток коррелирует с положительным исходом [127]. Высокая плотность иммуносупрессивных клеток (например, Treg и плазматоктоидных ДК) имела прямую положительную корреляцию с неблагоприятным морфологическим типом опухоли и низкой общей выживаемостью [128], а присутствие иммуносупрессивных цитокинов, в частности TGF-β, связано с инвазией/метастазированием и прогрессированием заболевания [129].

Микроокружение ретинобластомы содержит ряд иммунных клеток, например ДК, моноциты, макрофаги и Т-лимфоциты [130]. Сниженная пролиферация клеток этой опухоли связана с увеличением инфильтрации иммунными клетками [131]. Р. Мао и соавт. на основе иммунных профилей выделили 2 иммунологические подгруппы ретинобластомы, которые имеют различные клинические характеристики и профили экспрессии генов [132]. Авторы изучили различные паттерны метилирования ДНК в 2 подгруппах и выявили, что инфильтрация иммунными клетками связана с миграцией ретинобластомы и метастатическим прогрессированием [133]. Интегративный анализ транскриптома одиночных клеток и полноэкзомного секвенирования у пациентов с ретинобластомой показал, что микроокружение при ретинобластоме состоит из опухолеассоциированных макрофагов, астроцитоподобных клеток и раковых фибробластов [134]. Химиотерапия модифицировала микроокружение ретинобластомы, так как было обнаружено, что она переориентирует микроокружение из анергического в активное «горячее» состояние CD8⁺, PD-L1⁺ (PD-L1 — лиганд PD-1) [135].

Локальная модуляция иммунной системы характерна и для гепатобластомы. Согласно данным J.-J. Guo и соавт., у детей с этой патологией в опухолевом микроокружении больше НК-клеток и высокоэкспрессированных киллерных иммуноглобулиноподобных рецепторов, которые ингибируют цитотоксичность НК-клеток, что приводит к ускользанию опухолей из-под иммунного надзора [135]. Taurine Up-Regulated 1 — онко-некодирующая РНК — опосредует инфильтрацию проопухолевыми иммунными клетками у пациентов с гепатобластомой, несущих мутацию в гене *CTNNB1* [136]. На иммунное микроокружение при гепатобластоме также влияют метилирование и эпигенетические изменения [137].

В связи с недостатком лейкоцитарных инфильтратов в опухолевом микроокружении для модуляции иммунной системы можно использовать адоптивную клеточную терапию опухоленаправленными естественными Т-клетками или генно-модифицированными опухолевыми клеточными продуктами. Эти новые терапевтические средства, эффективность которых доказана при злокачественных гематологических заболеваниях, также рассматриваются в качестве таргетных препаратов при солидных опухолях у детей [138].

Изучение состава микроокружения опухоли у детей дает возможность предложить конкретные подходы к модуляции иммуносупрессивной опухолевой среды и обеспечить рациональную основу для различных ассоциаций биологических терапевтических агентов, а также их комбинации с традиционными противоопухолевыми методами лечения.

ИММУНОМОНИТОРИНГ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ

Биопсия опухолевой ткани является инвазивным методом, не способна дать полную характеристику пространственной гетерогенности опухоли, а также затрудняет отслеживание эффективности лечения. В последние годы обнаружено, что результативность иммунотерапии рака может быть определена с помощью всестороннего анализа системных иммунных событий в субпопуляциях иммунных клеток периферической крови. Циркулирующие биомаркеры рассматриваются как привлекательная альтернатива тканевым биомаркерам. Эти биомаркеры можно оценивать в разные моменты времени, они легкодоступны, их забор менее инвазивен. Кроме того, такие биомаркеры могут предоставить больше информации об иммунном статусе и оказать помощь в оценке потенциала пациента для развития эффективного иммунитета против опухоли. Однако стоит учитывать, что в силу ряда причин при выходе клеток из опухоли в кровоток происходит изменение их фенотипа и биологических свойств. Это делает анализ циркулирующих клеток лишь вспомогательным инструментом.

Для оценки воздействия иммунотерапии на иммунную систему пациента используется иммуномониторинг, который при грамотной расшифровке его результатов помогает выявить дополнительные клинические и лабораторные биомаркеры, связанные с эффективностью лечения. Кроме того, эти исследования могут ускорить разработку иммунотерапевтических средств, предоставляя информацию о сложных взаимодействиях опухоли и ее микроокружения, иммунной системы и иммунологических вмешательств.

Использование первоначальных методов иммуномониторинга было направлено на оценку пролиферации лимфоцитов *ex vivo* и функций цитотоксических Т-лимфоцитов *in vitro*, эффективно характеризующих объемные иммунные реакции. Однако эти анализы не смогли выделить вовлеченные иммунные популяции. Последующие поколения исследований оценивали частоту антигенспецифических Т-клеток и продукцию цитокинов *ex vivo*. Самые последние методы иммуномониторинга учитывают как особенности фенотипа иммунных клеток, так и их функциональные свойства, что увеличивает роль различных клеточных фенотипов в иммунотерапии злокачественной опухоли.

Основные цели иммуномониторинга в исследованиях иммунотерапии ЗНО — подтверждение предпола-

гаемых иммунологических эффектов терапевтических вмешательств, определение воздействия иммунотерапии на популяции иммунных клеток, которые, как известно, участвуют в эффекторных и/или регуляторных противоопухолевых иммунных реакциях, выявление функциональных противоопухолевых реакций, вызванных иммунотерапией, и исследование потенциальных биомаркеров клинической эффективности иммунотерапии. Однако в настоящее время не доказано преимущество того или иного метода иммуномониторинга, который мог бы надежно предсказать исход заболевания. Вероятно, это следствие ограничений современных технологий и нашего опыта, что препятствует всестороннему отображению взаимодействий между опухолью, ее микроокружением и иммунной системой. Несмотря на названные трудности, иммуномониторинг дает возможность анализа комплексного воздействия иммунотерапии на иммунную систему и способствует определению прогностического биомаркера [139].

Цитотоксические CD8⁺-Т-лимфоциты играют большую роль в уничтожении опухолевых клеток. Наивные CD8⁺-лимфоциты активируются антигенпрезентирующими ДК и CD4⁺-Т-клеточной костимуляцией, а затем дифференцируются в антиген-специфические эффекторные клетки с сильными цитотоксическими функциями и способностью преобразоваться в CD8⁺-Т-клетки памяти, которые сохраняются в течение длительного периода времени, а затем после их повторной стимуляции быстро пролиферируют и дифференцируются во вторичные эффекторные клетки. NK-клетки являются компонентами врожденного иммунитета, которые участвуют в раннем контроле против опухоли, используя свои цитолитические функции и продукцию цитокинов, например IFN γ , усиливающего как адаптивный, так и врожденный иммунные ответы. Продукция IFN γ помогает формировать Т-клеточные ответы в лимфатических узлах путем прямого взаимодействия наивных Т-клеток и NK-клеток, мигрирующих во вторичные лимфоидные структуры. NKT-клетки экспрессируют как маркеры NK-клеток (CD16, CD56), так и Т-клеточные дифференцировочные антигены (CD3, CD4, CD8); они играют ключевую роль в регуляции иммунного ответа при опухолевых заболеваниях [140]. NKT-клетки экспрессируют и Т-клеточный рецептор, который участвует в распознавании липидных антигенов, связанных с молекулами МНС CD-1d. Т-клеточный рецептор состоит из 2 гликопротеиновых цепей — α и β . Малочисленная популяция Т-клеток имеет на своей поверхности отдельный рецептор, образованный 2 цепями — γ и δ [141]. $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты продуцируют большое количество воспалительных цитокинов (TNF- α и IFN γ) и проявляют цитотоксичность в отношении широкого спектра опухолевых клеток [142].

Действие Treg-клеток направлено главным образом против Т-клеток и/или ДК [143]. Для супрессии

иммунного ответа клетки Treg секретируют цитокины TGF- β , IL-10, IFN γ , IL35, а также экспрессируют на своей поверхности рецептор CTLA-4. Миелоидные клетки-супрессоры прямо коррелируют с прогрессированием опухоли и через иммунные и неиммунные механизмы способствуют ее росту и метастазированию. Они являются гетерогенной группой терминально недифференцированных миелоидных клеток различного происхождения [144]. Их онкогенный потенциал зависит от подавления как врожденных, так и адаптивных иммунных реакций, индукции окислительного стресса, высвобождения таких иммуносупрессивных факторов, как IL-10 и TGF- β , и продвижения иммуносупрессивных регуляторных Т-клеток [145].

Методы иммуномониторинга. Среди методов оценки субпопуляционного состава клеток иммунной системы в качестве «золотого стандарта» рассматривают проточную цитометрию. С помощью данной технологии возможна оценка основных популяций лимфоцитов (CD3⁺-Т-клетки, CD4⁺-Т-хелперы, CD8⁺-Т-цитотоксические лимфоциты, CD19/20⁺-В-клетки, CD16/56⁺-NK-клетки), активационных маркеров (CD25, CD69, HLA-DR), маркеров истощения (PD-1, CTLA-4, TIM-3), внутриклеточных маркеров (цитокины — IFN γ , IL-2), факторов транскрипции (FoxP3 для Т-регуляторных клеток) [146].

Методы иммуногистохимического исследования и иммунофлуоресценции основаны на использовании меченых антител для визуализации специфических клеток или белков непосредственно в срезах тканей с целью анализа местонахождения, количества и взаиморасположения иммунных клеток в опухолевом микроокружении [147].

К функциональным методам относятся анализ пролиферации (измерение способности лимфоцитов делиться в ответ на стимуляцию митогеном или антигеном), анализ цитотоксической активности (оценка способности цитотоксических Т-лимфоцитов и NK-клеток уничтожать клетки-мишени), оценка цитокин-продуцирующей способности (стимуляция клеток *in vitro* позволяет определить клетки, продуцирующие цитокины). Кроме того, можно определить фазу клеточного цикла и стадию апоптоза иммунных клеток [148].

К методам оценки гуморального иммунитета относятся иммуноферментный анализ, иммунонефелометрия и иммунотурбидиметрия, которые используются для количественного определения концентрации специфических антител или общих иммуноглобулинов (IgG, IgA, IgM, IgE) в сыворотке крови [149]. Широко применяемой разновидностью иммуноферментного анализа является энзим-связывающий иммуноспоттинг (enzyme-linked immunosorbent spot, ELISPOT). Он представляет собой один из наиболее эффективных иммунологических и диагностических подходов для выявления в тканях человека редко встречающихся клеток, продуцирующих цитокины или антитела, и определения их количества [150].

Для анализа функции врожденного иммунитета проводится оценка фагоцитарной активности, экспрессии рецепторов врожденного иммунитета, концентраций цито- и хемокинов, а также активности NK-клеток [151].

Интерпретация результатов иммуномониторинга в настоящее время затруднена в связи с недостаточностью знаний о сложных взаимодействиях микроокружения опухоли и иммунной системы, отсутствием информации о биомаркерах, которые могут быть суррогатными показателями общего состояния пациента и стандартизации исследований. Интерпретация иммунологических результатов может меняться даже ретроспективно в ходе анализа данных литературы и накопления клинического опыта. В настоящее время предпринимаются попытки стандартизации интерпретации результатов. При определении важнейших показателей, влияющих на эффективность анализа, лабораториям предоставляется свобода в отношении применяемых ими протоколов, стандартизация же предписывает использование единого оборудования или конкретных протоколов и реагентов для обеспечения точности данных. Для методов ELISPOT и внутриклеточного окрашивания цитокинами (intracellular cytokine staining, ICS), которые являются одними из наиболее часто используемых методов иммуномониторинга, существуют руководства, охватывающие как стандартизацию, так и гармонизацию процедур, а также рекомендации по минимальным показателям отчетности.

Поскольку у пациентов регистрируются значительные различия в иммунологическом статусе, такие меры по снижению вариабельности результатов анализа важны для надлежащей оценки и интерпретации данных.

Методы иммуномониторинга обладают потенциалом для выяснения иммунологических механизмов противоопухолевой иммунотерапии, отслеживания прогрессирования заболевания и отбора потенциальных кандидатов на такое лечение. Хотя некоторые методы продемонстрировали многообещающую корреляцию с клиническим исходом, большинство из них на сегодняшний день не способны выявить прогностические маркеры. Обнадешивающие подходы к иммуномониторингу направлены на выяснение специфичных для пациента иммунных профилей, охватывающих множество фенотипических и функциональных аспектов иммунной системы, которые могут лучше коррелировать с клиническими ответами на иммунотерапию. Тем не менее различия в системном и опухолевом микроокружении остаются значительным препятствием при интерпретации результатов.

В зависимости от механизма действия иммунотерапевтического вмешательства методы мониторинга гуморального ответа (титры антител) могут быть предпочтительнее методов, оценивающих индукцию и функцию антигенспецифичных Т-клеток. Однако

именно фенотипирование лимфоцитов является очень гибким методом, позволяющим оценить как эффекторные, так и регуляторные популяции иммунных клеток, которые влияют на реакцию пациента на иммунотерапию. С учетом развития иммуногенетики, вероятно, эти технологии вскоре будут использоваться для изучения критериев отбора пациентов для конкретных иммунотерапевтических вмешательств. Однако в настоящее время наиболее целостный подход к мониторингу реакции больных на иммунотерапию включает анализ одновременно нескольких независимых биомаркеров, которые в совокупности могут отражать иммунный фенотип. Исследования прогностических биомаркеров иммунотерапии продолжаются, но уже сейчас мы видим значительные успехи в понимании ее механизмов и разработке инструментов для прогнозирования эффективности лечения. С учетом огромного разнообразия иммунных ответов и реакций человека необходимы лонгитюдные исследования для оценки иммунологических изменений, происходящих в ходе заболевания, лечения и динамического наблюдения. Кроме того, такие методы системного анализа, как масс-цитометрия, позволяют различать и анализировать все популяции иммунных клеток в образце крови с целью выявления скоординированных изменений во всех клеточных популяциях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Иммунная система способна бороться с опухолями, но их рост указывает на сбой в этом процессе. Результаты исследований показывают, что наличие определенных Т-клеток (CD8⁺- и Th1-ассоциированных клеток памяти) в опухоли связано с лучшим прогнозом, тогда как роль других Т-клеток (Th2, Th17, Treg) менее определена и зависит от типа рака. Согласно этому развитие опухоли — результат взаимодействия ее агрессивности и иммунного ответа организма.

Из-за ограничений традиционной биопсии анализ биомаркеров в периферической крови становится все более актуальным. Он позволяет проводить повторные оценки, легко доступен и менее инвазивен, а также дает представление об иммунном статусе и способности пациента к развитию противоопухолевого иммунитета. Тем не менее важно помнить, что циркулирующие клетки могут изменять свои свойства вне опухоли, поэтому анализ крови является лишь вспомогательным инструментом.

Современные исследования в области иммуномониторинга сосредоточены на определении индивидуальной и комбинаторной прогностической ценности биомаркеров иммунного ответа. Однако, несмотря на все усилия, найти универсальный и надежный иммунный маркер для прогнозирования пока не удалось, а полученные данные часто противоречат друг другу. Причиной тому, вероятно, является огромное фенотипическое и функциональное разнообразие иммун-

ных клеток. Хотя учет и определенных маркеров, и показателей иммунного ответа значительно повышает

точность прогнозов, для подтверждения этого требуются дальнейшие проспективные исследования.

Л и т е р а т у р а / R e f e r e n c e

- Vogelstein B., Fearon E.R., Hamilton S.R. et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 1988;319(9):525–32. DOI: 10.1056/NEJM198809013190901
- Folkman J., Hahnfeldt P., Hlatky L. Cancer: looking outside the genome. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000;1(1):76–9. DOI: 10.1038/35036100
- Vogelstein B., Papadopoulos N., Velculescu V.E. et al. Cancer genome landscapes. *Science* 2013;339(6127):1546–58. DOI: 10.1126/science.1235122
- Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100(1):57–70. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81683-9
- Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144(5):646–74. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013
- Sonnenschein C., Soto A.M. The death of the cancer cell. *Cancer Res* 2011;71(13):4334–7. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0639
- Ehrlich P. Über den jetzigen Stand der Karzinomforschung. *Ned Tijdschr Geneesk* 1909;5:273.
- Burnet F.M. The concept of immunological surveillance. *Prog Exp Tumor Res* 1970;13:1. DOI: 10.1159/000386035
- Dunn G.P., Old L.J., Schreiber R.D. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol* 2004;22:329–60. DOI: 10.1146/annurev.immunol.22.012703.104803
- Schreiber R.D., Old L.J., Smyth M.J. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 2011;331(6014):1565–70. DOI: 10.1126/science.1203486
- Gubin M.M., Vésely M.D. Cancer immunoediting in the era of immuno-oncology. *Clin Cancer Res* 2022;28(18):3917–28. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-21-1804
- Xiao Y., Yu D. Tumor microenvironment as a therapeutic target in cancer. *Pharmacol Ther* 2021;221:107753. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107753
- Toledo B., Zhu Chen L., Paniagua-Sancho M. et al. Deciphering the performance of macrophages in tumour microenvironment: a call for precision immunotherapy. *J Hematol Oncol* 2024;17(1):44. DOI: 10.1186/s13045-024-01559-0
- Arnetz B. Tumor microenvironment. *Medicina* 2020;56:15. DOI: 10.3390/medicina56010015
- Кулева С.А., Друй А.Е. Иммунология и перспективы иммунотерапии первичных злокачественных опухолей ЦНС: адоптивная клеточная терапия и виротерапия. *Вопросы онкологии* 2020;44(3):218–22. DOI: 10.37469/0507-3758-2020-66-3-218-222
- Kulyova S.A., Druy A.E. Immunology and prospects for immunotherapy of primary CNS malignancies: adoptive cell therapy and virotherapy. *Voprosy onkologii = Oncology Issues* 2020;3(66):218–22. (In Russ.). DOI: 10.37469/0507-3758-2020-66-3-218-222
- Röszer T. Understanding the mysterious M2 macrophage through activation markers and effector mechanisms. *Mediators Inflamm* 2015;2015:816460. DOI: 10.1155/2015/816460
- Lo Siccio C., Reverberi D., Balbi C. et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles as mediators of anti-inflammatory effects: endorsement of macrophage polarization. *Stem Cells Transl Med* 2017;6(3):1018–28. DOI: 10.1002/sctm.16-0363
- Atri C., Guerfali F.Z., Laouini D. Role of human macrophage polarization in inflammation during infectious diseases. *Int J Mol Sci* 2018;19(6):1801. DOI: 10.3390/ijms19061801
- Caronni N., La Terza F., Vittoria F.M. et al. IL-1beta(+) macrophages fuel pathogenic inflammation in pancreatic cancer. *Nature* 2023;623(7986):415–22. DOI: 10.1038/s41586-023-06685-2
- Ruffell B., Affara N.I., Coussens L.M. Differential macrophage programming in the tumor microenvironment. *Trends Immunol* 2012;33(3):119–26. DOI: 10.1016/j.it.2011.12.001
- Biswas S.K., Allavena P., Mantovani A. Tumor-associated macrophages: functional diversity, clinical significance, and open questions. *Semin Immunopathol* 2013;35(5):585–600. DOI: 10.1007/s00281-013-0367-7
- Kerneur C., Cano C.E., Olive D. Major pathways involved in macrophage polarization in cancer. *Front Immunol* 2022;13:1026954. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1026954
- Fridman W.H., Pagès F., Sautès-Fridman C., Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer* 2012;12:298–306. DOI: 10.1038/nrc3245
- Meireson A., Tavernier S.J., Van Gassen S. et al. Immune monitoring in melanoma and urothelial cancer patients treated with anti-PD-1 immunotherapy and SBRT discloses tumor specific immune signatures. *Cancers (Basel)* 2021;13(11):2630. DOI: 10.3390/cancers13112630
- Baessler A., Vignali D.A.A. T cell exhaustion. *Annu Rev Immunol* 2024;42(1):179–206. DOI: 10.1146/annurev-immunol-090222-110914
- Postow M.A., Callahan M.K., Wolchok J.D. Immune checkpoint blockade in cancer therapy. *J Clin Oncol* 2015;33(17):1974–82. DOI: 10.1200/JCO.2014.59.4358
- Pauken K.E., Wherry E.J. Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer. *Trends Immunol* 2015;36(4):265–76. DOI: 10.1016/j.it.2015.02.008
- MacCarty W.C. Principles of prognosis in cancer. *JAMA* 1931;96:30.
- Bai Z., Zhou Y., Ye Z. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer: the fundamental indication and application on immunotherapy. *Front Immunol* 2022;14:12:808964. DOI: 10.3389/fimmu.2021.808964
- Zhang Y., Wu D., Zhang Z. et al. Impact of lymph node metastasis on immune microenvironment and prognosis in colorectal cancer liver metastasis: insights from multiomics profiling. *Br J Cancer* 2025;132(6):513–24. DOI: 10.1038/s41416-024-02921-2
- Maibach F., Sadozai H., Seyed Jafari S.M. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and their prognostic value in cutaneous melanoma. *Front Immunol* 2020;11:2105. DOI: 10.3389/fimmu.2020.02105
- Zhao H., Zhao Y., Zhang S. et al. Effects of immunogenic cell death-inducing chemotherapeutics on the immune cell activation and tertiary lymphoid structure formation in melanoma. *Front Immunol* 2024;15:1302751. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1302751
- Dieci M.V., Miglietta F., Guarneri V. Immune infiltrates in breast cancer: recent updates and clinical implications. *Cells* 2021;10(2):223. DOI: 10.3390/cells10020223
- Jass J.R. Lymphocytic infiltration and survival in rectal cancer. *J Clin Pathol* 1986;39(6):585–9. DOI: 10.1136/jcp.39.6.585
- Sarivalais A., Morotti M., Mulvey A. et al. Cell therapies in ovarian cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2021;13:17588359211008399. DOI: 10.1177/17588359211008399
- Jiang A.M., Ren M.D., Liu N. et al. Tumor mutation burden, immune cell infiltration, and construction of immune-related genes prognostic model in head and neck cancer. *Int J Med Sci* 2021;18(1):226–38. DOI: 10.7150/ijms.51064
- Tian Y., Liu C., Yang W. et al. Highlighting immune features of the tumor ecosystem and prognostic value of Tfh and Th17 cell infiltration in head and neck squamous cell carcinoma by single-cell RNA-seq. *Cancer Immunol Immunother* 2024;73(10):187. DOI: 10.1007/s00262-024-03767-6

38. Cheng Z., Yang C., Zhao Q. et al. Efficacy and predictors of immune checkpoint inhibitors in patients with gallbladder cancer. *Cancer Sci* 2024;115(6):1979–88. DOI: 10.1111/cas.16142
39. Jin Y.W., Hu P. Tumor-infiltrating CD8 T cells predict clinical breast cancer outcomes in young women. *Cancers (Basel)* 2020;12(5):1076. DOI: 10.3390/cancers12051076
40. Xu X., Tan Y., Qian Y. et al. Clinicopathologic and prognostic significance of tumor-infiltrating CD8+ T cells in patients with hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2019;98(2):e13923. DOI: 10.1097/MD.00000000000013923
41. Zhang J., Wang Y.F., Wu B. et al. Intraepithelial attack rather than intratumorally infiltration of CD8+T lymphocytes is a favorable prognostic indicator in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Curr Mol Med* 2017;17(10):689–98. DOI: 10.2174/1566524018666180308115705
42. Kärjä V., Aaltomaa S., Lippinen P. et al. Tumour-infiltrating lymphocytes: a prognostic factor of PSA-free survival in patients with local prostate carcinoma treated by radical prostatectomy. *Anticancer Res* 2005;25(6C):4435–8.
43. Toki M.I., Merritt C.R., Wong P.F. et al. High-plex predictive marker discovery for melanoma immunotherapy-treated patients using digital spatial profiling. *Clin Cancer Res* 2019;25(18):5503–12. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0104
44. Giatromanolaki A., Anestopoulos I., Panayiotidis M.I. et al. Prognostic relevance of the relative presence of CD4, CD8 and CD20 expressing tumor infiltrating lymphocytes in operable non-small cell lung cancer patients. *Anticancer Res* 2021;41(8):3989–95. DOI: 10.21873/anticancer.15196
45. He M., He Q., Cai X. et al. Intratumoral tertiary lymphoid structure (TLS) maturation is influenced by draining lymph nodes of lung cancer. *J Immunother Cancer* 2023;11(4):e005539. DOI: 10.1136/jitc-2022-005539
46. Shigehara K., Kawai N., Shirosaki T. et al. The size of CD8+ infiltrating T cells is a prognostic marker for esophageal squamous cell carcinoma. *Sci Rep* 2025;15(1):26638. DOI: 10.1038/s41598-025-10885-3
47. Bell P.D., Pai R.K. Immune response in colorectal carcinoma: a review of its significance as a predictive and prognostic biomarker. *Histopathology* 2022;81(6):696–714. DOI: 10.1111/his.14713
48. Liu J., Li J., Luo F. et al. The Predictive Value of CD3+/CD8+ lymphocyte infiltration and PD-L1 expression in colorectal cancer. *Curr Oncol* 2023;30(11):9647–59. DOI: 10.3390/curroncol30110699
49. Schmitt M., Greten F.R. The inflammatory pathogenesis of colorectal cancer. *Nat Rev Immunol* 2021;21(10):653–67. DOI: 10.1038/s41577-021-00534-x
50. Dai S., Zeng H., Liu Z. et al. Intratumoral CXCL13+CD8+T cell infiltration determines poor clinical outcomes and immunoevasive contexture in patients with clear cell renal cell carcinoma. *J Immunother Cancer* 2021;9(2):e001823. DOI: 10.1136/jitc-2020-001823
51. Monjaras-Avila C.U., Lorenzo-Leal A.C., Luque-Badillo A.C. et al. The tumor immune microenvironment in clear cell renal cell carcinoma. *Int J Mol Sci* 2023;24(9):7946. DOI: 10.3390/ijms24097946
52. Becht E., Giraldo N.A., Dieu-Nosjean M.C. et al. Cancer immune contexture and immunotherapy. *Curr Opin Immunol* 2016;39:7–13. DOI: 10.1016/j.coi.2015.11.009
53. Jacqueline C., Bourfia Y., Hbid H. et al. Interactions between immune challenges and cancer cells proliferation: timing does matter! *Evol Med Public Health* 2016;2016(1):299–311. DOI: 10.1093/emph/eow025
54. Santavanond J.P., Rutter S.F., Atkin-Smith G.K., Poon I.K.H. Apoptotic bodies: mechanism of formation, isolation and functional Relevance. *Subcell Biochem* 2021;97:61–88. DOI: 10.1007/978-3-030-67171-6_4
55. Mylvaganam G., Yanez A.G., Maus M., Walker B.D. Toward T Cell-mediated control or elimination of HIV reservoirs: lessons from cancer immunology. *Front Immunol* 2019;10:2109. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02109
56. Waldman A.D., Fritz J.M., Lenardo M.J. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. *Nat Rev Immunol* 2020;20(11):651–68. DOI: 10.1038/s41577-020-0306-5
57. Du X., Wang X., Cui K. et al. Tanshinone IIA and astragaloside IV inhibit miR-223/JAK2/STAT1 signalling pathway to alleviate lipopolysaccharide-induced damage in nucleus pulposus cells. *Dis Markers* 2021;12:6554480. DOI: 10.1155/2021/6554480
58. Alhouayek M., Rankin L., Gouveia-Figueira S., Fowler C.J. Interferon γ treatment increases endocannabinoid and related N-acyl ethanolamine levels in T84 human colon carcinoma cells. *Br J Pharmacol* 2019;176(10):1470–80. DOI: 10.1111/bph.14135
59. Sharapova T.N., Romanova E.A., Ivanova O.K. et al. Cytokines TNF α , IFN γ and IL-2 are responsible for signal transmission from the innate immunity protein Tag7 (PGLYRP1) to cytotoxic effector lymphocytes. *Cells* 2020;9(12):2602. DOI: 10.3390/cells9122602
60. Nathan C., Cunningham-Bussell A. Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. *Nat Rev Immunol* 2013;13(5):349–61. DOI: 10.1038/nri3423
61. Li M., Zhu W., Lu Y. et al. Identification and validation of a CD4⁺ T cell-related prognostic model to predict immune responses in stage III-IV colorectal cancer. *BMC Gastroenterol* 2025;25(1):153. DOI: 10.1186/s12876-025-03716-2
62. Mai Z., Lin Y., Lin P. et al. Modulating extracellular matrix stiffness: a strategic approach to boost cancer immunotherapy. *Cell Death Dis* 2024;15(5):307. DOI: 10.1038/s41419-024-06697-4
63. Zhang L., Chen X., Zu S., Lu Y. Characteristics of circulating adaptive immune cells in patients with colorectal cancer. *Sci Rep* 2022;12(1):18166. DOI: 10.1038/s41598-022-23190-0
64. Sanz-Pamplona R., Melas M., Maoz A. et al. Lymphocytic infiltration in stage II microsatellite stable colorectal tumors: a retrospective prognosis biomarker analysis. *PLoS Med* 2020;17(9):e1003292. DOI: 10.1371/journal.pmed.1003292
65. Picard E., Verschoor C.P., Ma G.W., Pawelec G. Relationships between immune landscapes, genetic subtypes and responses to immunotherapy in colorectal cancer. *Front Immunol* 2020;11:369. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00369
66. Nagtegaal I.D., Marijnen C.A., Kranenbarg E.K. et al. Local and distant recurrences in rectal cancer patients are predicted by the nonspecific immune response; specific immune response has only a systemic effect – a histopathological and immunohistochemical study. *BMC Cancer* 2001;1:7. DOI: 10.1186/1471-2407-1-7
67. Seebauer C.T., Brunner S., Glockzin G. et al. Peritoneal carcinomatosis of colorectal cancer is characterized by structural and functional reorganization of the tumor microenvironment inducing senescence and proliferation arrest in cancer cells. *Oncoimmunology* 2016;5(12):e1242543. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1242543
68. Huang J., Zhang J.L., Ang L. et al. Proposing a novel molecular subtyping scheme for predicting distant recurrence-free survival in breast cancer post-neoadjuvant chemotherapy with close correlation to metabolism and senescence. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2023;14:1265520. DOI: 10.3389/fendo.2023.1265520
69. Shahrouzi P., Forouz F., Mathelier A. et al. Copy number alterations: a catastrophic orchestration of the breast cancer genome. *Trends Mol Med* 2024;30(8):750–64. DOI: 10.1016/j.molmed.2024.04.017
70. Wang Y.A., Neff R., Song W.M. et al. Multi-omics-based analysis of high grade serous ovarian cancer subtypes reveals distinct molecular processes linked to patient prognosis. *FEBS Open Bio* 2023;13(4):617–37. DOI: 10.1002/2211-5463.13553
71. Zob D.L., Augustin I., Caba L. et al. Genomics and epigenomics in the molecular biology of melanoma – a prerequisite for biomarkers studies. *Int J Mol Sci* 2022;24(1):716. DOI: 10.3390/ijms24010716
72. Horti-Oravec K., Kelemen I., Grolmusz K.V. The role of immunosurveillance and immunoediting in hereditary cancer predisposition syndromes. *Magy Onkol* 2025;69(1):25–33. (In Hungarian).

73. Vroman H., van Uden D., Bergen I.M. et al. Tnfrsf3 expression in pulmonary conventional type 1 Langerin-expressing dendritic cells regulates T helper 2-mediated airway inflammation in mice. *Allergy* 2020;75(10):2587–98. DOI: 10.1111/all.14334
74. Miska J., Lui J.B., Toomer K.H. et al. Initiation of inflammatory tumorigenesis by CTLA4 insufficiency due to type 2 cytokines. *J Exp Med* 2018;215(3):841–58. DOI: 10.1084/jem.20171971
75. Germain C., Gnjatich S., Dieu-Nosjean M.C. Tertiary lymphoid structure-associated B cells are key players in anti-tumor immunity. *Front Immunol* 2015;6:67. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00067
76. De Lima P.O., Dos Santos F.V., Oliveira D.T. et al. Effect of eosinophil cationic protein on human oral squamous carcinoma cell viability. *Mol Clin Oncol* 2015;3(2):353–6. DOI: 10.3892/mco.2014.477
77. Fu Y., Lin Q., Zhang Z., Zhang L. Therapeutic strategies for the costimulatory molecule OX40 in T-cell-mediated immunity. *Acta Pharm Sin B* 2020;10(3):414–33. DOI: 10.1016/j.apsb.2019.08.010
78. Feng B., Bai Z., Zhou X. et al. The type 2 cytokine Fc-IL-4 revitalizes exhausted CD8⁺ T cells against cancer. *Nature* 2024;634(8034):712–20. DOI: 10.1038/s41586-024-07962-4
79. Hammoud M.K., Dietze R., Pesek J. et al. Arachidonic acid, a clinically adverse mediator in the ovarian cancer microenvironment, impairs JAK-STAT signaling in macrophages by perturbing lipid raft structures. *Mol Oncol* 2022;16(17):3146–66. DOI: 10.1002/1878-0261.13221
80. Brunetto E., De Monte L., Balzano G. et al. The IL-1/IL-1 receptor axis and tumor cell released inflammasome adaptor ASC are key regulators of TSLP secretion by cancer associated fibroblasts in pancreatic cancer. *J Immunother Cancer* 2019;7(1):45. DOI: 10.1186/s40425-019-0521-4
81. Murakami Y., Saito H., Shimizu S. et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a prognostic indicator in patients with unresectable gastric cancer. *Anticancer Res* 2019;39(5):2583–9. DOI: 10.21873/anticancer.13381
82. Sæle A.K., Svanøe A.A., Askeland C. et al. Reduced GATA3 expression associates with immuno-metabolic alterations and aggressive features in breast cancer. *J Pathol Clin Res* 2025;11(6):e70050. DOI: 10.1002/2056-4538.70050
83. Adam M., Bekuretsion Y., Gebremedhin A. et al. Evidence for distinct mechanisms of immune suppression in EBV-positive and EBV-negative Hodgkin lymphoma. *J Clin Exp Hematop* 2023;63(4):230–9. DOI: 10.3960/jslr.23037
84. Overacre-Delgoffe A.E., Bumgarner H.J., Cillo A.R. et al. Microbiota-specific T follicular helper cells drive tertiary lymphoid structures and anti-tumor immunity against colorectal cancer. *Immunity* 2021;54(12):2812–24.e4. DOI: 10.1016/j.immuni.2021.11.003
85. Butcher M.J., Zhu J. Recent advances in understanding the Th1/Th2 effector choice. *Fac Rev* 2021;10:30. DOI: 10.12703/r/10-30
86. Capone A., Naro C., Bianco M. et al. Systems analysis of human T helper17 cell differentiation uncovers distinct time-regulated transcriptional modules. *iScience* 2021;24(5):102492. DOI: 10.1016/j.isci.2021.102492
87. Murcia R.Y., Vargas A., Lavoie J.P. The interleukin-17 induced activation and increased survival of equine neutrophils is insensitive to glucocorticoids. *PLoS One* 2016;11(5):e0154755. DOI: 10.1371/journal.pone.0154755
88. Cremonesi E., Governa V., Garzon J.F.G. et al. Gut microbiota modulate T cell trafficking into human colorectal cancer. *Gut* 2018;67(11):1984–94. DOI: 10.1136/gutjnl-2016-313498
89. Liao H., Chang X., Gao L. et al. IL-17A promotes tumorigenesis and upregulates PD-L1 expression in non-small cell lung cancer. *J Transl Med* 2023;21(1):828. DOI: 10.1186/s12967-023-04365-3
90. Gheshlaghi A., Haghshenas M.R., Safarpour A.R. et al. IL-17 genetic variations increase the risk of cirrhotic/hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B virus infection. *Iran J Immunol* 2021;18(2):130–40. DOI: 10.22034/iji.2021.88020.1852
91. Kiraz Y., Baran Y., Nalbant A. T cells in tumor microenvironment. *Tumour Biol* 2016;37(1):39–45. DOI: 10.1007/s13277-015-4241-1
92. Hu J., Toyozumi T., Murakami K. et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Med* 2024;13(17):e70179. DOI: 10.1002/cam4.70179
93. Nelson W.G., Brawley O.W., Isaacs W.B. et al. Health inequity drives disease biology to create disparities in prostate cancer outcomes. *J Clin Invest* 2022;132(3):e155031. DOI: 10.1172/JCI155031
94. Novsyedlak R., Guney M., Al Khouri M. et al. The immune microenvironment in prostate cancer: a comprehensive review. *Oncology* 2025;103(6):521–45. DOI: 10.1159/000541881
95. Nagy N.A., Hafkamp F.M.J., Sparrius R. et al. Retinoic acid-loaded liposomes induce human mucosal CD103⁺ dendritic cells that inhibit Th17 cells and drive regulatory T-cell development *in vitro*. *Eur J Immunol* 2024;54(5):e2350839. DOI: 10.1002/eji.202350839
96. Mills K.H.G. IL-17 and IL-17-producing cells in protection *versus* pathology. *Nat Rev Immunol* 2023;23(1):38–54. DOI: 10.1038/s41577-022-00746-9
97. Caramalho Í., Nunes-Cabaço H., Foxall R.B., Sousa A.E. Regulatory T-cell development in the human thymus. *Front Immunol* 2015;6:395. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00395
98. Gootjes C., Zwaginga J.J., Roep B.O., Nikolic T. Defining human regulatory T cells beyond FOXP3: the need to combine phenotype with function. *Cells* 2024;13(11):941. DOI: 10.3390/cells13110941
99. Curiel T.J., Coukos G., Zou L. et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med* 2004;10(9):942–9. DOI: 10.1038/nm1093
100. Wang Z., Xie Z., Mou Y. et al. TIM-4 increases the proportion of CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ regulatory T cells in the pancreatic ductal adenocarcinoma microenvironment by inhibiting IL-6 secretion. *Cancer Med* 2024;13(17):e70110. DOI: 10.1002/cam4.70110
101. Shu Y., He L., Gao M. et al. EOGT Correlated with immune infiltration: a candidate prognostic biomarker for hepatocellular carcinoma. *Front Immunol* 2022;12:780509. DOI: 10.3389/fimmu.2021.780509
102. Li J., Zhang X., Liu B. et al. The expression landscape of FOXP3 and its prognostic value in breast cancer. *Ann Transl Med* 2022;10(14):801. DOI: 10.21037/atm-22-3080
103. Xie M., Jiang Q., Zhao S. et al. Prognostic value of tissue-infiltrating immune cells in tumor microenvironment of follicular lymphoma: a meta-analysis. *Int Immunopharmacol* 2020;85:106684. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106684
104. Kelley T.W., Parker C.J. CD4 (+)CD25 (+)Foxp3 (+) regulatory T cells and hematologic malignancies. *Front Biosci (Schol Ed)* 2010;2(3):980–92. DOI: 10.2741/s114
105. Li H., Zhang M.J., Zhang B. et al. Mature tertiary lymphoid structures evoke intra-tumoral T and B cell responses via progenitor exhausted CD4⁺ T cells in head and neck cancer. *Nat Commun* 2025;16(1):4228. DOI: 10.1038/s41467-025-59341-w
106. McCoy M.J., Hemmings C., Miller T.J. et al. Low stromal Foxp3⁺ regulatory T-cell density is associated with complete response to neoadjuvant chemoradiotherapy in rectal cancer. *Br J Cancer* 2015;113(12):1677–86. DOI: 10.1038/bjc.2015.427
107. Westdorp H., Fennemann F.L., Weren R.D. et al. Opportunities for immunotherapy in microsatellite instable colorectal cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2016;65(10):1249–59. DOI: 10.1007/s00262-016-1832-7
108. Dylag-Trojanowska K., Rogala J., Pach R. et al. T Regulatory CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ lymphocytes in the peripheral blood of left-sided colorectal cancer patients. *Medicina (Kaunas)* 2019;55(6):307. DOI: 10.3390/medicina55060307
109. Baßler K., Schmidleithner L., Shakiba M.H. et al. Identification of the novel FOXP3-dependent T_{reg} cell transcription factor MEOX1

- by high-dimensional analysis of human CD4⁺ T cells. *Front Immunol* 2023;14:1107397. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1107397
110. Miyara M., Chader D., Sage E. et al. Sialyl Lewis x (CD15s) identifies highly differentiated and most suppressive FOXP3high regulatory T cells in humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015;112(23):7225–30. DOI: 10.1073/pnas.1508224112
111. Lin Y., Li J., Liang S. et al. Pan-cancer analysis reveals m6A variation and cell-specific regulatory network in different cancer types. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2024;22(4):qzae052. DOI: 10.1093/gpbjnl/qzae052
112. Banik G., Betts C.B., Liudahl S.M. et al. High-dimensional multiplexed immunohistochemical characterization of immune contexture in human cancers. *Methods Enzymol* 2020;635:1–20. DOI: 10.1016/bs.mie.2019.05.039
113. Blattner-Johnson M., Jones D.T.W., Pfaff E. Precision medicine in pediatric solid cancers. *Semin Cancer Biol* 2022;84:214–27. DOI: 10.1016/j.semcancer.2021.06.008
114. Ma X., Liu Y., Liu Y. et al. Pan-Cancer Genome and Transcriptome Analyses of 1,699 Paediatric Leukaemias and Solid Tumours. *Nature* 2018;555(7696):371–6. DOI: 10.1038/nature25795
115. Plant A.S., Koyama S., Sinai C. et al. Immunophenotyping of pediatric brain tumors: correlating immune infiltrate with histology, mutational load, and survival and assessing clonal T cell response. *J Neurooncol* 2018;137(2):269–78. DOI: 10.1007/s11060-017-2737-9
116. Rozowsky J.S., Meesters-Ensing J.I., Lammers J.A.S. et al. A toolkit for profiling the immune landscape of pediatric central nervous system malignancies. *Front Immunol* 2022;13:864423. DOI: 10.3389/fimmu.2022.864423
117. Li Y., Xu S., Xu D. et al. Pediatric pan-central nervous system tumor methylome analyses reveal immune-related lncRNAs. *Front Immunol* 2022;13:853904. DOI: 10.3389/fimmu.2022.853904
118. Griesinger A.M., Birks D.K., Donson A.M. et al. Characterization of distinct immunophenotypes across pediatric brain tumor types. *J Immunol* 2013;191(9):4880–8. DOI: 10.4049/jimmunol.1301966
119. Terry R.L., Meyran D., Ziegler D.S. et al. Immune profiling of pediatric solid tumors. *J Clin Invest* 2020;130(7):3391–402. DOI: 10.1172/JCI137181
120. Sherif S., Roelands J., Mifsud W. et al. The immune landscape of solid pediatric tumors. *J Exp Clin Cancer Res* 2022;41(1):199. DOI: 10.1186/s13046-022-02397-z
121. Kushner B.H., Cheung I.Y., Modak S. et al. Phase I trial of a bivalent gangliosides vaccine in combination with β -glucan for high-risk neuroblastoma in second or later remission. *Clin Cancer Res* 2014;20(5):1375–82. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1012
122. Durfee R.A., Mohammed M., Luu H.H. Review of osteosarcoma and current management. *Rheumatol Ther* 2016;3(2):221–43. DOI: 10.1007/s40744-016-0046-y
123. Bergsma F.J., Koster J., Baalman B. et al. The immune landscape of pediatric (extra)cranial solid tumors: A systematic review and integration of immunohistochemistry and single-cell RNA sequencing data. *Eur J Cancer* 2025;228:115708. DOI: 10.1016/j.ejca.2025.115708
124. Stahl D., Gentles A.J., Thiele R., Gütgemann I. Prognostic profiling of the immune cell microenvironment in Ewing's sarcoma family of tumors. *Oncoimmunology* 2019;8(12):e1674113. DOI: 10.1080/2162402X.2019.1674113
125. Hingorani P., Maas M.L., Gustafson M.P. et al. Increased CTLA-4(+) T cells and an increased ratio of monocytes with loss of class II (CD14(+)-HLA-DR(Lo/Neg)) found in aggressive pediatric sarcoma patients. *J Immunother Cancer* 2015;3:35. DOI: 10.1186/s40425-015-0082-0
126. Hont A.B., Dumont B., Sutton K.S. et al. The Tumor microenvironment and immune targeting therapy in pediatric renal tumors. *Pediatr Blood Cancer* 2022;70(2):e30110. DOI: 10.1002/pbc.30110
127. Palmisani F., Kovar H., Kager L. et al. Systematic review of the immunological landscape of wilms tumors. *Mol Ther Oncolytics* 2021;22:454–67. DOI: 10.1016/j.omto.2021.06.016
128. Tian K., Wang X., Wu Y. et al. Relationship of tumour-associated macrophages with poor prognosis in Wilms' tumour. *J Pediatr Urol* 2020;16(9):376.e1–8. DOI: 10.1016/j.jpuro.2020.03.016
129. Fiore P.F., Vacca P., Tumino N. et al. Wilms' tumor primary cells display potent immunoregulatory properties on NK cells and macrophages. *Cancers (Basel)* 2021;13(2):224. DOI: 10.3390/cancers13020224
130. Sarver A.L., Xie C., Riddle M.J. et al. Retinoblastoma tumor cell proliferation is negatively associated with an immune gene expression signature and increased immune cells. *Lab Invest J Tech Methods Pathol* 2021;101(6):701–18. DOI: 10.1038/s41374-021-00573-x
131. Byroju V.V., Nadukkandy A.S., Cordani M., Kumar L.D. Retinoblastoma: present scenario and future challenges. *Cell Commun Signal* 2023;21(1):226. DOI: 10.1186/s12964-023-01223-z
132. Mao P., Shen Y., Xu X., Zhong J. Comprehensive analysis of the immune cell infiltration landscape and immune-related methylation in retinoblastoma. *Front Genet* 2022;13:864473. DOI: 10.3389/fgene.2022.864473
133. Wu C., Yang J., Xiao W. et al. Single-cell characterization of malignant phenotypes and microenvironment alteration in retinoblastoma. *Cell Death Dis* 2022;13(5):438. DOI: 10.1038/s41419-022-04904-8
134. Miracco C., Toti P., Gelmi M.C. et al. Retinoblastoma is characterized by a cold, CD8⁺ cell poor, PD-L1-microenvironment, which turns into hot, CD8⁺ Cell Rich, PD-L1⁺ after chemotherapy. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2021;62(2):6. DOI: 10.1167/iov.62.2.6
135. Guo J.-J., Ye Y.-Q., Liu Y.-D. et al. Interaction between human leukocyte antigen (HLA-C) and killer cell Ig-like receptors (KIR2DL) inhibits the cytotoxicity of natural killer cells in patients with hepatoblastoma. *Front Med* 2022;9:947729. DOI: 10.3389/fmed.2022.947729
136. Xie F., Zhang L., Yao Q. et al. TUG1 promoted tumor progression by sponging miR-335-5p and regulating CXCR4-mediated infiltration of pro-tumor immunocytes in CTNNB1-mutated hepatoblastoma. *OncoTargets Ther* 2020;13:3105–15. DOI: 10.2147/OTT.S234819
137. Zhang Y., Zhang T., Yin Q., Luo H. Development and validation of genomic and epigenomic signatures associated with tumor immune microenvironment in hepatoblastoma. *BMC Cancer* 2021;21(1):1156. DOI: 10.1186/s12885-021-08893-3
138. Sadeghi Rad H., Monkman J., Warkiani M.E. et al. Understanding the tumor microenvironment for effective immunotherapy. *Med Res Rev* 2021;41(3):1474–98. DOI: 10.1002/med.21765
139. Fedorova L., Mudry P., Pilatova K. et al. Assessment of immune response following dendritic cell-based immunotherapy in pediatric patients with relapsing sarcoma. *Front Oncol* 2019;9:1169. DOI: 10.3389/fonc.2019.01169
140. Almeida J.S., Casanova J.M., Santos-Rosa M. et al. Natural killer T-like cells: immunobiology and role in disease. *Int J Mol Sci* 2023;24(3):2743. DOI: 10.3390/ijms24032743
141. Hu Y., Hu Q., Li Y. et al. $\gamma\delta$ T cells: origin and fate, subsets, diseases and immunotherapy. *Signal Transduct Target Ther* 2023;8(1):434. DOI: 10.1038/s41392-023-01653-8
142. Cibulka M., Selingerova I., Fedorova L., Zdrzilova-Dubská L. Immunological aspects in oncology – circulating $\gamma\delta$ T-cells. *Klin Onkol* 2015;28(2):2S60–8. (In Czech). DOI: 10.14735/amko20152s60
143. Chen X., Ghanizada M., Mallajasyula V. et al. Differential roles of human CD4⁺ and CD8⁺ regulatory T cells in controlling self-reactive immune responses. *Nat Immunol* 2025;26(2):230–9. DOI: 10.1038/s41590-024-02062-x

144. Pilatova K., Budinska E., Benscikova B. et al. Circulating myeloid suppressor cells and their role in tumour immunology. *Klin Onkol* 2017;30(1):s166–9. (In Czech).
145. Sieminska I., Rutkowska-Zapala M., Bukowska-Strakova K. et al. The level of myeloid-derived suppressor cells positively correlates with regulatory T cells in the blood of children with transient hypogammaglobulinaemia of infancy. *Cent Eur J Immunol* 2018;43(4):413–20. DOI: 10.5114/ceji.2018.81359
146. Adan A., Alizada G., Kiraz Y. et al. Flow cytometry: basic principles and applications. *Crit Rev Biotechnol* 2017;37(2):163–76. DOI: 10.3109/07388551.2015.1128876
147. Chu P., Weiss L. *Modern immunohistochemistry*. Cambridge University Press, 2016. 699 p.
148. Niu J., Li M., Wang Y. Cell proliferation and cytotoxicity assays, the fundamentals for drug discovery. *Int J Drug Disc Pharmacol* 2024;3(3):100013. DOI: 10.53941/ijddp.2024.100013
149. Tabatabaei M.S., Ahmed M. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Methods Mol Biol* 2022;2508:115–34. DOI: 10.1007/978-1-0716-2376-3_10
150. Ji N., Forsthuber T.G. ELISPOT techniques. In: *Multiple Sclerosis. Methods in Molecular Biology*. Ed. by R. Weissert. Vol. 1304. NY: Humana Press., 2014.
151. Hirayama D., Iida T., Nakase H. The phagocytic function of macrophage-enforcing innate immunity and tissue homeostasis. *Int J Mol Sci* 2017;19(1):92. DOI: 10.3390/ijms19010092

Вклад авторов

С.А. Кулева: идея, написание текста статьи;

О.Е. Савельева: обзор публикаций по теме статьи, научное редактирование;

И.А. Балдуева, Т.Л. Нехаева, А.А. Кулева, Е.М. Сенчуров: сбор и обработка данных, написание текста статьи;

К.М. Борокшинова, Е.А. Михайлова: обзор публикаций по теме статьи, редактирование.

Authors' contributions

S.A. Kulyova: the idea, article writing;

O.E. Savelyeva: review of publications on the topic of the article, scientific editing;

I.A. Baldueva, T.L. Nekhaeva, A.A. Kulyova, E.M. Senchurov: data collection and processing, article writing;

K.M. Borokshinova, E.A. Mikhaylova: review of publications on the topic of the article, editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

С.А. Кулева / S.A. Kulyova: <https://orcid.org/0000-0003-0390-8498>

О.Е. Савельева / O.E. Savelyeva: <https://orcid.org/0000-0002-0301-8455>

И.А. Балдуева / I.A. Baldueva: <https://orcid.org/0000-0002-7472-4613>

К.М. Борокшинова / K.M. Borokshinova: <https://orcid.org/0000-0002-5004-1543>

Е.А. Михайлова / E.A. Mikhaylova: <https://orcid.org/0000-0003-1081-5118>

Т.Л. Нехаева / T.L. Nekhaeva: <https://orcid.org/0000-0002-7826-4861>

А.А. Кулева / A.A. Kulyova: <https://orcid.org/0000-0001-9886-1420>

Е.М. Сенчуров / E.M. Senchurov: <https://orcid.org/0000-0002-6742-5754>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was performed without external funding.

Статья поступила: 04.12.2025. Принята к публикации: 26.01.2026. Опубликовано онлайн: 16.03.2026.

Article submitted: 04.12.2025. Accepted for publication: 26.01.2026. Published online: 16.03.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-30-45>

Молекулярно-генетические факторы онкогенеза, ассоциированного с вирусом Эпштейна–Барр

Н.А. Сахарнов¹, О.В. Уткин¹, С.П. Дмитриев², Е.Н. Филатова¹, С.В. Зиновьев², Н.А. Суслов¹, С.В. Гамаюнов²

¹ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора; Россия, 603950 Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71;

²ТАУЗ НО «Научно-исследовательский институт клинической онкологии “Нижегородский областной клинический онкологический диспансер”»; Россия, 603163 Нижний Новгород, ул. Деловая, 11/1

Контакты: Николай Александрович Сахарнов sakharnov_n@mail.ru

Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) является герпесвирусом человека 4-го типа, носительство которого характерно для большинства мирового населения. Доказана этиологическая роль ВЭБ в развитии различных лимфом, рака носоглотки, желудка и других злокачественных новообразований. Активно изучаются механизмы и участники ВЭБ-ассоциированного онкогенеза. В настоящем обзоре описывается молекулярно-генетическая вариативность ВЭБ, связанная с развитием онкологических заболеваний. Анализ литературы показал, что для этого вируса характерно высокое структурно-функциональное разнообразие нуклеотидных и аминокислотных последовательностей. На основе полиморфизма генов *EBNA-1*, *EBNA-2*, *EBNA-LP*, *EBER*, *BZLF1*, *LMP-2A* и *LMP-1* выявлены различные мутации, типы и варианты генов ВЭБ, ассоциированные со злокачественной трансформацией и развитием различных типов рака.

Цель работы – обобщение и анализ данных литературы, посвященной изучению генетического разнообразия ВЭБ для перспективного развития методологии молекулярно-биологических исследований, а также разработке средств диагностики, специфической профилактики и терапии ВЭБ-ассоциированных онкологических заболеваний на основе продуктов генома вируса.

Ключевые слова: вирус Эпштейна–Барр, онкогенез, LMP-1, рак носоглотки, специфическая терапия вируса Эпштейна–Барр

Для цитирования: Сахарнов Н.А., Уткин О.В., Дмитриев С.П. и др. Молекулярно-генетические факторы онкогенеза, ассоциированного с вирусом Эпштейна–Барр. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(1):30–45.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-30-45>

Molecular genetic factors of oncogenesis associated with the Epstein–Barr virus

N.A. Sakharov¹, O.V. Utkin¹, S.P. Dmitriev², E.N. Filatova¹, S.V. Zinovev², N.A. Suslov¹, S.V. Gamayunov²

¹Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Federal Service for the Oversight of Consumer Protection and Welfare; 71 Malaya Yamskaya St., Nizhny Novgorod 603950, Russia;

²Research Institute of Clinical Oncology “Nizhny Novgorod Regional Clinical Oncology Dispensary”; 11/1 Delovaya St., Nizhny Novgorod 603163, Russia

Contacts: Nikolay Aleksandrovich Sakharov sakharnov_n@mail.ru

Epstein–Barr virus (EBV) is a human herpesvirus type 4, which is carried by the majority of the world's population. Its etiologic role in the development of various lymphomas, nasopharyngeal cancer, gastric cancer, and other malignancies has been proven. The mechanisms and participants of EBV-associated oncogenesis are actively studied. This review describes the molecular genetic diversity of EBV associated with the development of cancer. A literature review revealed that EBV is characterized by high structural and functional diversity of nucleotide and amino acid sequences. Based on polymorphism of EBV genes *EBNA-1*, *EBNA-2*, *EBNA-LP*, *EBER*, *BZLF1*, *LMP-2A* and *LMP-1*, various mutations, types, and variants, associated with malignant transformation and the development of various cancer types were identified.

Aim. To summarize and analyze literature data devoted to the study of the genetic diversity of EBV for the prospective development of molecular biological research methodology in clinical practice, as well as the development of diagnostic tools, specific prevention and therapy of EBV-associated oncological diseases based on the products of the viral genome.

Keywords: Epstein–Barr virus, oncogenesis, LMP-1, nasopharyngeal cancer, Epstein–Barr virus specific therapy

For citation: Sakharnov N.A., Utkin O.V., Dmitriev S.P. et al. Molecular genetic factors of oncogenesis associated with the Epstein–Barr virus. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2026;13(1):30–45. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-30-45>

ВВЕДЕНИЕ

В 2024 г. исполнилось 60 лет с момента открытия вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) — первого канцерогенного вируса, выявленного в культуре клеток больного лимфомой Беркитта (ЛБ) [1]. ВЭБ широко распространен во всем мире. По данным эпидемиологических исследований, более 90 % населения имеют антитела к данному вирусу и являются его носителями [2]. В неиндустриальных странах у большинства детей до 2 лет происходит инфицирование ВЭБ, в развитых странах — в более позднем возрасте [3]. Постоянно расширяется спектр ВЭБ-ассоциированных патологий. Этот вирус является ведущим этиологическим агентом инфекционного мононуклеоза. При различных нарушениях иммунитета у человека могут развиваться хроническая активная ВЭБ-инфекция, гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз, рассеянный склероз, системная красная волчанка, а также ряд онкологических заболеваний [4].

По классификации Международной ассоциации по исследованию рака (МАИР) ВЭБ относится к онкогенным вирусам 1-й группы. По версии МАИР онкогенными свойствами ВЭБ являются способности вируса immortalize В-лимфоциты человека *in vitro*, индуцировать миграцию и инвазию инфицированных клеток *in vitro*, влияние белков ВЭБ на пролиферацию, апоптоз и миграцию инфицированных клеток, ВЭБ-опосредованная индукция лимфопролиферативных заболеваний при заражении лабораторных обезьян или при трансплантации ВЭБ-инфицированных В-лимфоцитов человека мышам с ослабленным иммунитетом. Кроме того, существуют убедительные доказательства онкогенного действия ВЭБ *in vivo*. Выявлена экспрессия продуктов генома ВЭБ в широком спектре злокачественных опухолей человека [5].

Доказана этиологическая роль ВЭБ в развитии ряда лимфопролиферативных, эпителиальных и мезенхимальных новообразований, в том числе В-, Т- и НК-клеточных (НК — естественные киллеры) лимфом, ЛБ, лимфомы Ходжкина (ЛХ), рака носоглотки (РНГ), желудка и др. [6].

По различным данным, в 2020 г. в мире зарегистрировано до 357 900 случаев ВЭБ-ассоциированных онкологических заболеваний и до 208 700 летальных случаев, связанных с ними [7].

Для успешной персистенции ВЭБ реализует различные механизмы ухода от иммунного ответа [8], в том числе генетические и эпигенетические изменения генома, подавление апоптоза, усиление клеточной

пролиферации, ингибирование иммунного распознавания ВЭБ-инфицированных клеток. Активация этих механизмов обеспечивается в ходе экспрессии ВЭБ-специфических генов на разных фазах жизненного цикла [9].

Исследование механизмов и участников ВЭБ-ассоциированного онкогенеза имеет решающее значение для разработки методов ранней диагностики и терапии онкологических заболеваний [10].

Несмотря на достижения в области молекулярной генетики и длительное изучение ВЭБ, масштабных работ, направленных на определение взаимосвязи генетического разнообразия вируса и развития онкологических заболеваний человека, а также клинических проявлений течения конкретной нозологической формы ВЭБ-ассоциированного рака мало, что требует интенсификации усилий со стороны научного и врачебного сообществ.

Цель работы — обобщение и анализ данных литературы, посвященной изучению генетического разнообразия ВЭБ для перспективного развития методологии молекулярно-биологических исследований, а также разработке средств диагностики, специфической профилактики и терапии ВЭБ-ассоциированных онкологических заболеваний на основе продуктов генома вируса.

ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ВИРУСА ЭПШТЕЙНА–БАРР И ФАКТОРЫ ИНИЦИАЦИИ ОНКОГЕНЕЗА

Основным путем заражения ВЭБ является воздушно-капельный. Источниками инфекции могут быть как пациенты с клиническими проявлениями, так и бессимптомные носители [11]. ВЭБ инфицирует эпителиальные клетки ротоглотки, где происходит активная продукция вирионов (литическая фаза инфекции). Далее вирус инфицирует покоящиеся В-клетки, большинство из которых становятся латентно инфицированными. В латентной фазе инфекции число экспрессируемых белков ВЭБ значительно сокращается, а геном вируса персистирует в виде эписомы или встраивается в ДНК клетки хозяина [12]. ВЭБ использует преимущественно латентный репродуктивный цикл воспроизведения [11].

В иммунокомпетентном организме латентная инфекция протекает чаще всего бессимптомно. Инициация ВЭБ-ассоциированного онкогенеза происходит при сочетанном воздействии многих факторов, в том числе при наличии паразитарных инфекций (малярии), влиянии канцерогенов, развитии иммунодефицитных

состояний (ВИЧ-инфекция, трансплантация органов и др.) [13–16]. Активация онкогенного потенциала ВЭБ происходит при недостаточности цитотоксического иммунного ответа, например при развитии посттрансплантационных В-клеточных гемобластозов. В случае менее иммуногенных опухолей (РНГ, ЛХ) также отмечаются локальные или системные нарушения антивирусного иммунного ответа. Таким образом, латенция и реактивация ВЭБ связаны с состоянием иммунной системы хозяина [17]. Интерпретация ВЭБ-ассоциированных новообразований осложняется тем, что этот вирус не вызывает выраженного цитопатического эффекта. О ВЭБ-ассоциированном неопластическом процессе могут свидетельствовать моноклональность ДНК ВЭБ в клетках опухоли, высокий уровень ДНК вируса в плазме, корреляция титра антивирусных антител и уровня ДНК с тяжестью клинических проявлений [18].

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ВИРУСА ЭПШТЕЙНА–БАРР

Активно изучается связь молекулярно-генетического разнообразия ВЭБ с развитием ВЭБ-ассоциированных патологий. Первая полногеномная последовательность ДНК штамма ВЭБ B95-8 была получена в США от пациента с инфекционным мононуклеозом (GenBank accession number V01555). Данный штамм долгое время считался референсным в лабораторных исследованиях ВЭБ [19]. В 2014 г. в геноме B95-8 обнаружена делеция размером 12 тыс. нуклеотидных оснований. Полноразмерная версия генома дикого типа ВЭБ выделена и секвенирована из клеточной линии Raji (EBV-wt, 26, GenBank accession number NC_007605.1). В настоящее время эта последовательность считается референсной [20]. С развитием технологий массового секвенирования количество расшифрованных геномов ВЭБ, выделенных из разных клинических образцов, значительно увеличилось. По данным Национального центра биотехнологической информации США (National Center for Biotechnology Information, NCBI), на сегодняшний день расшифровано 586 полных геномов ВЭБ [21].

Популяционная структура ВЭБ характеризуется значительной гетерогенностью нуклеотидных и аминокислотных последовательностей [20], кроме того, выявлены межтипная и внутритиповая рекомбинации ВЭБ, увеличивающие его разнообразие [20, 22]. Генетическая вариабельность этого вируса связана с усилением мутационных процессов в ходе прохождения ВЭБ-инфицированных лимфоцитов через зародышевые центры лимфатических узлов. С каждой репликацией в геноме ВЭБ возможно возникновение различных мутаций, формирующих его генетическое разнообразие [23]. Изменчивость данного вируса также проявляется в течении инфекционного процесса в организме одного пациента [24]. Уровень мутаций генома ВЭБ составляет приблизительно 1,27 % [25].

Продemonстрировано, что основным источником генетического полиморфизма в нем являются рекомбинации, превышающие частоту мутаций в 2,5 раза [26]. В экспериментах *in vitro* показано, что при культивировании В-клеток пациентов, инфицированных несколькими штаммами ВЭБ, доминирующим становится тот, который обладает более выраженным трансформирующим потенциалом [27]. Ведется активный поиск ассоциаций генетических вариантов ВЭБ с онкологическими заболеваниями [28]. Также предполагается, что определенные штаммы этого вируса связаны с развитием различных патологий, включая карциному желудка [2], РНГ [29], НК-/Т-клеточную лимфому [30].

ОСНОВНЫЕ ГЕНЫ ВИРУСА ЭПШТЕЙНА–БАРР И ТИПЫ ИХ ЭКСПРЕССИИ В ЛАТЕНТНОЙ ФАЗЕ ИНФЕКЦИИ

Геном ВЭБ представлен двуцепочечной ДНК размером около 172 тыс. пар нуклеотидов (п.н.) и содержит более 90 открытых рамок считывания [31]. В онкогенных процессах принимают участие следующие продукты генома ВЭБ: ядерные антигены ВЭБ (*EBNA-1*, -2, -3A, -3B, -3C, -LP), латентные мембранные белки (*LMP-1*, -2A, -2B), малые РНК *EBER-1* и *EBER-2*, микроРНК из областей *BART* и *BHRF1* и др. Из белков литической фазы ВЭБ-инфекции необходимо отметить вирусные факторы транскрипции (*BZLF1*), ДНК-полимеразу (*BALF5*), гликопротеины (например, *gp350/220* и *gp110*), капсидные и тегументные структурные белки [11]. Характерной особенностью генома ВЭБ является высокое содержание различных повторяющихся последовательностей. Например, терминальные повторы, которые локализуются на концах линейной формы генома этого вируса. Их разнообразие отражает клональность ВЭБ-инфицированных клеток [32]. Внутренние повторы (*IR/internal repeats*) локализуются в кодирующих областях генома или около точек репликации и участвуют в регуляции экспрессии некоторых генов ВЭБ [33, 34].

Выделяют несколько типов латентной фазы ВЭБ, различающихся по спектрам экспрессии генов от минимального (нулевого) до III типа в инфицированных клетках. Типы латенции ВЭБ ассоциируются с различными клиническими проявлениями. При латенции нулевого типа спектр экспрессии продуктов генома ВЭБ ограничен РНК *EBER* и *BART*. Этот тип латенции характерен для большинства иммунокомпетентных носителей. Латенция 1-го типа малоактивна, экспрессируются РНК *EBER-1*, *EBER-2*, ген *EBNA-1* и в отдельных случаях ген *LMP-2A*. Такой тип латенции ассоциирован с ЛБ. При латенции 2-го типа экспрессируются РНК *EBER-1*, *EBER-2* и гены *EBNA-1*, *LMP-1*, -2A, -2B. Данный тип латенции взаимосвязан с развитием эпителиальных опухолей (РНГ и др.) и ЛХ. Латенция 3-го типа относится к наиболее активной, при ней экспрессируется самый широкий спектр

латентных генов *EBNA-1*, *EBER-2*, *LMP-1*, *-2A*, *-2B*, и РНК *EBER-1* и *EBER-2*. Такой тип латенции выявляется при иммунодефицитных состояниях, синдроме приобретенного иммунного дефицита (СПИД), различных лимфомах [35].

ПОЛИМОРФИЗМ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФАКТОРОВ ОНКОГЕНЕЗА, АССОЦИИРОВАННОГО С ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА–БАРР

Продукты генома ВЭБ характеризуются высоким молекулярно-генетическим разнообразием (табл. 1).

Многие из них участвуют в процессах злокачественной трансформации клеток [36], а также являются мишенями иммунного распознавания. Более высокая частота встречаемости однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) и соотношение несинонимичных изменений аминокислот позволяют предположить, что эти гены развиваются под действием отбора, целью которого является ускользание из-под иммунного надзора [23].

Ядерный белок ВЭБ EBNA-1 функционирует как ДНК-связывающий белок – регулятор транскрипции продуктов генома ВЭБ. Показано, что EBNA-1

Таблица 1. Молекулярно-генетический полиморфизм онкогенов вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ)

Table 1. Molecular genetic polymorphism of Epstein–Barr virus oncogenes (EBV)

Онкоген Oncogene	Функция Function	Полиморфизм Polymorphism	Пример Exempl
<i>EBNA-1</i> (ядерный белок ВЭБ 1-го типа) <i>EBNA-1</i> (EBV nuclear antigen 1)	Активатор транскрипции, антиапоптотический фактор Transcription activator, antiapoptotic factor	Варианты P-ala (B95-8), P-thr, V-val, V-leu, V-pro Variants P-ala (B95-8), P-thr, V-val, V-leu, V-pro	V-val ассоциирован с раком носоглотки, V-leu – с лимфомой Беркитта [37, 38] V-val is associated with nasopharyngeal cancer, V-leu – with Burkitt's lymphoma [37, 38]
<i>EBNA-2</i> (ядерный белок ВЭБ 2-го типа) <i>EBNA-2</i> (EBV nuclear antigen 2)	Активатор транскрипции и пролиферации клеток Activator of transcription and cell proliferation	ВЭБ 1-го и 2-го типов EBV 1 and 2 types	ВЭБ 1-го типа эффективнее трансформирует В-клетки <i>in vitro</i> [39], трансформирующая активность изучена недостаточно EBV of type 1 is more efficient at transforming B cells <i>in vitro</i> [39], this transforming activity has not been adequately studied
<i>EBNA-3B</i> (ядерный белок ВЭБ типа 3B) <i>EBNA-3B</i> (EBV nuclear antigen 3B)	Опухолевый супрессор Tumor suppressor	Мутации без классификации Mutations without classification	Отдельные мутации выявлены в образцах различных лимфом [2, 40] Individual mutations have been identified in samples from various lymphomas [2, 40]
<i>EBNA-LP</i> (лидерный ядерный белок ВЭБ) <i>EBNA-LP</i> (EBV nuclear antigen leader protein)	Активатор транскрипции Transcription activator	Внутренние повторы в регионе IR1/BamW Internal repeats in the IR1/BamW region	Количество внутренних повторов IR1 коррелирует с уровнем трансформации В-клеток [33] The number of IR1 repeats correlates with the level of B-cell transformation [33]
<i>BART</i> (правонаправленные транскрипты BamHI A) <i>BART</i> (BamHI A rightward transcripts)	Модулятор литической репликации ВЭБ EBV lytic replication modulator	Мутации без классификации Mutations without classification	Повышенная экспрессия в образцах опухолей носоглотки и рака желудка [41] Increased expression in nasopharyngeal tumor and gastric cancer samples [41]
<i>EBER</i> (ВЭБ-кодируемые малые РНК) <i>EBER</i> (EBV encoded small RNAs)	Лocus генома ВЭБ, содержащий некодирующие РНК EBV genome locus containing non-coding RNAs	Подгруппы ВЭБ 1A, 1B, 1C, 2A, B Subgroups 1A, 1B, 1C, 2A, B	Подгруппы ВЭБ 1A, 1B чаще выявлялись при раке носоглотки [42, 43] Subgroups 1A, 1B were more frequently detected in nasopharyngeal cancer [42, 43]
<i>BZLF</i> (BamHI Z, активатор) <i>BZLF</i> (BamHI Z, EBV replication activator)	Регулятор литической фазы инфекции Regulator of the lytic phase of infection	Варианты Zp-P (B95-8), Zp-V3, Zp-V4, Zp-PV Variants Zp-P (B95-8), Zp-V3, Zp-V4, Zp-PV	Zp-V3 чаще детектировался при лимфомах, ассоциированных с синдромом приобретенного иммунного дефицита [44] Zp-V3 was detected more frequently in various acquired immune deficiency syndrome associated lymphomas [44]
<i>LMP-2A</i> (латентный мембранный белок-2A) <i>LMP-2A</i> (latent membrane protein-2)	Трансмембранный белок, аналог В-клеточного рецептора (BCR), модулятор пролиферации и апоптоза клеток Transmembrane protein, an analogue of the B-cell receptor (BCR), a modulator of cell proliferation and apoptosis	Мутации без классификации Mutations without classification	Отдельные полиморфизмы <i>LMP-2A</i> выявлены при различных заболеваниях, их роль мало изучена [45] Individual <i>LMP-2A</i> polymorphisms have been identified in various diseases, but their role has been little studied [45]

Окончание табл. 1

End of table 1

Онкоген Oncogene	Функция Function	Полиморфизм Polymorphysm	Пример Examl
<i>LMP-1</i> (латентный мембранный белок-1) <i>LMP-1</i> (latent membrane protein-1)	Трансмембранный белок, аналог рецептора фактора некроза опухоли 1 (TNFR-1), без домена смерти, модулятор пролиферации и апоптоза клеток Transmembrane protein, an analog of tumor necrosis factor receptor 1 (TNFR-1) without a death domain, a modulator of cell proliferation and apoptosis	Варианты гена <i>LMP-1</i> B95-8, China1, China2, Med+, Med-, NC, Alaska, SEA-1, SEA-2, V-1, V-2, Srb-1, Srb-2, Tat ^K , Tat ^{BC} <i>LMP-1</i> genovariants B95-8, China1, China2, Med+, Med-, NC, Alaska, SEA-1, SEA-2, V-1, V-2, Srb-1, Srb-2, Tat ^K , Tat ^{BC}	Выявлены ассоциации наличия различных вариантов <i>LMP-1</i> с восприимчивостью и/или тяжестью проявлений рака носоглотки [39, 46–49] Associations have been identified between the presence of <i>LMP-1</i> variants and susceptibility and/or severity of nasopharyngeal cancer manifestations [39, 46–49]
		Полиморфизмы 30 bp del (CAO), 69 bp del, 33 bp rep, 15 bp ins Polymorphisms 30 bp del (CAO), 69 bp del, 33 bp rep, 15 bp ins	Наличие CAO del ассоциировано с повышенным трансформирующим потенциалом ВЭБ [50, 51] и прогрессированием рака носоглотки [52–54]. 69 bp del выявлена в различных лимфомах и связана с повышенной онкогенной активностью [48, 55, 56] The presence of CAO del is associated with increased EBV transforming potential [50, 51] and nasopharyngeal cancer progression [52–54]. 69 bp del has been identified in various lymphomas and is associated with increased oncogenic activity [48, 55, 56]
		Однонуклеотидные полиморфизмы G212S+S366T+E328Q, G212S+S366T Single nucleotide polymorphisms G212S+S366T+E328Q, G212S+S366T	Однонуклеотидные полиморфизмы G212S+S366T ассоциированы с геновариантом CAO с большей трансформирующей активностью по сравнению с B95-8 [57, 58] Single nucleotide polymorphisms G212S+S366T are associated with the CAO genovariant with greater transforming activity compared to B95-8 [57, 58]

экспрессируется во всех типах ВЭБ-ассоциированных опухолей [59] и проявляет антиапоптотическое действие. Блокирование экспрессии этого гена индуцирует апоптоз в клеточных линиях ЛБ [60]. Результаты недавних исследований с использованием полногеномного секвенирования ВЭБ-ассоциированных носоглоточных карцином показали, что EBNA-1 повышает геномную нестабильность участка хромосомы человека 11q23 [61]. Разработана классификация ВЭБ в контексте аминокислотного полиморфизма гена *EBNA-1*. Выделяют 5 вариантов ВЭБ: P-ala (B95-8/дикий тип), P-thr, V-val, V-leu и V-pro [37]. Выявлены ассоциации варианта V-leu с эндемичными и неэндемичными формами ЛБ, V-val — с РНГ, при этом P-ala редко детектировался при злокачественных новообразованиях [37, 38]. По другим данным, вариант ВЭБ V-val наиболее распространен в Азии — как в общей популяции, так и при ВЭБ-ассоциированных новообразованиях [62]. Таким образом, не выявлено вариантов ВЭБ, специфических для ВЭБ-ассоциированных опухолей.

Ядерный белок ВЭБ EBNA-2 образует комплекс с белком клетки RBPJ (recombination signal binding protein), который инициирует взаимодействие энхансера и промотора гена пролиферации *MYC*. Делеция гена *EBNA-2* выявлена в клеточных линиях ЛБ, при этом в них отмечается повышенная экспрессия белка ВЭБ BHRF — аналога клеточного антиапоптотического белка Bcl-2. Такая делеция приводит к повышению пролиферативной активности клеток в ходе развития ЛБ [63, 64].

В соответствии с наиболее распространенной классификацией ВЭБ выделяют ВЭБ 1-го (ВЭБ-1) и 2-го (ВЭБ-2) типов. Референсным штаммом ВЭБ-1 является B95-8, ВЭБ-2 — AG876. Наименьшее сходство ВЭБ-1 и ВЭБ-2 наблюдается в основном в гене *EBNA-2* (70 и 53 % сходства нуклеотидной и аминокислотной последовательностей, соответственно) [65, 66], в меньшей степени — в гене *EBNA-3* [66, 67]. Показано, что ВЭБ-1 проявляет более высокую трансформирующую активность по отношению к В-лимфоцитам

человека [39]. Выявлены функциональные различия между разными штаммами ВЭБ-1. Так, штаммы B95-8 и Akata активируют рост инфицированных клеток и проявляют тропность к В-клеткам, а штаммы YCCEL1 и M81 индуцируют литическую репликацию в тех же клетках и более эффективно инфицируют эпителиальные клетки и клетки карциномы желудка [68].

Не существует достаточных доказательств ассоциации типов ВЭБ с развитием онкологических заболеваний. Несмотря на то что ВЭБ-2 часто встречается в районах Африки, эндемичных для ЛБ, частота возникновения данной патологии отражает скорее заболеваемость в популяции, чем связь с типом ВЭБ. Возможно, инфицирование ВЭБ-2 может происходить при хронической иммунной активации или при иммунодефицитных состояниях [46].

В России — регионе, неэндемичном для ВЭБ-ассоциированных опухолей, — также проводились исследования, посвященные изучению распространенности типов ВЭБ и их связи с онкологическими заболеваниями. Показано, что у различных народов России распространенность ВЭБ-1 и ВЭБ-2 может существенно варьировать, но преобладание в популяции ВЭБ-1 не ассоциировано с повышением частоты встречаемости злокачественных новообразований [69]. А.К. Лубенская и соавт. изучили распространенность ВЭБ-1 и ВЭБ-2 у больных РНГ и пациентов с опухолями полости рта, не ассоциированными с ВЭБ. Выявлено, что ни один из типов ВЭБ не обладает преимуществом в индукции РНГ [70]. Результаты исследования К.В. Смирновой и соавт. показали, что на распространенность ВЭБ-1 и ВЭБ-2 не влияют пол и этногеографическая принадлежность больных с данной патологией, но оба типа ВЭБ при определенных условиях могут инициировать развитие опухоли [71].

Ядерный белок ВЭБ EBNA-3В является опухолевым супрессором. Показано, что делеция гена *EBNA-3В* повышает способность вируса к трансформации и пролиферации В-клеток. Мутации в гене *EBNA-3В* выявлены в ВЭБ-положительных образцах различных лимфом [2, 40].

BART (BamHI A rightward transcripts) является локусом генома ВЭБ, кодирующим прекурсоры микроРНК [72]. Показано, что микроРНК *BART* штамма M81 модулирует активность литической репликации ВЭБ и опухолевый рост у мышей [73]. В геноме дикого типа ВЭБ B95-8 содержится делеция, захватывающая большую часть последовательности, кодирующей РНК *BART*, и одну из точек литической репликации. Данная делеция влияет на активность ВЭБ-ассоциированного онкогенеза. В ВЭБ-положительных образцах РНГ и рака желудка выявлены повышенные уровни экспрессии РНК *BART* [41].

EBER (EBV-encoded small RNAs) является локусом генома ВЭБ, содержащим некодирующие РНК. Показано, что данные РНК взаимодействуют с белками клетки, образуя рибонуклеиновые комплексы. Пред-

полагается участие РНК *EBER* в злокачественной трансформации клеток [74]. В ходе исследования полиморфизмов в локусе *EBER* в образцах слюны 142 носителей и 62 образцов биопсийного материала, полученного от пациентов с РНГ, с помощью кластерного анализа выявлены 5 подгрупп ВЭБ (ВЭБ-1А, -1В, -1С, -2А, -2В). У пациентов с РНГ преобладали ВЭБ-1А и ВЭБ-1В. Наиболее значимым полиморфизмом, связанным с РНГ, являлась делеция из 4 нуклеотидов, расположенных ниже гена *EBER-2*. Предполагается, что белок EBEB-2 способствует ВЭБ-опосредованной трансформации клеток [42, 43].

Ген ВЭБ *BZLF1* (BamHI Z EBV replication activator) является главным регулятором литической инфекции и играет большую роль в опухолевой трансформации клеток [75]. Считается, что склонность к литической инфекции усиливает злокачественный потенциал ВЭБ в животных моделях лимфомагенеза [76]. Выявлен высокий полиморфизм кодирующей и промоторной областей гена *BZLF1*. По классификации на основе Zp — промоторной последовательности гена *BZLF-1* — выделяют 4 варианта ВЭБ: ВЭБ-Zp-P (B95-8), -Zp-V3, -Zp-V4 и -Zp-PV [77, 44]. Показано, что вариант Zp-V3 чаще детектируется при различных СПИД-ассоциированных лимфомах [44]. Обнаружено, что вариация последовательностей промоторной области *BZLF1* в штамме ВЭБ M81, полученном от пациента с РНГ, связана с активностью литического цикла [78]. При инфицировании В-лимфоцитов штаммом ВЭБ M81 отмечался высокий уровень спонтанной репликации вируса, что также совпадало с выявлением высоких титров антител против литических белков ВЭБ у пациентов с РНГ [79].

Ядерный белок ВЭБ EBNA-LP (EBV nuclear antigen leader protein) образует несколько изоформ, содержащих от 2 до 5 повторов в регионе IR-1 (internal repeat-1)/BamW и коррелирующих с уровнем трансформации В-клеток. Таким образом, вариабельность повторяющихся последовательностей также может влиять на трансформирующую способность ВЭБ [33].

Латентный мембранный белок ВЭБ LMP-2A (latent membrane protein 2A) активирует фосфоинозитид-3-киназу (PI3K) и последующее фосфорилирование протеинкиназы Akt в эпителиальных и В-клетках, модулируя пролиферацию и апоптоз клеток [80, 81]. Полиморфизмы гена *LMP-2A* выявлены в клинических изолятах при различных заболеваниях, однако их патогенетическая роль остается неизвестной [45].

Наиболее изученным онкогенным белком ВЭБ является латентный мембранный белок-1 (LMP1/latent membrane protein 1) [82]. Полиморфизм гена *LMP-1* тесно связан с функциональной активностью этого белка и молекулярными механизмами патогенеза ВЭБ-инфекции [82, 83]. Показано, что LMP-1 играет большую роль в выживании ВЭБ-инфицированных клеток, а также в модуляции различных сигнальных путей [84].

Ген *LMP-1* размером 1158 п.н. кодирует белок из 386 аминокислот. *LMP-1* является структурным и функциональным аналогом клеточного рецептора смерти TNFR1, но он не индуцирует апоптоз, так как не имеет домена смерти. Белок *LMP-1* имеет 6 постоянно олигомеризованных трансмембранных доменов, что позволяет проводить сигнал в клетку без связывания с лигандом. Также он содержит 3 С-концевых области (STAR-1, -2 и -3), которые взаимодействуют с клеточными медиаторами TRAF-1, -2, -3 и -5. Далее происходит активация множества клеточных сигнальных путей выживания и пролиферации с участием транскрипционного ядерного фактора κВ (NF-κВ), JNK, p38 MAPK, JAK/STAT и PI3K/Akt. Кроме того, *LMP-1* опосредует повышение экспрессии генов *EGFR* и *TRAF1*, модулирующих факторы регуляции клеточного цикла, а также активность теломеразы, что способствует иммортализации ВЭБ-инфицированных клеток [52, 85]. Показано, что ВЭБ с делецией гена *LMP-1* не способен эффективно иммортализировать В-клетки [86]. Для этого гена характерно самое высокое молекулярно-генетическое разнообразие. Активно изучается влияние вариативности *LMP-1* на характеристики иммуногенности и онкогенности ВЭБ [28, 47].

Наиболее распространенная и часто цитируемая «географическая» классификация ВЭБ R.H. Edwards и соавт. основана на характерных аминокислотных сигнатурах С-концевого фрагмента гена *LMP-1*, по которым выделяют следующие варианты гена: B95-8 (дикий тип), China1, China2, Med+ (Mediterranean), Med–, Alaskan и NC (Nothorn Carolina) [87] (табл. 2). Варианты гена *LMP-1* встречаются в мире с различной частотой [46, 88].

Активность изучения вариантов гена *LMP-1* значительно возросла, когда была продемонстрирована взаимосвязь между ними и развитием ряда онкологических заболеваний. Так, отмечаются ассоциации наличия вариантов гена *LMP-1* с восприимчивостью и/или тяжестью проявлений РНГ [39, 46–49]. В исследовании А.Е. Alanazi и соавт. продемонстрировано, что у пациентов с РНГ поздних стадий часто присутствовали варианты гена *LMP-1* B95-8, Med+ и Med– [48]. Также показано, что в Катаре в изолятах ВЭБ, выделенных у здоровых носителей, наиболее часто встречались те же геноварианты [39].

В России проводились исследования, посвященные оценке распространения вариантов гена *LMP-1* среди здоровых носителей и пациентов с онкологическими заболеваниями (ЛХ, неходжкинскими лимфомами, РНГ, раком желудка). Как у здоровых носителей, так и у больных доминировал низкодивергентный и низкоонкогенный геновариант B95-8/А. Геноварианты China1 и Med+, характеризующиеся высокой дивергенцией и трансформирующей активностью, чаще выявлялись в образцах опухолей, чем в крови и смывах полости рта тех же пациентов, также они присутствовали и у здоровых носителей. Полученные данные показывают, что варианты гена *LMP-1* China1 и Med+ могут персистировать в любой популяции и опосредованно связаны с развитием онкологических патологий [89]. В ходе российских исследований, посвященных изучению молекулярного разнообразия вариантов гена *LMP-1*, выделенных из опухолевых тканей ВЭБ-отрицательного рака желудка и нормальных тканей тех же больных, выявлено, что для образцов опухолей характерно большее разнообразие этого

Таблица 2. «Географическая» классификация вируса Эпштейна–Барр (по [87] с изменениями)

Table 2. “Geographical” classification of Epstein–Barr virus (by [87] with changes)

Вариант гена <i>LMP-1</i> Variant of gene <i>LMP-1</i>	Координаты сигнатурных аминокислот относительно белка LMP-1 YP_401722.1 штамма B95-8 (wt) Coordinates of signature amino acids relative to the LMP-1 protein YP_401722.1 of strain B95-8 (wt)						
	229	306	312	322	334	338	344 (область CAO-делеции) 344 (CAO deletion region)
B95-8 (wt)	S	L	D	Q/N	Q	L	G
Alaskan	S	P	N	K/T	Q	P	G
China1	S/T	L	D	N/H	R	S	Del
China2	S/T	L/P	D	Q	Q	P	D
Med+	T	L	D	E	R/del	S/del	Del
Med–	T	L	D	E	R	S/L	G
NC	S	Q	D	T	Q	P	G

Примечание. Буквами обозначены аминокислоты в соответствии со стандартным генетическим кодом. Del – делеция.

Note. The letters represent amino acids according to the standard genetic code. Del – deletion.

гена, хотя его варианты, специфические для рака желудка, обнаружены не были [90].

Показано, что у одного носителя может одновременно персистировать несколько вариантов гена *LMP-1*, различных в разных субстратах, например слюне и крови. С течением времени их состав может изменяться. Механизмы смены и циркуляции вариантов гена *LMP-1* не изучены [45, 87, 91]. К настоящему времени выявлены новые географические варианты гена *LMP-1*: Southeast Asia 1 (SEA-1) и 2 (SEA-2) (Таиланд) [84, 92], V1 и V2 (Вьетнам) [93], Srb-1 и Srb-2 (Сербия) [47]. В России обнаружены варианты гена *LMP-1* Tat^K и Tat^{BC}. Клиническая значимость этих генотипов не изучена [94–96].

Среди полиморфизмов гена *LMP-1* известны делеции 30 п.н. (10 аминокислот) (CAO-делеция), 69 п.н. (23 аминокислоты), повторы 33 п.н. (11 аминокислот), вставки 15 п.н. (5 аминокислот), кодирующие мотив JAK3, а также ряд однонуклеотидных и аминокислотных замен [28, 97].

Первый онкогенный вариант гена *LMP-1* CAO описан в 1991 г. [98]. Изолят ВЭБ выделен из опухолевого образца пациента с РНГ в Шанхае. Отличие белка LMP-1 CAO (404 аминокислоты) от референсного LMP-1 B95-8 (386 аминокислот) заключается во вставке 3 tandemных повторов по 11 аминокислот (33 п.н.), 2 делециях размером в 5 аминокислот (15 п.н.) и 10 аминокислот (30 п.н.) в положении 168287–168256, множественных заменах аминокислот, а также отсутствии сайта рестрикции XhoI в положении 169425 [98].

Наиболее активно изучается так называемая CAO-делеция гена *LMP-1* размером в 30 п.н. (10 аминокислот), расположенная между локусами STAR-1 и STAR-2 в С-концевой области. Наличие данной делеции ассоциировано с повышенным трансформирующим потенциалом ВЭБ [50, 51], а также с изменениями в эпителии распознавания Т-клеток, что позволяет вирусу избегать иммунных реакций [99]. Отметим, что CAO-делецию содержат варианты гена *LMP-1* China1, China3 и Med с повышенной трансформирующей активностью [87]. Показано, что CAO-делеция ассоциирована с прогрессированием РНГ [52, 53]. Штаммы ВЭБ, содержащие эту делецию (GD1, China1), обнаружены в 86 % образцов биопсии РНГ в Азии ($n = 187$) [53]. Результаты исследования, в которое вошли 249 пациентов с РНГ из Тайваня, показали, что CAO-делеция увеличивает риск развития отдаленных метастазов [54]. Наиболее высокая встречаемость этой делеции у пациентов с РНГ отмечается в Юго-Восточной Азии (79 % случаев), Северной Америке (64 % случаев) и Африке (59 % случаев) [55]. Однако CAO-делеция с различной частотой детектировалась и у здоровых носителей (62,5 % случаев на Тайване, 55,6 % – в Польше, 28 % – в Аргентине, 30,6 % – в Катаре) [49]. В арабских странах CAO-делеция обнаружена в Тунисе и Марокко [100, 101] у пациентов с неходж-

кинской лимфомой, а также у здоровых доноров в Катаре [39]. Данная делеция также выявлена у больных раком желудка, ЛХ и неходжкинскими лимфомами [28, 51].

Описана делеция гена *LMP-1* размером 69 п.н. (23 аминокислоты), которая включает CAO-делецию (GDQGPPLMTDG'GGGSHSDSGH'GG). Данная делеция выявлена у пациентов с РНГ во Вьетнаме и арабских странах. Показано, что делеция 69 п.н. связана с повышенной трансформирующей активностью и сниженным иммуногенным потенциалом ВЭБ [48, 55]. Делеция 69 п.н. также обнаружена в образцах различных лимфом, в том числе в экстранодальной НК-/Т-клеточной лимфоме, диффузной В-крупноклеточной лимфоме, ЛХ [48, 56].

Еще одним полиморфизмом гена *LMP-1* является вставка Jack3 размером 15 п.н., которая выявлена у европейских пациентов в изолятах ВЭБ дикого типа B95-8 [92]. Изоляты ВЭБ, содержащие вставку такого типа, обнаружены у больных РНГ в Объединенных Арабских Эмиратах, что предполагает значительную распространенность данного полиморфизма в мире [48].

В России опубликован ряд работ, посвященных изучению аминокислотных замен в составе белка LMP-1. В Нижегородской области выявлена высокая распространенность варианта гена *LMP-1* B95-8, содержащего аминокислотные замены G212S+S366T+E328Q, что может быть связано с тенденцией к росту числа ВЭБ-ассоциированных патологий. Влияние данной комбинации аминокислотных замен на функциональную активность белка LMP-1 не изучено [102]. Показано, что аминокислотные замены в белке LMP-1 G212S и S366T ассоциированы с генотипом CAO, характеризующимся большей трансформирующей активностью по сравнению с B95-8 [57]. На клеточных линиях продемонстрировано, что генотип B95-8 с аминокислотными заменами G212S+S366T усиливает активацию NF-κB, участвующего в процессах пролиферации и опухолевой трансформации [58].

Известна классификация ВЭБ на основе полиморфизма длин рестрикционных фрагментов BamHI (генотипы C/D, F/f, I/i) и XhoI (генотипы XhoI+ и XhoI–). Отмечаются ассоциации отдельных генотипов с онкологическими заболеваниями. Генотип C преобладает у пациентов с РНГ из Южного Китая, генотип f, также ассоциированный с РНГ, распространен в Южном Китае и на Тайване [103–105]. Выявлено, что в Южной Америке частота встречаемости генотипа ВЭБ i/XhoI+ при раке желудка значительно выше (55 % случаев), чем в контрольной группе (7 % случаев) [103, 106].

На основе данных полногеномного анализа предложена классификация филопопуляций ВЭБ (EBV-p). Выделены 7 монофилетических (EBV-p3, -p4, -p6, -p8, -p10, -p11, -p12) и 5 парафилетических (EBV-p1, -p2, -p5, -p7 и -p9) филопопуляций. Выявлены ассоциации фи-

лопопуляций ВЭБ с географическим положением и развитием различных новообразований: EBV-p1/Asia I — с раком желудка (кроме изолята sLCL-IM1.06, который ассоциирован с инфекционным мононуклеозом), EBV-p2/Asia II — с РНГ, раком желудка, ЛБ, карциномой легкого, EBV-p4/China — с РНГ (кроме изолята GC-EBV1, который ассоциирован с раком желудка) [26].

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ВИРУСА ЭПШТЕЙНА–БАРР ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАКА НОСОГЛОТКИ

Показано, что важным диагностическим маркером РНГ является уровень вирусной нагрузки ДНК ВЭБ, определяемый с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени [107, 108]. В России разрабатываются методы ранней диагностики РНГ на основе определения вирусной нагрузки ВЭБ в плазме крови и титров антител IgA/IgG-VCA против капсидного белка ВЭБ. Наличие РНГ подтверждалось высокими значениями хотя бы одного маркера. При этом вирусная нагрузка ВЭБ снижалась в состоянии ремиссии и повышалась при прогрессировании заболевания, в отличие от серологических маркеров. Комплексное использование исследуемых маркеров данного вируса способствует улучшению прогноза заболевания и терапевтического эффекта [109]. В работе А.С. Васильевой и А.Д. Молчановой показано, что количественная оценка ДНК ВЭБ, циркулирующей в плазме больных, может быть дополнительным инструментом диагностики рака желудка [110].

ПОДХОДЫ К СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА–БАРР

Поскольку ВЭБ инициирует злокачественную трансформацию клеток, он используется как потенциальная терапевтическая мишень для лечения рака. Активно разрабатывается несколько стратегий ВЭБ-специфической терапии, в том числе адоптивная клеточная терапия, применение противовирусных препаратов, разработка ВЭБ-специфических вакцин (рис. 1).

Адоптивная клеточная терапия заключается во введении пациентам ВЭБ-специфичных стимулированных *in vitro* Т-лимфоцитов, полученных от доноров. Такие клетки не только инициируют иммунный ответ против ВЭБ, но и могут обеспечивать его долгосрочную персистенцию [111]. В настоящее время ведется работа по применению клеточной терапии при РНГ и ЛХ [112].

Клинические испытания проходят несколько классов противовирусных препаратов, применяемых для лечения ВЭБ-инфекции, к которым относятся нуклеозидные аналоги (ацикловир, ганцикловир и др.), нуклеотидные аналоги (цидофовир, адефовир и др.) и пирофосфатные аналоги (фоскарнет, фосфоноацетилловая кислота и др.).

Противовирусное действие нуклеозидных аналогов состоит в блокировании репликации вирусной ДНК путем высокоаффинного взаимодействия с полимеразой ВЭБ. Для активации нуклеозидных аналогов необходимо наличие активных ферментов ВЭБ —



Рис. 1. Подходы к терапии онкологических заболеваний, ассоциированных с вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ)

Fig. 1. Approaches to therapy for Epstein–Barr virus (EBV) associated cancers diseases

протеинкиназы (EBV-ПК) и тимидинкиназы (EBV-ТК), которые не экспрессируются в латентной фазе инфекции [113].

Нуклеотидные аналоги также связываются с ДНК-полимеразой ВЭБ, но активируются с помощью клеточных киназ, что позволяет использовать эти препараты против ВЭБ в латентной фазе [114]. Показано, что цидофовир активно подавляет рост опухоли в ВЭБ-положительных трансплантатах РНГ у голых мышей [115].

Аналоги пирозинатов также нарушают активность вирусной ДНК-полимеразы, препятствуя отщеплению пирозината от нуклеозидтрифосфата. Активность данных препаратов не зависит от вирусных протеинкиназ, однако они обладают высокой токсичностью. Продemonстрирована эффективность фоскарнета при ВЭБ+-посттрансплантационном лимфопролиферативном синдроме [116].

Разработка специфических вакцин является перспективным направлением в терапии ВЭБ-ассоциированных заболеваний. Механизм вакцинации заключается в предотвращении заражения ВЭБ путем предварительной индукции специфического антительного ответа.

Первые вакцины против ВЭБ разработаны на основе оболочечного гликопротеина этого вируса gp350/BLLF1 [117]. В 2022 г. создана вакцина на основе gp350 с наночастицами ферритина, которая проходит клинические испытания I фазы на людях (NCT04645147). В 2019 г. предложена вакцина на основе гликопротеинов ВЭБ gH/gL и gp42, которая блокировала заражение ВЭБ как эпителиальных, так и В-клеток. Она апробирована на животных моделях [118].

Рекомбинантные вирусные вакцины представляют собой модифицированные живые вирусы, экспрессирующие таргетные белки. Известна вакцина MVA-EL на основе вируса коровьей оспы MVA, С-концевой части гена ВЭБ *EBNA-1* и полного гена ВЭБ *LMP-2*. Данная вакцина проходила клинические испытания I фазы с участием пациентов с ВЭБ-положительным РНГ (NCT01147991). Она хорошо переносилась и вызывала специфический Т-клеточный ответ [119]. Также разработана вакцина AdE1-LMPpoly на основе аденовирусного вектора и гена ВЭБ *LMP-1*. Она также проходила клинические испытания I фазы (ACTRN12609000675224) на пациентах с РНГ. Выявлено увеличение количества ВЭБ-специфичных Т-клеток, инфузия которых повышала продолжительность жизни больных в 2,3 раза [120].

Одним из перспективных направлений терапии ВЭБ является создание векторных вакцин на основе вирусоподобных частиц, представляющих собой неинфекционную версию вируса, которая инициирует специфический врожденный и адаптивный иммунный ответ. Разработан вектор, состоящий из ядерных белков ВЭБ *EBNA-1*, *EBNA-3C* и оболочечного белка

BNRF1. Однако испытание на мышах показало его слабый иммуногенный эффект [121]. В 2021 г. компания Moderna, Inc. (США) разработала мРНК-вакцину против ВЭБ на основе оболочечных генов ВЭБ *gp350*, *gB*, *gH/gL* и *gp42*. Вакцина прошла клинические испытания I фазы на мышах и продемонстрровала образование высоких титров нейтрализующих антител (NCT05164094) [112].

В настоящее время ни одна из современных вакцин против ВЭБ не проходит клинические испытания III стадии. Это связано с малой эффективностью производства, поскольку для синтеза вакцин используются клетки млекопитающих с низкой вирусной нагрузкой, а также присутствуют примеси из клеточных линий человека-продуцента. Кроме того, для повышения эффективности вакцин необходима дополнительная разработка адъювантов и систем доставки [9].

ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ИССЛЕДОВАНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА–БАРР

Развитие технологий секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) значительно расширило возможности для изучения взаимодействия генов человека и ВЭБ, выявления геномных и эпигеномных изменений в ВЭБ-инфицированных опухолевых клетках. В отличие от классических методов NGS позволяет проанализировать весь генетический материал исследуемых клеток и содержащихся в них вирусов [122]. С помощью этой технологии стало возможным выявлять последовательности эписомного генома ВЭБ и фрагментов его генома, интегрированных в геном человека. Детектированы различные мутации и онкогены ВЭБ, а также проведено комплексное исследование интеграции этого вируса в геномы клеток широкого спектра злокачественных опухолей, в том числе РНГ, карциномы желудка, ЛХ, НК-/Т-клеточной лимфомы [123].

Метод NGS также широко применяется для изучения транскриптома клеток и инфицирующих их вирусов, что позволяет получить комплексные данные о генах и сигнальных путях, на которые они влияют. В результате масштабного исследования транскриптома ВЭБ-ассоциированных опухолей выявлены типы и подтипы рака в зависимости от активации или ингибирования экспрессии различных интерферонов и корреляции с экспрессией генов иммунного ответа [122].

Для анализа транскриптома отдельных субпопуляций ВЭБ-инфицированных опухолевых клеток, а также генов межклеточных взаимодействий и клеточной дифференцировки используется технология секвенирования РНК одиночных клеток (scRNA-seq) [124]. В результате формируется детальное представление о том, каким образом ВЭБ влияет на различные аспекты биологии клеток и реагирует на терапию. Од-

ной из трудностей метода scRNA-seq является изучение генов ВЭБ с низким уровнем экспрессии, например генов латентной фазы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С помощью молекулярно-генетических методов выявлено, что геномы ВЭБ, выделенные из различных опухолей и от здоровых носителей, характеризуются высокой гетерогенностью нуклеотидных и аминокислотных последовательностей. Ведется активный поиск штаммов и вариантов отдельных генов ВЭБ, участвующих в механизмах злокачественной трансформации клеток. Наиболее перспективным является изучение ассоциаций полиморфизмов гена ВЭБ *LMP-1* с развитием РНГ, рака желудка и различных лимфом. Необходимо учитывать, что полиморфизм многих генов данного вируса может оказывать влияние на приобретение онкогенного потенциала. Наличие различных вариантов генов ВЭБ, персистирующих у здоровых носителей в любом географическом регионе, не исключает их возможной этиологической роли в инициации ВЭБ-ассоциированных злокачественных

опухолей. Выявление этиологической значимости вариантов генов ВЭБ в развитии онкологических заболеваний в каждом конкретном случае осложняется их продолжительным латентным периодом, а также действием различных факторов (особенности питания, наличие паразитарных инфекций, иммуносупрессивных состояний). Необходима разработка новых методов оценки фенотипических изменений, вызванных различными вариантами генов ВЭБ.

С целью поиска мишеней для диагностики и терапии ВЭБ-ассоциированных злокачественных новообразований перспективно использование высокопроизводительных методов NGS, позволяющих комплексно оценивать эпигеномные и геномные изменения в инфицированных этим вирусом опухолевых клетках, выявлять онкогенные мутации и изучать сигнальные пути и механизмы ВЭБ-опосредованного онкогенеза. Дальнейшие исследования в данной области помогут существенно облегчить разработку методов ранней диагностики ВЭБ-ассоциированных онкологических заболеваний, повысить эффективность их терапии и дадут возможность создать новые ВЭБ-специфические вакцины.

Л и т е р а т у р а / R e f e r e n c e s

- Epstein M.A., Achong B.G., Barr Y.M. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* 1964;1(7335):702–3. DOI: 10.1016/s0140-6736(64)91524-7
- Kanda T., Yajima M., Ikuta K. Epstein–Barr virus strain variation and cancer. *Cancer Sci* 2019;110(4):1132–9. DOI: 10.1111/cas.13954
- Crawford D.H. Biology and disease associations of Epstein–Barr virus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001;356(1408):461–73. DOI: 10.1098/rstb.2000.0783
- Якушина С.А., Кистенева Л.Б. Влияние персистенции вируса Эпштейна–Барр на развитие иммуноопосредованных соматических заболеваний. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2018;63(1):22–7. DOI: 10.21508/1027-4065-2018-63-1-22-27
- Yakushina S.A., Kisteneva L.B. Influence of the Epstein–Barr virus persistence upon the development of the immune-mediated somatic diseases. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics* 2018;63(1):22–7. (In Russ.). DOI: 10.21508/1027-4065-2018-63-1-22-27
- Epstein–Barr virus and Kaposi's sarcoma herpesvirus/human herpesvirus 8. Lyon (FR): International Agency for Research on Cancer. 1997. 492 p.
- Юшук Н.Д., Шестакова И.В. ВЭБ-ассоциированные новообразования: клиническая, иммунофенотипическая и цитоморфологическая характеристика (аналитический обзор). *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение* 2013;3:33–47. Yushchuk N.D., Shestakova I.V. Epstein–Barr virus associated with newgrowth: clinical, immunophenotypic and immunocytomorphological characteristic (analytical review). *Infectious diseases: news, opinions, education* 2013;3:33–47. (In Russ.).
- Wong Y., Meehan M.T., Burrows S.R. et al. Estimating the global burden of Epstein–Barr virus-related cancers. *J Cancer Res Clin Oncol* 2022;148(1):31–46. DOI: 10.1007/s00432-021-03824-y
- Ressing M.E., van Gent M., Gram A.M. et al. Immune evasion by Epstein–Barr virus. *Curr Top Microbiol Immunol* 2015;391: 355–81. DOI: 10.1007/978-3-319-22834-1_12
- Chakravorty S., Afzali B., Kazemian M. EBV-associated diseases: current therapeutics and emerging technologies. *Front Immunol* 2022;13:1059133. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1059133
- Xiao Q., Liu Y., Li T. et al. Viral oncogenesis in cancer: from mechanisms to therapeutics. *Signal Transduct Target Ther* 2025;10(1):151. DOI: 10.1038/s41392-025-02197-9
- Якушина С.А., Кистенева Л.Б. Вирус Эпштейна–Барр (*Herpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Human gammaherpesvirus 4*): репликативные стратегии. *Вопросы вирусологии* 2020; 65(4):191–202. DOI: 10.36233/0507-4088-2020-65-4-191-202
- Yakushina S.A., Kisteneva L.B. Epstein–Barr virus (*Herpesviridae: Gammaherpesvirinae: Lymphocryptovirus: Human gammaherpesvirus 4*): replicative strategies. *Voprosy virusologii = Problems of Virology* 2020;65(4):191–202. (In Russ.). DOI: 10.36233/0507-4088-2020-65-4-191-202
- Каира А.Н., Соломай Т.В., Семененко Т.А. Эпидемиология и профилактика Эпштейна–Барр вирусной инфекции: учеб. пособие. М.: ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, 2022. 81 с. Kaira A.N., Solomai T.V., Semenenko T.A. Epidemiology and prevention of Epstein–Barr Virus infection: a textbook. Moscow: Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2022. 81 p. (In Russ.).
- Johannsen E.C., Kaye K.M. Epstein–Barr virus (infectious mononucleosis, Epstein–Barr virus-associated malignant diseases, and other diseases). Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 7th edn. Philadelphia: Elsevier, 2010. Pp. 1989–2010. DOI: 10.1016/B978-0-443-06839-3.00139-9
- Unger E., Purtilo D.T. Epstein–Barr virus and human diseases. *Pathology of infectious diseases*. Ed. by D.H. Connor, F.W. Chandler, H.J. Manz et al. Stamford: Appleton and Lange, 1997. Pp. 113–123.

15. Rezk S.A., Weiss L.M. Epstein–Barr virus-associated lymphoproliferative disorders. *Hum Pathol* 2007;38(9):1293–304. DOI: 10.1016/j.humpath.2007.05.020
16. Tran H., Nourse J., Hall S. et al. Immunodeficiency-associated lymphomas. *Blood Rev* 2008;22(5):261–81. DOI: 10.1016/j.blre.2008.03.009
17. Гурцевич В.Э. Роль вируса Эпштейна–Барр в онкогематологических заболеваниях человека. *Клиническая онкогематология* 2010;3(3):222–34.
Gurtsevich V. The role of Epstein–Barr virus in human hematopoietic neoplasms. *Clinicheskaya oncogematologia = Clinical oncohematology* 2010;3(3):222–34. (In Russ.).
18. Arvin A., Campadelli-Fiume G., Mocarski E. et al. *Herpesviruses: biology, therapy, and immunoprophylaxis*. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.
19. Baer R., Bankier A.T., Biggin M.D. et al. DNA sequence and expression of the B95-8 Epstein–Barr virus genome. *Nature* 1984;310:207–11.
20. Santpere G., Darre F., Blanco S. et al. Genome-wide analysis of wild-type Epstein–Barr virus genomes derived from healthy individuals of the 1,000 Genomes Project. *Genome Biol Evol* 2014;6(4):846–60. DOI: 10.1093/gbe/evu054
21. Human gammaherpesvirus 4 genomes. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/?taxon=10376>
22. Kim S.M., Kang S.H., Lee W.K. Identification of two types of naturally-occurring intertypic recombinants of Epstein–Barr virus. *Mol Cells* 2006;21(2):302–7.
23. Palser A.L., Grayson N.E., White R.E. et al. Genome diversity of Epstein–Barr virus from multiple tumor types and normal infection. *J Virol* 2015;89(10):5222–37. DOI: 10.1128/JVI.03614-14
24. Weiss E.R., Lamers S.L., Henderson J.L. et al. Early Epstein–Barr virus genomic diversity and convergence toward the B95.8 genome in primary infection. *J Virol* 2018;92(2):e01466–17. DOI: 10.1128/JVI.01466-17
25. Zhou L., Chen J.N., Qiu X.M. et al. Comparative analysis of 22 Epstein–Barr virus genomes from diseased and healthy individuals. *J Gen Virol* 2017;98(1):96–107. DOI: 10.1099/jgv.0.000699
26. Zanella L., Riquelme I., Buchegger K. et al. A reliable Epstein–Barr virus classification based on phylogenomic and population analyses. *Sci Rep* 2019 8;9(1):9829. DOI: 10.1038/s41598-019-45986-3
27. Яковлева Л.С., Сеньюта Н.Б., Гончарова Е.В. и др. Варианты онкогена *LMP1* вируса Эпштейна–Барр в клеточных линиях различного происхождения. *Молекулярная биология* 2015;49(5):800–10. DOI: 10.7868/S0026898415050213
Yakovleva L.S., Senyuta N.B., Goncharova E.V. et al. Epstein–Barr virus *LMP1* oncogene variants in cell lines of different origin. *Molekularnaya biologiya = Molecular Biology* 2015;49(5):800–10. (In Russ.). DOI: 10.7868/S0026898415050213
28. Neves M., Marinho-Dias J., Ribeiro J., Sousa H. Epstein–Barr virus strains and variations: geographic or disease-specific variants? *J Med Virol* 2017;89(3):373–87. DOI: 10.1002/jmv.24633
29. Abdel-Hamid M., Chen J.J., Constantine N. et al. EBV strain variation: geographical distribution and relation to disease state. *Virology* 1992;190:168–75. DOI: 10.1016/0042-6822(92)91202-6
30. Kimura H., Ito Y., Kawabe S. et al. EBV-associated T/NK-cell lymphoproliferative diseases in nonimmunocompromised hosts: prospective analysis of 108 cases. *Blood* 2012;119(3):673–86. DOI: 10.1182/blood-2011-10-381921
31. Wegner F., Lassalle F., Depledge D.P. Coevolution of Sites under Immune Selection Shapes Epstein–Barr Virus Population Structure. *Mol Biol Evol* 2019;36(11):2512–21. DOI: 10.1093/molbev/msz152
32. Fruscalzo A., Marsili G., Busiello V. et al. DNA sequence heterogeneity within the Epstein–Barr virus family of repeats in the latent origin of replication. *Gene* 2001;265(1–2):165–73. DOI: 10.1016/S0378-1119(01)00345-6
33. Ba Abdullah M.M., Palermo R.D., Palser A.L. et al. Heterogeneity of the Epstein–Barr virus (EBV) major internal repeat reveals evolutionary mechanisms of EBV and a functional defect in the prototype EBV strain B95-8. *J Virol* 2017;91:e00920–17. DOI: 10.1128/JVI.00920-17
34. Tierney R.J., Kao K.Y., Nagra J.K. et al. Epstein–Barr virus BamHI W repeat number limits EBNA2/EBNA-LP coexpression in newly infected B cells and the efficiency of B-cell transformation: a rationale for the multiple W repeats in wild-type virus strains. *J Virol* 2011;85(23):12362–75. DOI: 10.1128/JVI.06059-11
35. Кудин А.П. Эта «безобидная» вирус Эпштейна–Барра инфекция. Ч. 1. Характеристика возбудителя. Реакция иммунной системы на вирус. *Медицинские новости* 2006;7:14–22.
Kudin A.P. This “harmless” Epstein–Barr virus infection. Part 1. Characteristics of the pathogen. The immune system’s response to the virus. *Meditsinskie novosti = Medical News* 2006;7:14–22. (In Russ.).
36. Fu Q., He C., Mao Z.R. Epstein–Barr virus interactions with the Bcl-2 protein family and apoptosis in human tumor cells. *J Zhejiang Univ Sci B* 2013;14(1):8–24. DOI: 10.1631/jzus.B1200189
37. Bhatia K., Raj A., Guitierrez M.I. et al. Variation in the sequence of Epstein Barr virus nuclear antigen 1 in normal peripheral blood lymphocytes and in Burkitt’s lymphomas. *Oncogene* 1996;13(1):177–81.
38. Habeshaw G., Yao Q.Y., Bell A.I. et al. Epstein–Barr virus nuclear antigen 1 sequences in endemic and sporadic Burkitt’s lymphoma reflect virus strains prevalent in different geographic areas. *J Virol* 1999;73(2):965–75. DOI: 10.1128/JVI.73.2.965-975.1999
39. Smatti M.K., Yassine H.M., AbuOdeh R. et al. Prevalence and molecular profiling of Epstein Barr virus (EBV) among healthy blood donors from different nationalities in Qatar. *PLoS One* 2017;12(12):e0189033. DOI: 10.1371/journal.pone.0189033
40. White R.E., Rämer P.C., Naresh K.N. et al. EBNA3B-deficient EBV promotes B cell lymphomagenesis in humanized mice and is found in human tumors. *J Clin Invest* 2012;122(4):1487–502. DOI: 10.1172/JCI58092
41. Lo A.K., Dawson C.W., Jin D.Y., Lo K.W. The pathological roles of BART miRNAs in nasopharyngeal carcinoma. *J Pathol* 2012;227(4):392–403. DOI: 10.1002/path.4025
42. Hui K.F., Chan T.F., Yang W. et al. High risk Epstein–Barr virus variants characterized by distinct polymorphisms in the EBER locus are strongly associated with nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer* 2019;144(12):3031–42. DOI: 10.1002/ijc.32049
43. Wu Y., Maruo S., Yajima M. et al. Epstein–Barr virus (EBV)-encoded RNA 2 (EBER2) but not EBER1 plays a critical role in EBV-induced B-cell growth transformation. *J Virol* 2007;81(20):11236–45. DOI: 10.1128/JVI.00579-07
44. Martini M., Capello D., Serraino D. et al. Characterization of variants in the promoter of EBV gene BZLF1 in normal donors, HIV-positive patients and in AIDS-related lymphomas. *J Infect* 2007;54(3):298–306. DOI: 10.1016/j.jinf.2006.04.015
45. Farrell P.J. Epstein–Barr virus strain variation. *Curr Top Microbiol Immunol* 2015;390(1):45–69. DOI: 10.1007/978-3-319-22822-8_4
46. Tzellos S., Farrell P.J. Epstein–Barr virus sequence variation—biology and disease. *Pathogens* 2012;1(2):156–74. DOI: 10.3390/pathogens1020156
47. Banko A.V., Lazarevic I.B., Folic M.M. et al. Characterization of the variability of Epstein–Barr virus genes in nasopharyngeal biopsies: potential predictors for carcinoma progression. *PLoS One* 2016;11(4):e0153498. DOI: 10.1371/journal.pone.0153498
48. Alanazi A.E., Alhumaidy A.A., Almutairi H. et al. Evolutionary analysis of LMP-1 genetic diversity in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma: Bioinformatic insights into oncogenic potential. *Infect Genet Evol* 2024;120:105586. DOI: 10.1016/j.meegid.2024.105586
49. Smatti M.K., Al-Sadeq D.W., Ali N.H. et al. Epstein–Barr virus epidemiology, serology, and genetic variability of *LMP-1* oncogene among healthy population: an update. *Front Oncol* 2018;8:211. DOI: 10.3389/fonc.2018.00211

50. Li S.N., Chang Y.S., Liu S.T. Effect of a 10-amino acid deletion on the oncogenic activity of latent membrane protein 1 of Epstein–Barr virus. *Oncogene* 1996;12(10):2129–35.
51. Mainou B.A., Raab-Traub N. LMP1 strain variants: biological and molecular properties. *J Virol* 2006;80(13):6458–68. DOI: 10.1128/JVI.00135-06
52. Kang M.S., Kieff E. Epstein–Barr virus latent genes. *Exp Mol Med* 2015;47(1):e131. DOI: 10.1038/emmm.2014.84
53. Zeng M.S., Li D.J., Liu Q.L. et al. Genomic sequence analysis of Epstein–Barr virus strain GD1 from a nasopharyngeal carcinoma patient. *J Virol* 2005;79(24):15323–30. DOI: 10.1128/JVI.79.24.15323-15330.2005
54. Pai P.C., Tseng C.K., Chuang C.C. et al. Polymorphism of C-terminal activation region 2 of Epstein–Barr virus latent membrane protein 1 in predicting distant failure and post-metastatic survival in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Head Neck* 2007;29(2):109–19. DOI: 10.1002/hed.20483
55. Trinh C.T.H., Tran D.N., Nguyen L.T.T. et al. LMP1-EBV gene deletion mutations and HLA genotypes of nasopharyngeal cancer patients in Vietnam. *Pathophysiology* 2023;30(1):1–12. DOI: 10.3390/pathophysiology30010001
56. Montes-Mojarro I.A., Fend F., Quintanilla-Martinez L. EBV and the pathogenesis of NK/T Cell Lymphoma. *Cancers (Basel)* 2021;13(6):1414. DOI: 10.3390/cancers13061414
57. Смирнова К.В., Дидук С.В., Гурцевич В.Э. Полиморфизм онкогена *LMP1* вируса Эпштейна–Барр у представителей коренного малочисленного народа Дальнего Востока России. Эпидемиология и инфекционные болезни 2017;22(5):239–47. DOI: 10.18821/1560-9529-2017-22-5-239-247
Smirnova K.V., Diduk S.V., Gurtsevitch V.E. Polymorphism of Epstein–Barr virus *LMP1* oncogene in nanaians, representatives of indigenous minority of the Russian far East. *Epidemiologiya i infektsionnyye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases* 2017;22(5):239–47. (In Russ.). DOI: 10.1882/1560-9529-2017-22-5-239-247
58. Дидук С.В., Смирнова К.В., Павлиш О.А., Гурцевич В.Э. Роль функционально значимых мутаций гена *LMP1* вируса Эпштейна–Барр в активации клеточных сигнальных путей. Биохимия 2008;73(10):1414–21.
Diduk S.V., Smirnova K.V., Pavlish O.A., Gurtsevitch V.E. Functionally significant mutations in Epstein–Barr virus *LMP1* gene and their role in activation of cell signaling pathways. *Biochimica = Biochemistry* 2008;73(10):1414–21. (In Russ.).
59. Sample J.T., Sample C.E. Epstein–Barr virus: molecular biology. In: *Encyclopedia of virology*. Oxford: Academic Press, 2008. Pp. 157–167.
60. Kirchmaier A.L., Sugden B. Dominant-negative inhibitors of EBNA-1 of Epstein–Barr virus. *J Virol* 1997;71(3):1766–75. DOI: 10.1128/JVI.71.3.1766-1775.1997
61. Li J.S.Z., Abbasi A., Kim D.H. et al. Chromosomal fragile site breakage by EBV-encoded EBNA1 at clustered repeats. *Nature* 2023;616(7957):504–9. DOI: 10.1038/s41586-023-05923-x
62. Sandvej K., Zhou X.G., Hamilton-Dutoit S. EBNA-1 sequence variation in Danish and Chinese EBV-associated tumours: evidence for geographical polymorphism but not for tumour-specific subtype restriction. *J Pathol* 2000;191(2):127–31. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(200006)191:2<127::AID-PATH614>3.0.CO;2-E
63. Choi S.J., Jung S.W., Huh S. et al. Phylogenetic comparison of Epstein–Barr virus genomes. *J Microbiol* 2018;56:525–33. DOI: 10.1007/s12275-018-8039-x
64. Kelly G., Bell A., Rickinson A. Epstein–Barr virus-associated Burkitt lymphomagenesis selects for downregulation of the nuclear antigen EBNA2. *Nat Med* 2002;8(10):1098–104. DOI: 10.1038/nm758
65. Dambaugh T., Hennessy K., Chamnankit L. et al. U2 region of Epstein–Barr virus DNA may encode Epstein–Barr nuclear antigen 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81(23):7632–6. DOI: 10.1073/pnas.81.23.7632
66. Rowe M., Young L.S., Cadwallader K. et al. Distinction between Epstein–Barr virus type A (EBNA 2A) and type B (EBNA 2B) isolates extends to the EBNA 3 family of nuclear proteins. *J Virol* 1989;63(3):1031–9. DOI: 10.1128/JVI.63.3.1031-1039.1989.
67. Sample J., Young L., Martin B. et al. Epstein–Barr virus types 1 and 2 differ in their EBNA-3A, EBNA-3B, and EBNA-3C genes. *J Virol* 1990;64(9):4084–92. DOI: 10.1128/JVI.64.9.4084-4092.1990
68. Tsai M.H., Lin X., Shumilov A. et al. The biological properties of different Epstein–Barr virus strains explain their association with various types of cancers. *Oncotarget* 2017;8(6):10238–54. DOI: 10.18632/oncotarget.14380
69. Гурцевич В.Э., Лубенская А.К., Сеньюта Н.Б., Смирнова К.В. Вирус Эпштейна–Барр (*Orthoherpesviridae: Lymphocryptovirus*) у этносов России: распространенность типов ВЭБ (ВЭБ-1 и ВЭБ-2), варианты гена *LMP1* и злокачественные опухоли. Вопросы вирусологии 2024;69(1):56–64. DOI: 10.36233/0507-4088-214
Gurtsevitch V.E., Lubenskaya A.K., Senyuta N.B., Smirnova K.V. Epstein–Barr virus (*Orthoherpesviridae: Lymphocryptovirus*) among Russian ethnic groups: prevalence of EBV types (EBV-1 and EBV-2), *LMP1* gene variants and malignancies. *Voprosy Virusologii = Problems of Virology* 2024;69(1):56–64. (In Russ.). DOI: 10.36233/0507-4088-214
70. Лубенская А.К., Смирнова К.В., Гурцевич В.Э. Молекулярные маркеры ВЭБ-ассоциированного рака носоглотки в России. Вопросы онкологии 2023;69(3S):545–6. DOI: 10.37469/0507-3758-2023-69-3s1
Lubenskaya A.K., Smirnova K.V., Gurtsevich V.E. Molecular markers of EBV-associated nasopharyngeal cancer in Russia. *Voprosy onkologii = Issues of oncology* 2023;69(3S):545–546. (In Russ.). DOI: 10.37469/0507-3758-2023-69-3s1
71. Смирнова К.В., Лубенская А.К., Сеньюта Н.Б. и др. Вирус Эпштейна–Барр 1-го и 2-го типа (*Herpesviridae: Lymphocryptovirus*) и другие маркеры вируса у больных раком носоглотки в двух этнически и географически отличающихся регионах России. Вопросы вирусологии 2023;68(4):291–301. DOI: 10.36233/0507-4088-181
Smirnova K.V., Lubenskaya A.K., Senyuta N.B. et al. Epstein–Barr virus (*Herpesviridae: Lymphocryptovirus*) types 1 and 2 and other viral markers in nasopharyngeal carcinoma patients in two geographically and ethnically different regions of Russia. *Voprosy Virusologii = Problems of Virology* 2023;68(4):291–301. (In Russ.). DOI: 10.36233/0507-4088-181
72. Al-Mozaini M., Bodelon G., Karstegl C.E. et al. Epstein–Barr virus *BART* gene expression. *J Gen Virol* 2009;90(2):307–16. DOI: 10.1099/vir.0.006551-0
73. Lin X., Tsai M.H., Shumilov A. et al. The Epstein–Barr virus *BART* miRNA cluster of the M81 strain modulates multiple functions in primary B cells. *PLoS Pathog* 2015;11(12):e1005344. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005344
74. Сергеева Н.С., Маршутина Н.В., Солохина М.П. и др. Ассоциированные с вирусом Эпштейна–Барр солидные злокачественные новообразования. Онкология. Журнал им. П.А. Герцена 2018;5:80–9. DOI: 10.17116/onkolog2018705180
Sergeeva N.S., Marshutina N.V., Solokhina M.P. et al. Epstein–Barr virus-associated solid malignancies. *Onkologiya. Zhurnal im. P.A. Gertsena = P.A. Herzen Journal of Oncology* 2018;7(5):80–9. (In Russ.). DOI: 10.17116/onkolog2018705180
75. Kieff E., Rickinson A.B. Epstein–Barr virus and its replication. In: *Field's virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. Pp. 2603–2654.
76. Ma S.D., Hegde S., Young K.H. et al. A new model of Epstein–Barr virus infection reveals an important role for early lytic viral protein expression in the development of lymphomas. *J Virol* 2011;85(1):165–77. DOI: 10.1128/JVI.01512-10
77. Gutiérrez M.I., Ibrahim M.M., Dale J.K. et al. Discrete alterations in the BZLF1 promoter in tumor and non-tumor-associated

- Epstein–Barr virus. *J Natl Cancer Inst* 2002;94(23):1757–63. DOI: 10.1093/jnci/94.23.1757
78. Bristol J.A., Djavadian R., Albright E.R. et al. A cancer-associated Epstein–Barr virus BZLF1 promoter variant enhances lytic infection. *PLoS Pathog* 2018;14:e1007179. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007179
 79. Tsai M.H., Raykova A., Klinke O. et al. Spontaneous lytic replication and epitheliotropism define an Epstein–Barr virus strain found in carcinomas. *Cell Rep* 2013;5(2):458–70. DOI: 10.1016/j.celrep.2013.09.012
 80. Swart R., Ruf I.K., Sample J. et al. Latent membrane protein 2A-mediated effects on the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *J Virol* 2000;74(22):10838–45. DOI: 10.1128/jvi.74.22.10838–10845.2000
 81. Moody C.A., Scott R.S., Amirghahari N. et al. Modulation of the cell growth regulator mTOR by Epstein–Barr virus-encoded LMP2A. *J Virol* 2005;79(9):5499–506. DOI: 10.1128/JVI.79.9.5499–5506.2005
 82. Wang Y., Rong Y., Yang L., Lu Z. Genetic variability and mutation of Epstein–Barr virus (EBV)-encoded LMP-1 and BHRF-1 genes in EBV-infected patients: identification of precise targets for development of personalized EBV vaccines. *Virus Genes* 2023;59(4):541–53. DOI: 10.1007/s11262-023-02006-x
 83. Begic V., Korac P., Gasparov S. et al. Molecular characterisation of Epstein–Barr virus in classical Hodgkin Lymphoma. *Int J Mol Sci* 2022;23(24):15635. DOI: 10.3390/ijms232415635
 84. Bouvard V., Baan R., Straif K. et al. A review of human carcinogens – part B: biological agents. *Lancet Oncol* 2009;10(4):321–2. DOI: 10.1016/s1470-2045(09)70096-8
 85. Fierti A.O., Yakass M.B., Okertchiri E.A. et al. The role of Epstein–Barr virus in modulating key tumor suppressor genes in associated malignancies: epigenetics, transcriptional, and post-translational modifications. *Biomolecules* 2022;12(1):127. DOI: 10.3390/biom12010127
 86. Dirmeier U., Neuhiel B., Kilger E. et al. Latent membrane protein 1 is critical for efficient growth transformation of human B cells by Epstein–Barr virus. *Cancer Res* 2003;63:2982–89.
 87. Edwards R.H., Seillier-Moisewitsch F., Raab-Traub N. Signature amino acid changes in latent membrane protein 1 distinguish Epstein–Barr virus strains. *Virology* 1999;261(1):79–95. DOI: 10.1006/viro.1999.9855
 88. Sarshari B., Mohebbi S.R., Ravanshad M. et al. Sequence variations of Epstein–Barr virus LMP1 gene in gastric cancer and chronic gastritis isolates from Iranian patients. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2022;15(3):225–31. DOI: 10.22037/ghfb.v15i3.2578
 89. Гончарова Е.В., Сеньюта Н.Б., Смирнова К.В. и др. Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) в России: инфицированность населения и анализ вариантов гена *LMP1* у больных ВЭБ-ассоциированными патологиями и здоровых лиц. *Вопросы вирусологии* 2015;60(2):11–7.
 90. Goncharova E.V., Senyuta N.B., Smirnova K.V. et al. Epstein–Barr virus (EBV) in Russia: infection of the population and analysis of the *LMP1* gene variants in patients with EBV-associated pathologies and healthy individuals. *Voprosy virusologii = Issues of Virology* 2015;60(2):11–7. (In Russ.).
 91. Гурцевич В.Э., Смирнова К.В., Дидук С.В. и др. Полиморфизм гена *LMP1* у больных ВЭБ-негативными формами рака желудка. *Вопросы вирусологии* 2010;55(5):29–34.
 92. Gurtsevich V.E., Smirnova K.V., Diduk S.V. et al. Polymorphism of the *LMP1* gene in patients with EBV-negative forms of gastric cancer. *Voprosy virusologii = Problems of virology* 2010;55(5):29–34. (In Russ.).
 93. Walling D.M., Brown A.L., Etienne W. et al. Multiple Epstein–Barr virus infections in healthy individuals. *J Virol* 2003;77(11):6546–50. DOI: 10.1128/jvi.77.11.6546–6550.2003
 94. Saechan V., Mori A., Mitarnun W. et al. Analysis of LMP1 variants of EBV in Southern Thailand: evidence for strain-associated T-cell tropism and pathogenicity. *J Clin Virol* 2006;36(2):119–25. DOI: 10.1016/j.jcv.2006.01.018
 95. Nguyen-Van D., Ernberg I., Phan-Thi Phi P. et al. Epstein–Barr virus genetic variation in Vietnamese patients with nasopharyngeal carcinoma: full-length analysis of LMP1. *Virus Genes* 2008;37(2):273–81. DOI: 10.1007/s11262-008-0262-9
 96. Смирнова К.В., Сеньюта Н.Б., Лубенская А.К. и др. Древние варианты вируса Эпштейна–Барр (*Herpesviridae*, *Lymphocryptovirus*, HHV-4): гипотезы и факты. *Вопросы вирусологии* 2020;65(2):77–86. DOI: 10.36233/0507-4088-2020-65-2-77-86
 97. Smirnova K.V., Senyuta N.B., Lubenskaya A.K. et al. Ancient variants of the Epstein–Barr virus (*Herpesviridae*, *Lymphocryptovirus*, HHV-4): hypotheses and facts. *Voprosy Virusologii = Problems of Virology* 2020;65(2):77–86. (In Russ.). DOI: 10.36233/0507-4088-2020-65-2-77-86
 98. Гурцевич В.Э., Смирнова К.В., Ботезату И.В. и др. Полиморфизм онкогена *LMP1* вируса Эпштейна–Барр в двух этнических группах России, татар и славян, и его влияние на развитие некоторых злокачественных опухолей. *Инфекция и иммунитет* 2020;10(2):347–58. DOI: 10.15789/2220-7619-EBV-1162
 99. Gurtsevich V.E., Smirnova K.V., Botezatu I.V. et al. Epstein–Barr virus *LMP1* oncogene polymorphism in tatar and slavic populations in Russian Federation impacting on some malignant tumours. *Infektsiya i иммунитет = Russian Journal of Infection and Immunity* 2020;10(2):347–58. (In Russ.). DOI: 10.15789/2220-7619-EBV-1162
 100. Смирнова К.В., Сеньюта Н.Б., Ботезату И.В. и др. Вирус Эпштейна–Барр у этнических татар: инфицированность и сиквенсные варианты онкогена *LMP1*. *Успехи молекулярной онкологии* 2018;5(3):65–74. DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-3-65-74
 101. Smirnova K.V., Senyuta N.B., Botezatu I.V. et al. Epstein–Barr virus in the ethnic Tatars population: the infection and sequence variants of *LMP1* oncogene. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2018;5(3):65–74. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-3-65-74
 102. Jen K.Y., Cheng J., Li J. et al. Mutational events in *LMP1* gene of Epstein–Barr virus in salivary gland lymphoepithelial carcinomas. *Int J Cancer* 2003;105(5):654–60. DOI: 10.1002/ijc.11100
 103. Hu L.F., Zabarovsky E.R., Chen F. et al. Isolation and sequencing of the Epstein–Barr virus BNLF-1 gene (*LMP1*) from a Chinese nasopharyngeal carcinoma. *J Gen Virol* 1991;72(10):2399–409. DOI: 10.1099/0022-1317-72-10-2399
 104. Su Z.Y., Siak P.Y., Leong C.O. et al. The role of Epstein–Barr virus in nasopharyngeal carcinoma. *Front Microbiol* 2023;14:1116143. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1116143
 105. Hadrhi-Guiga B., Khabir A.M., Mokdad-Gargouri R. et al. Various 30 and 69 bp deletion variants of the Epstein–Barr virus *LMP1* may arise by homologous recombination in nasopharyngeal carcinoma of Tunisian patients. *Virus Res* 2006;115(1):24–30. DOI: 10.1016/j.virusres.2005.07.002
 106. Dardari R., Khyatti M., Cordeiro P. et al. High frequency of latent membrane protein-1 30-bp deletion variant with specific single mutations in Epstein–Barr virus-associated nasopharyngeal carcinoma in Moroccan patients. *Int J Cancer* 2006;118(8):1977–83. DOI: 10.1073/pnas.81.23.7632
 107. Попкова М.И., Уткин О.В. Особенности эпидемического процесса инфекционного мононуклеоза в Нижегородской области в современный период. *Здоровье населения и среда обитания* 2021;4(337):79–86. DOI: 10.35627/22195238/202133747986
 108. Popkova M.I., Utkin O.V. Features of the current epidemic process of infectious mononucleosis in the Nizhny Novgorod Region. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Habitat* 2021;4(337):79–86. (In Russ.). DOI: 10.35627/22195238/202133747986
 109. Corvalan A., Ding S., Koriyama C. et al. Association of a distinctive strain of Epstein–Barr virus with gastric cancer. *Int J Cancer* 2006;118(7):1736–42. DOI: 10.1002/ijc.21530

104. Corvalán A.H., Ruedlinger J., de Mayo T. et al. The phylogeographic diversity of EBV and admixed ancestry in the americas another model of disrupted human-pathogen co-evolution. *Cancers (Basel)* 2019;11(2):217. DOI: 10.3390/cancers11020217
105. Lung M.L., Chang R.S., Huang M.L. et al. Epstein–Barr virus genotypes associated with nasopharyngeal carcinoma in southern China. *Virology* 1990;177(1):44–53. DOI: 10.1016/0042-6822(90)90458-4
106. Ordóñez P., Koriyama C., Ding S. et al. Identification of the distinctive type i/XhoI+ strain of Epstein–Barr virus in gastric carcinoma in Peru. *Anticancer Res* 2011;31(10):3607–13.
107. Lee A.W.M., Lee V.H.F., Ng W.T. et al. A systematic review and recommendations on the use of plasma EBV DNA for nasopharyngeal carcinoma. *Eur J Cancer* 2021;153:109–22. DOI: 10.1016/j.ejca.2021.05.022
108. Chen W.J., Xu W.N., Wang H.Y. et al. Plasma Epstein–Barr virus DNA and risk of nasopharyngeal carcinoma in a prospective seropositive population. *BMC Cancer* 2021;21(1):651. DOI: 10.1186/s12885-021-08408-0
109. Смирнова К.В., Сеньюта Н.Б., Ботезату И.В. и др. Маркеры вируса Эпштейна–Барр в оценке клинического состояния российских больных раком носоглотки. *Успехи молекулярной онкологии* 2021;8(3):14–24. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-14-24
Smirnova K.V., Senuta N.B., Botezatu I.V. et al. Markers of Epstein–Barr virus in clinical assessment of Russian patients with nasopharyngeal cancer. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2021;8(3):14–24. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-3-14-24
110. Васильева А.С., Молчанов А.Д. Молекулярные маркеры и разработка методов ранней диагностики ВЭБ-ассоциированного рака желудка. *Вопросы онкологии* 2023;69(3S):482–3. Vasilyeva A.S., Molchanov A.D. Molecular markers and development of methods for early diagnosis of EBV-associated gastric cancer. *Voprosy onkologii* = *Issues of Oncology* 2023;69(3S):482–3. (In Russ.).
111. Heslop H.E., Slobod K.S., Pule M.A. et al. Long-term outcome of EBV-specific T-cell infusions to prevent or treat EBV-related lymphoproliferative disease in transplant recipients. *Blood* 2010;115(5):925–35. DOI: 10.1182/blood-2009-08-239186
112. Cui X., Snapper C.M. Epstein Barr Virus: Development of vaccines and immune cell therapy for EBV-associated diseases. *Front Immunol* 2021;12:734471. DOI: 10.3389/fimmu.2021.734471
113. Colby B.M., Shaw J.E., Elion G.B. et al. Effect of acyclovir 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine on Epstein–Barr virus DNA replication. *J Virol* 1980;34(2):560–8. DOI: 10.1128/jvi.34.2.560-568.1980
114. De Clercq E. Tenofovir alafenamide (TAF) as the successor of tenofovir disoproxil fumarate (TDF). *Biochem Pharmacol* 2016;119:1–7. DOI: 10.1016/j.bcp.2016.04.015
115. Yoshizaki T., Wakisaka N., Kondo S. et al. Treatment of locally recurrent Epstein–Barr virus-associated nasopharyngeal carcinoma using the anti-viral agent cidofovir. *J Med Virol* 2008;80(5):879–82. DOI: 10.1002/jmv.21165
116. Afshar K., Rao A.P., Patel V. et al. Use of foscarnet therapy for EBV infection following control of PTLN with enhancement of cellular immunity in a lung-transplant recipient. *J Transplant* 2011;2011:919651. DOI: 10.1155/2011/919651
117. Cohen J.I. Vaccine development for Epstein–Barr virus. *Adv Exp Med Biol* 2018;1045:477–93. DOI: 10.1007/978-981-10-7230-7_22
118. Bu W., Joyce M.G., Nguyen H. et al. Immunization with components of the viral fusion apparatus elicits antibodies that neutralize Epstein–Barr virus in b cells and epithelial cells. *Immunity* 2019;50(5):1305–16e6. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.03.010
119. Taylor G.S., Jia H., Harrington K. et al. A recombinant modified vaccinia ankara vaccine encoding Epstein–Barr virus (EBV) target antigens: a phase I trial in UK patients with EBV-positive cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(19):5009–22. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1122-T
120. Smith C., Tsang J., Beagley L. et al. Effective treatment of metastatic forms of Epstein–Barr virus-associated nasopharyngeal carcinoma with a novel adenovirus-based adoptive immunotherapy. *Cancer Res* 2012;72(5):1116–25. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3399
121. Van Zyl D.G., Tsai M.H., Shumilov A. et al. Immunogenic particles with a broad antigenic spectrum stimulate cytolytic T cells and offer increased protection against EBV infection *ex vivo* and in mice. *PLoS Pathog* 2018;14(12):e1007464. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007464
122. Chakravorty S., Yan B., Wang C. et al. Integrated pan-cancer map of EBV-associated neoplasms reveals functional host-virus interactions. *Cancer Res* 2019;79(23):6010–23. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-0615
123. Xu M., Yao Y., Chen H. et al. Genome sequencing analysis identifies Epstein–Barr virus subtypes associated with high risk of nasopharyngeal carcinoma. *Nat Genet* 2019;51(7):1131–6. DOI: 10.1038/s41588-019-0436-5
124. SoRelle E.D., Dai J., Reinoso-Vizcaino N.M. et al. Time-resolved transcriptomes reveal diverse B cell fate trajectories in the early response to Epstein–Barr virus infection. *Cell Rep* 2022;40(9):111286. DOI: 10.1016/j.celrep.2022.111286

Вклад авторов

Н.А. Сахарнов: обзор литературы по теме статьи, проведение системного анализа, обобщение данных, написание текста статьи;
О.В. Уткин: обзор литературы по теме статьи, написание текста статьи;
С.П. Дмитриев, Е.Н. Филатова, С.В. Зиновьев, Н.А. Суслов, С.В. Гамаюнов: проведение системного анализа, обобщение данных.

Authors' contributions

N.A. Sakharov: review of the literature on the topic of the article, conducting system analysis, summarizing data, article writing;
O.V. Utkin: review of the literature on the topic of the article, article writing;
S.P. Dmitriev, E.N. Filatova, S.V. Zinovev, N.A. Suslov, S.V. Gamayunov: conducting a system analysis, summarizing data.

ORCID авторов / ORCID of authors

Н.А. Сахарнов / N.A. Sakharov: <https://orcid.org/0000-0003-3965-2033>
О.В. Уткин / O.V. Utkin: <https://orcid.org/0000-0002-7571-525X>
С.П. Дмитриев / S.P. Dmitriev: <https://orcid.org/0009-0008-1051-882X>
Е.Н. Филатова / E.N. Filatova: <https://orcid.org/0000-0002-6683-7191>
С.В. Зиновьев / S.V. Zinovev: <https://orcid.org/0000-0003-1037-2601>
Н.А. Суслов / N.A. Suslov: <https://orcid.org/0009-0006-1407-6884>
С.В. Гамаюнов / S.V. Gamayunov: <https://orcid.org/0000-0002-0223-0753>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена в рамках Отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на период 2026–2030 гг. «Научное обеспечение управления эпидемическим процессом социально-значимых, особо опасных инфекций и биобезопасности государства на основе геномного эпидемиологического надзора, синтетической биологии и цифровых технологий» (п. 1.3.3).

Funding. The work was carried out within the framework of the Industry research program of Rospotrebnadzor for the period 2026–2030 “Scientific support for the management of the epidemic process of socially significant, especially dangerous infections and the biosecurity of the state based on genomic epidemiological surveillance, synthetic biology and digital technologies” (paragraph 1.3.3).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-46-61>

Молекулярные механизмы костного метастазирования

А.Р. Зарипова, М.А. Бермишева*Институт биохимии и генетики ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; Россия, 450054 Уфа, пр-кт Октября, 71***Контакты:** Алия Рамилевна Зарипова al.zaripova@bk.ru

При различных типах солидных опухолей чаще всего метастазы локализуются в костях. Кость – динамичный орган, способный одновременно выполнять множество вспомогательных функций организма. Остеобласты и остеокласты и их изменения имеют большое значение в ремоделировании кости.

Цель работы – обобщение имеющихся данных о костном метастазировании для лучшего понимания биологической природы онкогенеза.

В статье проанализированы научные публикации последних лет, содержащие сведения о молекулярных процессах метастазирования в костную ткань, из баз данных National Center for Biotechnology Information (NCBI), eLibrary и Google Scholar, а также охарактеризованы костные клетки и их роль в онкогенезе. Увеличение знаний и глубокое понимание процессов костного метастазирования при различных солидных опухолях необходимы для разработки точных методов диагностики и эффективного своевременного лечения пациентов с метастазами в костях. Выявлено, что в настоящее время механизмы метастазирования рака и взаимодействия метастатических раковых клеток с микроокружением кости полностью не изучены. Эпигенетические изменения, связанные с клеточной дифференцировкой остеобластов и остеокластов, а также с передачей клеточных сигналов, играют большую роль в ремоделировании кости при различных видах злокачественных новообразований. Повышенная резорбция кости вызвана дисбалансом между остеобластами и остеокластами. Активность остеокластов приводит к высвобождению из костного матрикса факторов роста, которые необходимы для размножения опухолевых клеток в кости.

Ключевые слова: костный метастаз, биомаркер, персонализированная медицина, костное микроокружение

Для цитирования: Зарипова А.Р., Бермишева М.А. Молекулярные механизмы костного метастазирования. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(1):46–61.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-46-61>

Molecular mechanisms of bone metastasis

A.R. Zaripova, M.A. Bermisheva*Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences; 71 Oktyabrya Prospekt, Ufa 450054, Russia***Contacts:** Aliya Ramilevna Zaripova al.zaripova@bk.ru

For various types of solid tumors, bones are the most common location of metastases. Bone is a dynamic organ capable of simultaneously performing multiple auxiliary functions in the body. Osteoblasts and osteoclasts and their changes play a significant role in bone remodeling.

Aim. To summarize current data on bone metastases for better understanding of biological nature of oncogenesis.

The article analyzes recent scientific publications containing information on molecular mechanisms of metastasis into the bone from the National Center for Biotechnology Information (NCBI), eLibrary and Google Scholar databases, as well as characterizes bone cells and their role in oncogenesis. Knowledge and deep understanding of bone metastasis in various solid tumors are necessary for development of accurate diagnostic methods and effective modern treatment of patients with bone metastases. Currently, the mechanisms of cancer metastasis and interactions between metastatic cancer cells and bone microenvironment are not completely understood. Epigenetic changes associated with differentiation of osteoblasts and osteoclasts and cell signal transduction play a large role in bone remodeling in various malignant neoplasms. Increased bone resorption is caused by disbalance between osteoblasts and osteoclasts. Osteoclast activity leads to release of growth factors from the bone matrix necessary for tumor cell multiplication in the bone.

Keywords: bone metastasis, biomarker, personalized medicine, bone microenvironment

For citation: Zaripova A.R., Bermisheva M.A. Molecular mechanisms of bone metastasis. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2026;13(1):46–61. (In Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-46-61>

ВВЕДЕНИЕ

Метастазирование представляет собой процесс распространения опухолевых клеток из первичного очага поражения в окружающие ткани и отдаленные органы и является основной причиной смерти пациентов [1]. Опухолевые клетки отделяются от своего первичного очага, перемещаются через кровоток и лимфатические узлы и оседают в любом органе, расположенном далеко от места происхождения. Первичные опухолевые клетки подают сигналы будущим очагам метастазирования, чтобы подготовить предметастатическую нишу, т. е. создать микроокружение, позволяющее разместиться, выжить и вырасти клеткам злокаче-

ной опухоли [2]. Диссеминированные опухолевые клетки (клетки, добравшиеся до стромы отдаленных органов), попав в новую микросреду, которая лишена привычных стромальных клеток, факторов роста и компонентов внеклеточного матрикса или содержит антипролиферативные факторы, могут переходить в состояние покоя или не очень активно делиться. Небольшое количество таких клеток погибает, в результате чего образуются микрометастатические очаги, клинически никак себя не проявляющие [3]. Состояние покоя — это временное явление до момента активации клетки каким-либо фактором, например при воспалении или ангиогенезе, когда увеличивается уровень ростовых факторов [4].

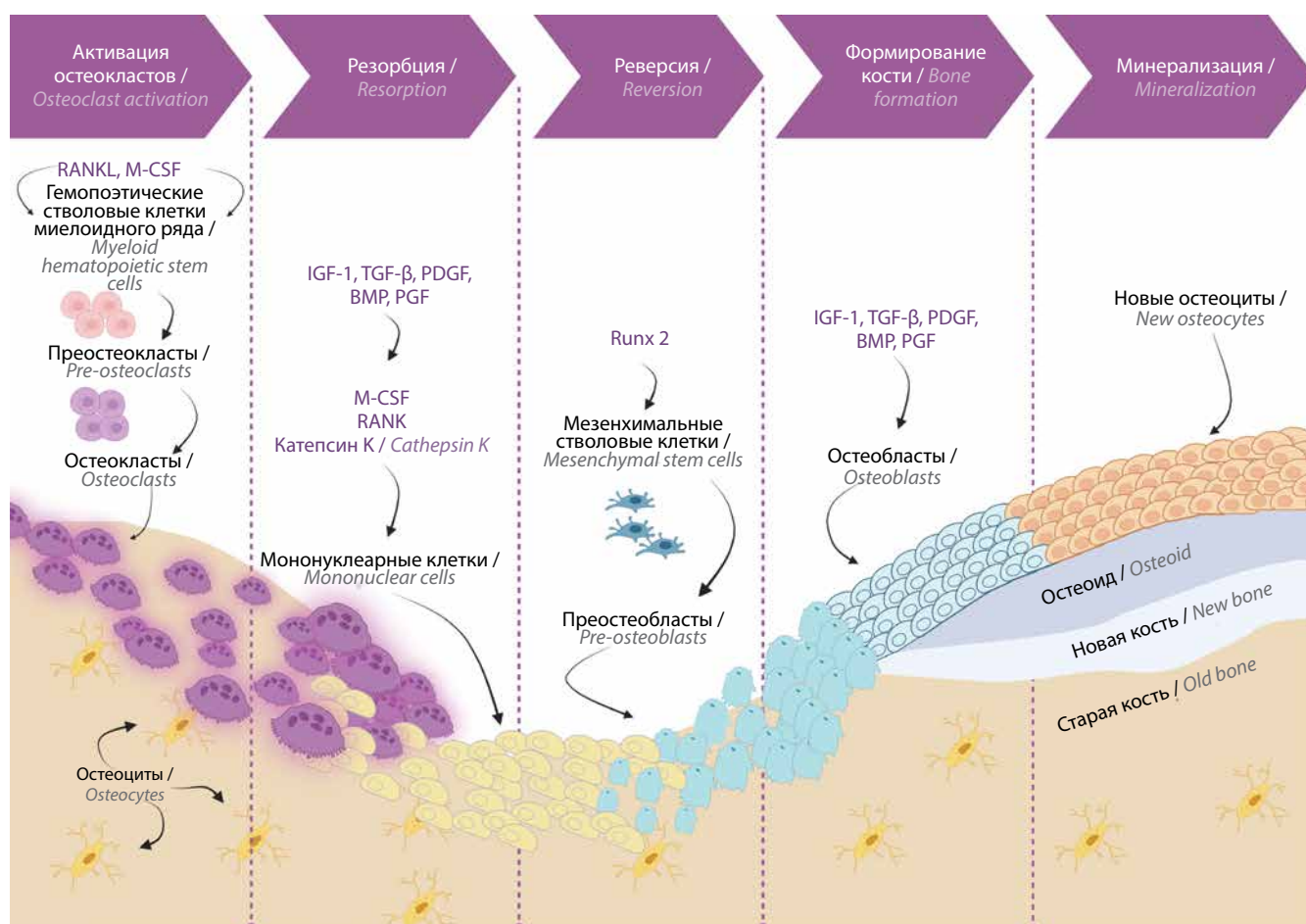


Рис. 1. Взаимосвязь и биологические эффекты сигнальных путей на каждом из этапов костного ремоделирования. М-CSF — фактор стимуляции колоний макрофагов; IGF-1 — инсулиноподобный фактор роста 1; TGF-β — трансформирующий фактор роста β; PDGF — тромбоцитарный фактор роста; BMP — костные морфогенетические белки; PGF — плацентарный фактор роста
Fig. 1. Interplay and biological effects of signaling pathways on each point of bone remodeling. M-CSF — macrophage colony-stimulating factor; IGF-1 — insulin-like growth factor 1; TGF-β — transforming growth factor β; PDGF — platelet-derived growth factor; BMP — bone morphogenetic proteins; PGF — placental growth factor

В 1889 г. английский хирург Stephen Paget предложил теорию «семян и почвы», согласно которой для каждого типа рака характерно распространение опухолевых клеток («семена») в конкретные части организма («почву»). Например, рак предстательной железы (РПЖ) часто метастазирует в кости, а рак желудка — в печень. S. Paget также предположил, что метастазирование — не случайный и разрозненный, а сложный и скоординированный процесс [5].

Кость является предпочтительным местом для метастатического роста при многих видах рака. Она хорошо васкуляризирована и богата факторами роста, включая инсулиноподобные факторы роста (IGF), трансформирующий фактор роста β (TGF- β), факторы роста фибробластов (FGF), тромбоцитарные факторы роста и костные морфогенетические белки (BMP), которые необходимы для метастазирования в кости. Это все делает кость привлекательной средой для локализации и роста опухолевых клеток [6].

Процессы обновления кости представляют собой поочередную работу остеобластов, которые формируют новую костную ткань, и остеокластов, которые разрушают старую костную ткань (резорбция) (рис. 1). Опухолевые клетки нарушают работу этого сбалансированного механизма, вызывая избыточный синтез остеобластов или остеокластов, что приводит к нарушению процесса ремоделирования костной ткани. Ремоделирование кости — непрерывный и динамичный процесс формирования и резорбции кости для поддержания ее целостности и гомеостаза. Этот процесс продолжается на протяжении всей жизни, при этом до 20 % скелета подвергается постоянному ремоделированию для устранения повреждений, вызванных механическими стрессами, и поддержания целостности скелета [7]. Резорбция кости обычно более агрессивна и характерна для рака легкого, почки, молочной железы (РМЖ). Противоположный ему механизм — избыточное костеобразование, часто возникающее при раке предстательной железы (РПЖ), для которого характерно чрезмерное увеличение плотности костной ткани. Эти 2 процесса имеют различные клинические и молекулярные особенности, но их общей чертой является нарушение баланса между остеобластами и остеокластами под воздействием опухоли, что может превратить нормальные ниши в метастатические. Таким образом, костные метастазы могут влиять на кость по-разному: провоцируя избыточное костеобразование (остеобластические поражения), способствуя разрушению кости (остеолитические поражения) или сочетая эти 2 эффекта (смешанные поражения) [8].

Эпигенетическая регуляция является одним из ключевых механизмов ремоделирования кости. Метилирование ДНК, модификации гистонов и работа многочисленных молекул некодирующих РНК регулируют программы транскрипции, не вызывая специфических изменений на генетическом уровне [9].

Цель работы — обобщение имеющихся данных о костном метастазировании для лучшего понимания биологической природы онкогенеза.

Для этого проанализированы научные публикации последних лет, содержащие сведения о молекулярных процессах метастазирования в костную ткань, из баз данных National Center for Biotechnology Information (NCBI), eLibrary и Google Scholar.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ КОСТНЫХ МЕТАСТАЗОВ

Частота костных метастазов при различных онкологических заболеваниях варьирует в широком диапазоне (табл. 1) [10–17]. С 1959 по 1997 г. в Онкологическом центре Сикоку (Япония) исследованы случаи аутопсии. Установлено, что при РМЖ и РПЖ метастазы в кости развиваются в 75 % случаев, при раке желудка и толстой кишки — в 22 %, при раке легкого — в 30–40 % [10–12]. Эти данные подтверждены результатами крупномасштабного исследования, согласно которым самый высокий риск возникновения костных метастазов среди всех пациентов с солидными опухолями наблюдается у больных РПЖ, а также у пациентов с раком легкого, почки и РМЖ. Частота метастазирования в кости повышается с увеличением клинической стадии заболевания [17].

По результатам эпидемиологического анализа костных метастазов, который провели R. E. Coleman и соавт., при РМЖ метастазы в костях развиваются в 70 % случаев, при РПЖ — в 85 %, при раке легкого и почки — в 40 %, при множественной миеломе — в 95 %. Частота метастазирования опухолей в позвоночник составила 87 %, таз — 63 %, череп — 35 %, ребра — 77 %, в проксимальные отделы плечевых и бедренных костей — 53 %, дистальный аппендикулярный скелет — 1 % [7]. Медиана выживаемости пациентов с раком легкого, РМЖ, РПЖ и множественной миеломой с метастазами в костях варьировала от 1 до 3–5 лет [6, 7].

МЕХАНИЗМ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ КОСТИ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Ремоделирование кости — сложный процесс, представляющий собой обновление костной ткани путем резорбции с последующим образованием новой костной ткани, что необходимо для костного гомеостаза, включающего поддержание физиологии костных клеток и микроархитектуры кости.

Механизм ремоделирования кости в норме

Весь цикл обновления костной ткани регулируется балансом между резорбцией кости остеокластами, которые дифференцируются из гемопоэтических стволовых клеток миелоидного ряда, и формированием кости остеобластами, которые происходят из мезенхимальных стволовых клеток [18]. Дифференцировку и функцию, которую выполняют костные клетки,

модулируют различные аутокринные и паракринные факторы. Ключевыми факторами остеокластогенеза и дифференцировки остеокластов являются рецептор-активатор лиганда транскрипционного ядерного фактора κB (NF- κB) (RANKL), фактор стимуляции колонии макрофагов (M-CSF), а также различные

цитокины. Зрелые остеобласты секретируют белки, способствующие образованию костного внеклеточного матрикса, который впоследствии минерализуется (происходит костеобразование). Остеобластогенез и дифференцировка остеобластов поддерживаются местными факторами, такими как TGF- β , BMP

Таблица 1. Частота метастазирования в кости при различных онкологических заболеваниях, %

Table 1. Incidence of bone metastases in different tumors, %

Показатель Parameter	Значение Value	Источник Reference	Показатель Parameter	Значение Value	Источник Reference
Распространенность костных метастазов (по данным N. Long и соавт.) при: Prevalence of bone metastases in different solid tumors (according to N. Long et al.):			Частота развития метастазов в костях при заболевании IV стадии при: Frequency of bone metastases in stage IV disease in:		
РПЖ	32	[13]	РПЖ	88,7	[14]
PC			PC		
РМЖ	25		РМЖ	53,7	
BC			BC		
РЛ	23		раке почки	38,7	
LC			kidney cancer		
злокачественных опухолях центральной нервной системы	4	[14]	раке мочеполовой системы (кроме рака почки, мочевого пузыря, яичек и РПЖ)	37,9	
malignant tumors of the central nervous system			cancer of the genitourinary system (except kidney, bladder, testicles cancer and PC)		
раке яичек	4	[14]	аденокарциноме легкого	36,9	
testicular cancer			lung adenocarcinoma		
Частота развития метастазов в костях (по данным J. F. Huang и соавт.) при: Frequency of bone metastases in disease (according to J. F. Huang et al.) in:			злокачественных опухолях женской репродуктивной системы (кроме рака яичников и эндометрия)	36,0	
мелкоклеточном РЛ	23,2		malignant tumors of the female reproductive system (except ovarian, endometrial cancers)		
small cell LC			мелкоклеточном РЛ	34,6	
немелкоклеточном РЛ	22,5		small cell LC		
non-small cell LC			немелкоклеточном РЛ	33,6	
аденокарциноме легкого	20,3		non-small cell LC		
lung adenocarcinoma			раке мочевого пузыря	31,1	
плоскоклеточном РЛ	8,4		bladder cancer		
squamous cell LC			Частота развития метастазов в костях в срок 5 лет при: Frequency of bone metastases in 5 years in:		[17]
бронхиолоальвеолярном раке	4,11	[14]	РПЖ	24,5	
bronchioloalveolar cancer			PC		
раке пищевода	8,0		РЛ	12,4	
esophageal cancer			LC		
раке желудка	4,5		раке почки	8,4	
stomach cancer			kidney cancer		
опухолях гепатобилиарной системы	4,4		РМЖ	6,0	
tumors in the hepatobiliary system			BC		
раке поджелудочной железы	3,8		колоректальном раке	2,1	
pancreatic cancer			colorectal cancer		
раке других органов пищеварения	3,3		раке желудочно-кишечного тракта	3,2	
other digestive organs			gastrointestinal cancers		
раке толстой кишки	1,2	[17]	злокачественных опухолях женской репродуктивной системы	1,9	
colon cancer			malignant tumors of the female reproductive system		
раке ануса	1,0		меланоме	2,5	
anal cancer					
раке почки	16,1				
kidney cancer					
РПЖ	5,7	[17]			
PC					
РМЖ	3,7				
BC					

Окончание табл. 1

End of table 1

Показатель Parameter	Значение Value	Источник Reference
Частота развития метастазов в костях в срок 10 лет при: Frequency of bone metastases in 10 years in:		
РПЖ PC	29,2	[17]
РЛ LC	12,9	
раке почки kidney cancer	9,9	
РМЖ BC	8,1	
колоректальном раке colorectal cancer	2,7	
раке желудочно-кишечного тракта gastrointestinal cancers	3,6	
злокачественных опухолях женской репродуктивной системы malignant tumors of the female reproductive system	2,4	
меланоме melanoma	3,0	
Частота развития метастазов в костях при заболевании IV стадии в срок 5 лет при: Frequency of bone metastases in stage IV disease in 5 years in:		
РПЖ PC	61,1	[17]
РЛ LC	50,6	
раке почки kidney cancer	25,8	
РМЖ BC	22,3	
колоректальном раке colorectal cancer	5,8	
раке желудочно-кишечного тракта gastrointestinal cancers	6,8	
злокачественных опухолях женской репродуктивной системы malignant tumors of the female reproductive system	6,2	
меланоме melanoma	9,0	

Показатель Parameter	Значение Value	Источник Reference
Частота метастазирования первичных опухолей в кости при: Frequency of primary tumor metastases in the bone:		
РЛ	44,4	[15]
ДС		
РПЖ	19,3	
РС		
РМЖ	12,3	
ВС		
раке почки kidney cancer	4,0	
раке толстой кишки colon cancer	2,2	
Частота выявления метастазов в костях на момент обращения к врачу при: Frequency of bone metastases detection at the time of doctor visit in:		
мелкоклеточном РЛ small cell LC	25,2	[15]
немелкоклеточном РЛ non-small cell LC	18,0	
аденокарциноме пищевода esophageal adenocarcinoma	9,4	
Участки костной ткани, которые чаще всего полностью поражаются метастазами при РМЖ: Areas of bone tissue which are most frequently affected by metastases in breast cancer:		
ребра ribs	13,4	[16]
грудные позвонки thoracic vertebrae	12,4	
таз pelvic	12,2	
поясничные позвонки lumbar vertebrae	12,1	
грудина sternum	10,5	

Примечание. РПЖ – рак предстательной железы;

РМЖ — рак молочной железы; РЛ — рак легкого.

Note. PC – prostate cancer; BC – breast cancer; LC – lung cancer.

и активация пути Wingless-INT (Wnt). Остеокласты, как и остеобласты, способствуют гомеостазу кости [8].

Цикл ремоделирования кости состоит из 5 последовательных фаз, в числе которых активация, резорбция, реверс, формирование и терминация (табл. 2). Первая фаза начинается с активации остеокластов. В ходе нее гемопоэтические стволовые клетки сначала дифференцируются в клетки-предостеокласты, которые сливаются с образованием многоядерных клеток. Следующая фаза – резорбции – характеризуется рас-

творением костных минералов и разрушением костного матрикса активированными остеокластами.

В реверсивную фазу удаляются остатки поврежденного костного матрикса и формируется новый остеοидный матрикс остеοбластами, который будет затем минерализоваться. Во время резорбции происходит высвобождение факторов роста из костного матрикса. В фазу терминации они участвуют в увеличении популяции преостеοбластов для замены поврежденных костных поверхностей [19].

Таблица 2. Фазы костного ремоделирования

Table 2. The phases of bone remodeling

Фаза Phase	События Events
Этап I Stage I	
Активации Activation	Происходит обнаружение инициирующего ремоделирования сигнала, который может принимать различные формы. Наблюдается воздействие гормонов (эстрогена или паратиреоидного гормона) на костные клетки в ответ на более системные изменения гомеостаза. Физические силы, вызывающие механическое напряжение и микроповреждения скелета, преобразуются в биологические сигналы, которые могут быть обнаружены остеоцитами Remodeling-inducing signal – which can have many forms – is identified. Action of hormones (estrogen or parathyroid hormone) on bone cells in response to systemic changes in homeostasis is observed. Physical forces causing mechanical tension and skeletal microdamage are transformed into biological signals which can be identified by osteocytes
Этап II Stage II	
Резорбции Resorption	Клетки выстилки кости втягиваются, коллагеназа расщепляет тонкий слой неминерализованного матрикса (эндостальной мембраны), далее предшественники остеокластов привлекаются из кровотока и активируются. Остеокласты дифференцируются: большие многоядерные остеокласты мигрируют и прикрепляются к поверхности кости, инициируя резорбцию для разрушения костного матрикса. На поверхности губчатой кости формируются полости. В процессе резорбции образуются «вырытые» области костного матрикса (лакуны Хаушипа). Оставшийся органический костный матрикс разрушается набором коллагенолитических ферментов, а остеокласты подвергаются апоптозу Bone lining cells retract, collagenase breaks down a thin layer of non-mineralized matrix (endosteal membrane), osteoclast precursors are recruited from the bloodstream and activated. Osteoclasts differentiate: large multinuclear osteoclasts migrate and attach to the bone surface initiating resorption for destruction of bone matrix. Cavities are formed on the surface of spongy bone. During resorption, “burrowed” areas of bone matrix (Howship’s lacunae) are formed. The remaining organic bone matrix is destroyed by a set of collagenolytic enzymes, and osteoclasts undergo apoptosis
Этап III Stage III	
Обратная Reversal	Остеокласты заменяются остеобластами, которые инициируют формирование кости Osteoclasts are then replaced by osteoblasts, which initiate bone formation
Этап IV Stage IV	
Формирования Formation	Остеобласты синтезируют остеоид, белковый матрикс, состоящий из коллагена 1-го типа, для заполнения пустот, оставленных остеокластами. По мере минерализации костного матрикса образуется новая кость. В дальнейшем остеобласты превращаются в покоеющиеся выстилающие клетки, которые полностью покрывают вновь образованную поверхность кости. Некоторые остеобласты погружаются во вновь сформированный костный матрикс, становясь остеоцитами с разветвленной сетью каналов, что необходимо для контактов с клетками, выстилающими поверхность кости, остеобластами и другими остеоцитами Osteoblasts synthesize osteoid, a protein matrix composed primarily of type I collagen, to fill the cavities by osteoclasts. As the bone matrix mineralizes, new bone is formed. Subsequently, osteoblasts differentiate into quiescent bone-lining cells that fully cover the newly formed bone matrix, transforming into osteocytes. These osteocytes develop a branched canalicular network essential for maintaining contact with bone surface cells, osteoblasts, and other osteocytes
Этап V Stage V	
Завершения Termination	Происходит минерализация (кальцификация) кости. После минерализации зрелые остеобласты подвергаются апоптозу, возвращаясь к фенотипу костной ткани или внедряясь в минерализованный матрикс, и дифференцируются в остеоциты. Состояние покоеющейся поверхности кости восстанавливается и поддерживается до начала следующей волны ремоделирования Bone mineralization (calcification). Following mineralization, mature osteoblasts undergo apoptosis, revert to a bone lining cell phenotype, or become embedded within the mineralized matrix, differentiating into osteocytes. The quiescent bone surface state is thereby restored and maintained until the initiation of the next remodeling cycle

На молекулярном уровне цикл костного ремоделирования регулируется сложной сигнальной сетью, включающей как локально секретируемые факторы, так и системные гормоны. Выделяют 2 типа ремоделирования кости — целевое (таргетное), наблюдаемое при микроповреждениях, и стохастическое (вероятностное), которое находится под влиянием гормонов [20].

Микроповреждения костной ткани инициируют цикл костного ремоделирования. Остеобласты, которые покрывают поверхность костной trabecулы, получают сигналы от остеоцитов и образуют зону костного ремоделирования, которая снабжается кровеносными сосудами. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и эндотелин обеспечивают связь между сосудами и костной тканью, контролируя жизнедеятельность остеокластов и остеобластов. Цикл ремоделирования костей начинается с дифференциации предшественников остеокластов в зрелые остеокласты проостеокластогенными цитокинами RANKL и M-CSF [19].

Известно, что активация сигнала Wnt/ β -катенин в остеобластах происходит при уменьшении выработки склеростина остеоцитами. Этот сигнальный путь способствует остеобластогенезу, участвуя в дифференцировке мезенхимальных стволовых клеток в преостеобласты, и в дальнейшем в их преобразовании в остеобласты [20].

Важные участники процесса костного ремоделирования — факторы роста, интерлейкин 1, M-CSF, который стимулирует образование преостеокластов, маркеры Runx2 (фактор транскрипции 2, связанный с карликовостью) и остерикс [19]. Для резорбции костной ткани необходимы M-CSF, рецептор-активатор NF- κ B (RANK) и катепсин K, который является одним из ферментов, разрушающих коллаген I-го типа [21]. Экспериментальные данные показали, что RANKL стимулирует резорбцию кости у мышей без M-CSF [22]. Активность процессов резорбции кости оценивают по уровню тартрат-резистентной кислой фосфатазы 5b (TRACP) в плазме крови [23]. Остеопротегерин (OPG), секретируемый остеобластами, является частью цитокиновой системы RANKL-RANK-OPG. OPG, связываясь с RANKL, ингибирует процессы дифференцировки и активации остеокластов, защищая скелет от чрезмерной резорбции [24]. Таким образом осуществляется контроль баланса остеокластов и остеобластов цитокиновой системой при остеокластогенезе.

Процесс костного ремоделирования завершается минерализацией органического матрикс-остеоида, восстановлением разрушенного синцития новыми остеоцитами и выработкой склеростина [19]. В норме в ходе ремоделирования формируется новая костная ткань в том же объеме [20].

Механизм ремоделирования кости при наличии костных метастазов

На сегодняшний день до конца неизвестен механизм, посредством которого метастазы распростра-

няются в скелетную систему, а также то, каким образом метастатические раковые клетки взаимодействуют со специфическим микроокружением кости. Выделяют остеолитические и остеобластические поражения костной ткани. Первые характеризуются снижением плотности костной ткани, вторые — ее повышением [25].

Активация опухолевых факторов роста сопровождается выработкой белка, связанного с паратиреоидным гормоном (PTHrP) и интерлейкином 6, стимуляцией процессов созревания и активности остеокластов, что приводит к усиленной резорбции костной ткани [26]. Особенностью резорбции костного матрикса является высвобождение IGF-1, TGF- β , факторов роста тромбоцитов (PDGF), BMP и FGF, которые стимулируют рост опухоли. Опухолевые факторы роста также активируют остеобласты и индуцируют высвобождение эндотелина-1 (ET-1) и ингибирование антагониста сигнального пути Wnt dickkopf-1 (DKK-1), что приводит к усилению активности остеобластов и патологическому костеобразованию [27]. Повреждение тканей запускает процесс иммунного ответа, в котором участвуют нейтрофилы, тучные клетки, моноциты и макрофаги, адаптивные иммунные клетки (Т- и В-клетки), необходимые для поддержания и ускорения формирования кости.

Основным проявлением костных метастазов служит рентгенологически идентифицируемый процесс разрушения костной ткани, известный как остеолитические поражения. Эти поражения возникают в результате повышенной активности остеокластов, при которых кость становится очень хрупкой, из-за чего повышается риск патологических переломов.

Однако при РМЖ метастазы в 20 % случаев приводят к образованию новой костной ткани — развитию склеротических или плотных участков в кости. Метастазы при РПЖ обычно вызывают остеобластические поражения с избыточным образованием новой костной ткани с измененной структурой, при которых может усиливаться резорбция кости [28].

Для множественной миеломы характерны остеолитические поражения. Патологические особенности метастазов при данной патологии подчеркивают критический дисбаланс между резорбцией и формированием кости, а также агрессивный характер поражения кости [29].

Несмотря на наличие остеолитических поражений при РМЖ и раке легкого, для этих патологий характерны специфические гормональные механизмы, что влияет на потенциал остеогенных поражений. При РМЖ сигнальные пути рецепторов эстрогена существенно влияют на микроокружение кости и способствуют метастатической колонизации и прогрессированию заболевания. Сверхэкспрессия гена *Notch3* связана с костным метастазированием при немелкоклеточном раке легкого и влияет на экспрессию и активность *ZEB-1*, облегчая эпителиально-мезенхимальный переход и инвазию [30]. Способность к метастазирова-

нию при РПЖ зависит от соотношения андрогенов и эстрогенов.

Циркулирующие опухолевые клетки были идентифицированы как предикторы метастазирования в кости. Небольшая доля этих клеток, попавших в кровоток, может вызвать метастазирование (<0,1 % случаев) [31]. Опухолевые клетки покидают первичную опухоль и претерпевают эпителиально-мезенхимальный переход, что делает их более подвижными, инвазивными и способными проникать в базальную мембрану и окружающие ткани. После этого они могут попасть в кровоток и распространиться по организму. Опухолевые клетки покидают кровеносную систему путем экстравазации и вступают во взаимодействие с остеокластами и остеобластами. Это приводит к увеличению факторов опухолевого происхождения в микроокружении кости, что способствует образованию новых клеток кости и активации остеокластов. В результате активируется передача сигналов RANKL-RANK, осуществляются распространение, рост и пролиферация опухолевых клеток [32].

Выделяют ряд факторов, обуславливающих локализацию опухолевых клеток в кости. К ним относится степень васкуляризации. Костный мозг сильно васкуляризован и приспособлен к колонизации циркулирующих опухолевых клеток. Физическая жесткость внеклеточного матрикса опухоли повышает экспрессию транскрипционного фактора *GLI2*, который, в свою очередь, усиливает экспрессию *PTHrP* посредством передачи сигналов интегрин β -3 и *TGF- β* в клетках РМЖ, тем самым способствуя пролиферации опухолевых клеток. Еще одним фактором является физическая сила. Пролиферирующие опухолевые клетки оказывают давление на микроокружение кости. Остеоциты, встроенные в костный матрикс, ощущают это давление и повышают регуляцию хемокинового лиганда 5 (*CCL5*) и матриксных металлопротеиназ, способствуя росту костных метастазов РПЖ. Согласно результатам исследований, низкая минеральная плотность костной ткани у пациентов с РМЖ увеличивает риск метастазирования в кости [33]. Кость является резервуаром кальция и иммобилизованных факторов роста, которые высвобождаются остеокластами во время резорбции кости. *TGF- β* , *IGF*, *FGF*, *BMP*, *VEGF*, *ET-1* и *PDGF* входят в число высвобождаемых факторов роста, которые помогают метастатическим опухолевым клеткам в их выживании и росте. Повышенное высвобождение факторов роста при остеокластической активности приводит к увеличению частоты метастазирования. Экспрессия адгезивных молекул и рецепторных лигандов на поверхности опухолевых клеток позволяет увеличить частоту развития костных метастазов и хоминга. Так, *VCAM-1* (молекула адгезии сосудистых клеток 1) на опухолевых клетках, взаимодействуя с рецептором предшественника остеокластов интегрин $\alpha 4 \beta 1$, способствует остеокластогенезу [34].

Эпигенетическая регуляция ремоделирования кости и метастазирования в кости

Эпигенетическая регуляция представляет собой изменение экспрессии генов и клеточных процессов без изменений в последовательности ДНК. В регуляции костного ремоделирования большую роль играет ряд эпигенетических факторов: метилирование ДНК, модификации гистонов, некодирующие РНК. Любые патологические изменения, произошедшие под воздействием эпигенетических факторов во время костного ремоделирования, приводят к нарушению гомеостаза в кости, регуляции формирования и резорбции костной ткани, а также ее минерализации [35].

ДНК-метилирование в опухолевых клетках. Метилирование ДНК представляет собой модификацию молекулы ДНК путем переноса метильной группы от S-аденозилметионина в 5-е положение пиримидинового кольца цитозина. ДНК-метилтрансферазы *DNMT1*, *DNMT3A* и *DNMT3B* влияют на метилирование ДНК. *DNMT1* тесно связан с поддержанием метилирования ДНК, в то время как *DNMT3A* и *DNMT3B* способны повышать скорость метилирования ДНК [36]. Подавление процесса транскрипции является результатом метилирования промоторных регионов генов как следствие нарушений при связывании транскрипционных факторов или к их колонизации на CpG-сайтах с последующей конденсацией хроматина и снижением экспрессии гена в определенном локусе генома. Метилирование ДНК ответственно за процесс компактизации хромосом, которая учитывает конфигурацию нуклеосом и их расположение [35].

Изменение профиля метилирования характерно для любого патологического процесса. Канцерогенез может быть вызван мутацией, эпигенетической репрессией или гиперэкспрессией ДНК-метилтрансфераз и белков семейства ТЕТ, приводящих к гипо- и гиперметилированию ДНК.

М. Yang и соавт. показали, что метилирование ДНК влияет на экспрессию гена *ALDH2*, которая опосредована ДНК-метилтрансферазой 3A (*DNMT3A*) и метилированным CpG-связывающим белком 4 (*MBD4*), и что экспрессия этих регуляторов значительно увеличивает вероятность развития костных метастазов у пациентов с раком легкого [37]. К. Nishikawa и соавт. изучили механизмы остеокластогенеза, регулируемого *DNMT3A*, и обнаружили, что экспрессия *RANKL* индуцирует метаболический сдвиг за счет увеличения продукции S-аденозилметионина (*SAM*) [38]. *DNMT3A* может регулировать эпигенетическое ингибирование антиостеокластогенных генов путем *SAM*-опосредованного метилирования ДНК. Согласно результатам исследования М. Yang и соавт., экспрессия *ALDH2* может быть индуцирована путем ингибирования экспрессии *DNMT3A* [37]. Это значительно снижает вероятность костного метастазирования у пациентов с раком легкого.

Показана большая роль митохондриальной ДНК (мтДНК) в онкогенезе и метастатической прогрессии [39]. Выявлена прямая связь между гиперметилованием мтДНК и ростом опухоли с метастазами в костях у пациентов со светлоклеточной почечно-клеточной карциномой. Z. Liu и соавт. установили, что клетки светлоклеточной карциномы на стадии метастазирования в кости способны секретировать значительно больше индуцированного стрессом фосфопротеина 1 (STIP1), чем первичные клетки опухоли [40]. В процессе резорбции костной ткани STIP1 участвует в пролиферации и миграции/инвазии опухолевых клеток светлоклеточной почечно-клеточной карциномы через аутокринные рецепторы и способствует дифференцировке остеокластов, параллельно повышая регуляцию катепсина К для деградации коллагена и других матричных белков [41].

J. Wang и соавт. провели протеомный анализ костных метастатических клеток светлоклеточной почечно-клеточной карциномы, сравнили их с первичными клетками опухоли и определили, что окислительное фосфорилирование и митохондриальная дисфункция очень важны для дифференциально экспрессируемых внутриклеточных белков [42]. Помимо окислительного фосфорилирования, митохондрии являются основным генератором активных форм кислорода (АФК) при индуцировании окислительного стресса, способствующего метастазированию [43].

Известно, что гиперметилование мтДНК в клетках светлоклеточной почечно-клеточной карциномы изменяет окислительное фосфорилирование и активирует митохондриальный окислительный стресс [44]. АФК, метаболиты цикла трикарбоновых кислот, гомеостаз кальция и активация АМФ-активируемой (АМФ — аденозинмонофосфат) протеинкиназы представляют собой механизмы передачи сигнала ядру митохондриями, которые важны для контроля процесса метастазирования. По данным Z. Liu и соавт., гомология STIP1 STUB1 (индуцированный стрессом и U-бокс, содержащий белок 1) необходима для защитной деградации АФК-стресс-пероксисом [40]. J. Wang и соавт. считают, что передача сигналов АФК при поддержании нарушенного баланса внутриклеточного уровня АФК имеет решающее значение для детоксикации клеток светлоклеточной карциномы от АФК и способствует метастазированию в кости [42].

Экзогенный SPARC способствует метастазированию в кости [45], косвенно стимулируя подвижность и хемотаксис к витронектину, который является одним из основных белковых компонентов плазмы крови [46]. Однако SPARC, продуцируемый аденовирусом, подавляет *in vivo* метастазирование клеток MDA-MB231 в легкие и кости, уменьшая агрегацию опухолевых клеток с тромбоцитами. На клетках модели ксенотрансплантата мыши установлено, что при воздействии dAza (5-аза-2'-дезоксцитидин) происходит снижение экспрессии не только SPARC,

но и ET-1. Экзогенная miR29a снижала экспрессию SPARC, а транскрипция ET-1 зависела от 3'-UTR. Уровень ET-1 был снижен при активности PPAR γ (пероксисомный пролифератор-активируемый рецептор γ) и miR98, присутствующей в метастатических клетках. Эти особенности SPARC могут иметь функциональное и терапевтическое значение [47]. Интересно, что блокировка ДНК-метилтрансферазы влияет на активность микроРНК [48], а микроРНК играют большую роль в дерегулированных механизмах гиперметилования ДНК [47].

Несмотря на то что во многих опухолях SPARC метилируется в островке CpG, охватывающем экзон 1 [45], точный механизм его регуляции путем метилирования при метастазировании в кости изучен недостаточно.

Модификация гистонов. С-концевой домен и N-концевой хвост гистоновых белков подвержены различным посттрансляционным модификациям. Например, ацетилирование лизина регулирует экспрессию генов, необходимых в канцерогенезе и метастазировании [49]. Факторы транскрипции, рецепторы гормонов, шапероны и белки цитоскелета входят в группу негистоновых белков и обратимо ацетируются с последующим изменением функции, стабильности, локализации и белок-белковых взаимодействий [50]. Из всех посттрансляционных модификаций хорошо изучены процессы ацетилирования и метилирования остатков лизина гистонов H3 и H4. Ацетилирование представляет собой механизм, который основан на модели нейтрализации заряда: положительный заряд остатков лизина на H3/H4 способствует плотной упаковке отрицательно заряженной ДНК с гистонами. Добавление ацетильной группы может привести к потере плотной конфигурации хроматина, но в то же время открывает доступ транскрипционным факторам для инициации процесса транскрипции. Ацетилтрансферазы (HAT) и деацетилазы (HDAC) гистонов ответственны за катализ добавления и удаления ацетильных групп.

Семейство белков бромодомена и экстраконцевого домена (BET) влияют на экспрессию онкогенов путем привлечения факторов транскрипции и коактиваторов к ацетилированным лизинам гистонов. Данный эффект был показан в исследовании *in vitro*, в котором клетки пациента с остеосаркомой обрабатывали JQ1 — член семейства белков BET. Это привело к снижению экспрессии онкогенов MYC, CDK4, CDK6 и RUNX2 за счет истощения BRD4 в промоторном сайте, что, в свою очередь, способствовало снижению пролиферации опухолевых клеток остеосаркомы [51]. JQ1 также сдерживает остеокласты, предотвращая BRD4-зависимую индукцию сигнального пути RANKL, что делает его хорошим помощником в борьбе с костными метастазами и разрушением костей. При РМЖ с метастатическим поражением костей JQ1 и природный флавоноид икаритин подавляют рост опухолевых клеток и блокируют резорбцию костной

ткани, ингибируя дифференцировку остеокластов, что создает основу для исследования их потенциального синергизма в терапии костных метастазов [52].

Ацетилирование гистонов по ϵ -аминогруппе остатков лизина регулируется балансом активности гистон-ацетилтрансферазы и гистондеацетилазы. Известно, что нарушение этого баланса приводит к онкогенезу и метастазированию за счет снижения экспрессии опухолевых супрессоров и увеличения экспрессии онкогенов и прометастатических генов [53]. Согласно данным литературы, тирозинкиназа c-Src может быть биомаркером для прогнозирования чувствительности костного метастатического РМЖ к ингибиторам гистондеацетилазы. Доказана роль c-Src в онкогенезе и остеокластической активности, связанной с метастазами в костях. В мышинной модели РМЖ ингибирование c-Src снижало частоту развития костных метастазов, при этом увеличивалась выживаемость. Считается, что ингибитор гистондеацетилазы трихостатин А снижает активность сигнального пути c-Src/Ets1 и блокирует связывание Ets1 с промотором CXCR4. Гистондеацетилазы регулируют активность c-Src, а трихостатин А ингибирует промоторы c-Src [54].

Эффект метилирования гистонов зависит от целевых остатков [53]. Метилирование лизина 4/36/79 гистона H3 (H3K4/36/79) способствует активации процесса транскрипции, тогда как метилирование H3K9/27 и H4K20 обычно считается репрессивной эпигенетической меткой. SET7/9 катализирует H3K4me, который активирует экспрессию генов воспалительного ответа, а удаление метильных групп из этих меток с помощью гистондеметилаз, наоборот, приводит к остановке процесса транскрипции [55].

Согласно результатам последних исследований, установлено, что усилитель гомолога zeste 2 (EZH2) — каталитическая субъединица поликомб-репрессивного комплекса 2 (PRC2) — необходим для прогрессирования костного метастатического РМЖ. EZH2 катализирует метилирование гистона H3K27 (H3K27me3), который уплотняет хроматин, вызывая репрессию транскрипции генов. Этот механизм запускает эпигенетическое перепрограммирование костно-диссеминированных клеток РМЖ и РПЖ, увеличивая стволовость и усиливая метастатическое распространение в другие ткани. Такие клетки могут стимулировать появление метастазов в разных органах. Подавление активности EZH2 снижает стволовость и пластичность костно-диссеминированных опухолевых клеток, что значительно ограничивает образование вторичных метастазов [56].

Гистондеацетилазы обладают значительным потенциалом в качестве терапевтических мишеней, и их ингибиторы уже получили одобрение Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) для лечения гематологических злокачественных

новообразований, а также проходят клинические испытания для определения их эффективности при различных солидных опухолях, в том числе III–IV стадий. Несмотря на то что ингибиторы гистондеацетилазы не предназначены для лечения метастазов в костях и легких, они влияют на сигнальные пути, которые играют большую роль в распространении опухолевых клеток [50].

Некодирующие РНК. Выделяют несколько типов некодирующих РНК (нкРНК): микроРНК, малые интерференционные РНК (миРНК), рiРНК (обнаружены в комплексах с белками семейства Piwi), длинные некодирующие РНК (днРНК), малые ядерные РНК (мяРНК) и циркулирующие РНК [57]. Длинные некодирующие РНК считаются главными регуляторами транскрипции. Находясь в ядре после транскрипции, они могут закрепляться на хроматине в месте транскрипции или накапливаться в отдаленном месте. Эти РНК играют роль первичных регуляторов образования костных метастазов и индукторов колонизации отдаленных органов метастатическими клетками. Длинные некодирующие РНК способствуют инвазии и метастазированию, воздействуя на различные процессы, индуцируя эпителиально-мезенхимальный переход, который проявляется в фенотипическом преобразовании эпителиальных клеток в мезенхимоподобные клетки с высокой подвижностью и способностью проникать в окружающие ткани. Этот переход воздействует на молекулы клеточной адгезии и матрикса металлопептидазы, а также на регуляцию микроРНК и модуляцию клеточного цикла и путей апоптоза [58].

Обнаружено, что склеростин (Sost) — эндогенный ингибитор канонического сигнального пути Wnt/ β -катенин — дерегулируется в остеобластах, в модели взаимодействия остеобластов и РПЖ *in vitro*, и действует как основной регулятор экспрессии генов в высокоинвазивных клетках этой опухоли. Sost регулирует работу *MALAT1* (транскрипт 1, связанный с метастазированием аденокарциномы легкого), а снижение экспрессии данного ингибитора в микроокружении опухоли при РПЖ может способствовать метастазированию в кости за счет активации *MALAT1* [57].

Примечательно, что N⁶-метиладенозин (N⁶-methyladenosine, m⁶A) участвует в посттранскрипционных модификациях матричной РНК (мРНК) и нкРНК (миРНК, днРНК, циркулирующие РНК), связанных с онкогенезом и развитием метастазов. Модификации m⁶A могут действовать как структурный переключатель в модуляции судьбы РНК на различных уровнях, изменяя конформацию днРНК. Согласно данным S. Wen и соавт., уровни NEAT1 (днРНК, обогащенный ядерным веществом транскрипт 1) и m⁶A положительно коррелируют с метастазированием в кости при РПЖ. Сообщалось, что NEAT1/m⁶A облегчает онкогенную функцию комплекса CYCLINL1/CDK19 в метастатическом костном ксенотрансплантате (PDX)

пациентов и играет большую роль в прогрессировании РПЖ [59]. Нокдаун *PCAT6* (транскрипт 6, связанный с раком простаты) *in vitro* ингибирует миграцию, инвазию и пролиферацию клеток этой опухоли, а также противодействует росту опухоли и развитию метастазов в кости *in vivo* [60].

При попадании в микроокружение кости различные микроРНК и мяРНК, находясь под воздействием метастатических раковых клеток, играют непосредственную роль в поддержании петли положительной обратной связи между опухолевыми клетками, остеокластами и остеобластами, известной как порочный цикл [61]. Этот процесс происходит при наличии метастазов и отрицательно сказывается на гомеостазе, вызывая дисбаланс в соотношении клеток костного микроокружения. Когда метастатические клетки проникают в кости через кровоток, они могут колонизироваться и размножаться в новой среде. В этом контексте микроРНК, поступающие из первичного опухолевого очага, способны непосредственно влиять на активность остеокластов (miR-214, -19a, -26a-5p, -27a-3p, -30e-5p, -92a-1-5p и др.) и остеобластов (miR-92a-1-5p, SNORD166 и др.) [8]. Кроме того, микроРНК, вырабатываемые остеокластами и остеобластами, могут вызывать рост метастатических клеток в костном мозге [62].

В клетках РМЖ miR-21 экспрессируется через сигнальный путь LPA1/Pi3K/ZEB1 под воздействием лизофосфатидной кислоты (LPA1). Эта микроРНК способствует колонизации метастатических клеток в костной ткани и образованию макromетастазов. Ингибирование ее экспрессии снижает миграционную способность клеток РМЖ в условиях *in vitro* и ограничивает образование метастазов в костях в условиях *in vivo*. Ключевыми регуляторами miR-21 являются *LPA1* и *ZEB1*, при подавлении которых наблюдаются вышеописанные эффекты. Таким образом, воздействие на несколько мишеней в сигнальном пути LPA1/Pi3K/ZEB1 может предотвратить миграцию метастатических клеток в кости [63].

Повышенный уровень miR-214-3p в остеокластах также связан с метастазированием в кости при РМЖ [64]. Эта микроРНК нацелена на ингибитор дифференцировки остеокластов Traf3, что способствует опосредованной остеокластами резорбции кости. Выявлено, что ингибирование miR-214-3 оказывает терапевтический эффект на животных моделях за счет уменьшения степени остеолитических метастазов. Экзосомальная miR-214-3p, происходящая из остеокластов, может передаваться в остеобласты, подавляя процесс образования кости [65].

Уровень экспрессии miR-218-5p у пациентов с костными метастазами выше, чем у пациентов с первичным РМЖ, что позволяет предположить его участие в прогрессировании костных метастазов [66]. Низкий уровень экспрессии miR-218-5p, возможно,

способствует подавлению генов, связанных с костным метастазированием и активацией остеокластов. Считается, что miR-218-5p влияет на свойства остеомимикрии метастатических клеток, вызывая их адаптацию в костной ткани. Кроме того, подавление экспрессии гена коллагена 1-го типа $\alpha 1$ цепи (*COL1A1*) в преостеобластических клетках MC3T3 приводит к снижению отложения коллагена 1-го типа зрелыми остеобластами в условиях *in vitro*, а экзосомальная miR-218-5p, вырабатываемая клетками MDA-MB-231, напрямую воздействует на этот процесс [67].

Секретируемая опухолевыми клетками miR-940 индуцирует остеобластные метастазы в кости. Экзосомальная miR-940 способствует остеогенной дифференцировке мезенхимальных стволовых клеток человека, из которых происходит линия остеобластов. Обычно miR-940 вызывает остеолитические поражения у животных, однако при экспериментальной сверхэкспрессии miR-940 в клеточной линии РМЖ MDA-MB-231 данные клетки способны индуцировать остеобластические поражения *in vivo*. Это демонстрирует, как одна микроРНК, вырабатываемая опухолевыми клетками и секретируемая в экзосомах, может влиять на активность и созревание нормальных клеток-реципиентов в костном микроокружении [68].

ПОДХОДЫ К ЛЕЧЕНИЮ КОСТНЫХ МЕТАСТАЗОВ

Для лечения метастатического поражения костей у пациентов с солидными опухолями, а также для профилактики потери костной массы и/или переломов вследствие хрупкости костей, связанных с противоопухолевой терапией, применяют антирезорбтивный препарат деносумаб. Это синтетическое моноклональное антитело, ингибирующее дифференцировку, выживание и активность остеокластов путем конкурентного связывания RANKL, что блокирует связывание RANK с RANKL. Деносумаб считается высокоэффективным ингибитором резорбции костной ткани остеокластами. Результаты исследований *in vitro* показали, что этот препарат подобно OPG обладает высоким сродством к растворимому и связанному с мембраной RANKL [69]. Ингибируя функцию зрелых остеокластов, он также подавляет созревание их клеток-предшественников, уменьшает резорбцию и способствует восстановлению костной ткани, приостанавливая, таким образом, патологические процессы, связанные с костной тканью [70]. Деносумаб обладает хорошими фармакокинетическими свойствами, и, хотя имеет индивидуальные метаболические особенности, его молекулярная масса и структурные свойства обеспечивают быструю абсорбцию и нелинейный метаболический профиль, который может поддерживаться *in vivo* [71].

Дифференциация и созревание остеобластов регулируются двумя системами — RANK/RANKL и системой рецептора M-CSF/c-FMS (macrophage colony-

stimulating factor/colony-stimulating factor-1 receptor). Последняя отвечает за регуляцию дифференцировки ранних гемопоэтических стволовых клеток в клетки — предшественники остеокластов и выживание клеток — предшественников остеокластов, тогда как система RANK/RANKL является важным триггером дифференцировки предшественников остеокластов в функциональные остеокласты. RANKL — это гомологичный тримерный трансмембранный белок, который имеет 2 рецептора: мембраносвязывающий рецептор RANK и растворимый рецептор-приманку OPG. В костях RANKL экспрессируется в костном матриксе, клетках — предшественниках остеобластов и остеобластах, а RANK — на поверхности мембраны остеокластов и предшественников остеокластов в качестве рецептора, связывающегося с мембраной [72].

Связывание RANKL с RANK приводит к активации белка TRAF6, который активирует сигнальные пути NF- κ B, MAPK и Fos/AP-1, что способствует активации NFATc1 — ключевого фактора транскрипции генов, ассоциированных с остеокластами, необходимых для их формирования. OPG конкурентно связывается с RANKL и, таким образом, ингибирует активацию остеокластов. Деносумаб, имеющий такую же молекулярную массу, что и OPG, также связывается с RANKL и подавляет активацию и созревание остеокластов [72].

Благодаря приемлемым профилю безопасности и переносимости, еще один антирезорбтивный препарат, бензодиазепин III поколения — золедронат (золедроновая кислота, 1-гидрокси-2-[(1H-имидазол-1-ил) этилиден]-1-бисфосфонат) — одобрен для профилактики и лечения событий, связанных со скелетом, у пациентов с метастатическим поражением костей, особенно с метастазами в костях при прогрессирующем почечно-клеточном раке, РПЖ и РМЖ [73]. Бисфосфонаты ингибируют остеокластическую резорбцию кости, прикрепляясь к участкам связывания гидроксиапатита на костных поверхностях. Включенный бисфосфонат ухудшает способность остеокластов прикрепляться к костной поверхности, а также подавляет стимуляцию костной резорбции [74].

Опухолевым клеткам обычно требуется пренилирование внутриклеточных белков для поддержания своих функций, подобно тому, как нормальным остеокластам необходимы пренилированные малые ГТФазы. Азотсодержащие бисфосфонаты не только эффективно подавляют активность остеокластов и вызванную опухолью резорбцию кости, снижая заболеваемость у онкологических больных с метастатическим поражением костей, но и вызывают апоптоз опухолевых клеток и другие противоопухолевые эффекты, такие как ингибирование инвазии и адгезии клеток опухоли [75]. Золедронат может вызывать апоптоз клеток как косвенно, через ингибирование пренилирования белков, так и напрямую, через блокаду митохондриальной транслоказы АДФ/АТФ с помощью Arpp1 [75].

Распространенные побочные эффекты золедроната — системные воспалительные симптомы и почечная токсичность. К серьезным нежелательным явлениям при использовании этого препарата относятся гипокальциемия, атипичные переломы бедренной кости и остеонекроз челюсти.

Однако у лиц с высокой вероятностью переломов риск отказа от лечения антирезорбтивными препаратами часто значительно превышает риск развития этих редких побочных эффектов.

В настоящее время разрабатываются новые эффективные методы противоопухолевой терапии, которые можно внедрить в клиническую практику. R. Liu и соавт. продемонстрировали, что EZH2 играет значимую роль в поражении костей, вызванных миеломными клетками [76]. EZH2 — каталитическая субъединица PRC2 — имеет большое значение в эпигенетической регуляции, что приводит к репрессии транскрипции целевых генов. Так, EZH2 образует комплекс с транскрипционным фактором AP2 α , подавляющий транскрипцию. Этот комплекс способствует триметилированию лизина 27-го гистона H3 (H3K27me3) в промоторной области гена-супрессора опухолей *EMPI*, подавляя транскрипцию. Подавление *EMPI* вызывает усиление пролиферации миеломных клеток и сопутствующей секреции остеолитических цитокинов, которые способствуют разрушению костей. Воздействие на EZH2 представляет собой потенциальную терапевтическую стратегию для профилактики и лечения миеломной болезни костей [76]. Отметим, что в настоящее время для пациентов с данной патологией доступно немного таргетных препаратов. Чаще всего для лечения опухоли индуцированного поражения костей в клинической практике используются бисфосфонаты, но они демонстрируют частичную эффективность и связаны с развитием побочных эффектов. Нарушение регуляции EZH2 происходит и при других видах рака, включая лимфомы, РПЖ и РМЖ. Подтверждено, что воздействие на EZH2 является эффективной стратегией терапии рака. FDA одобрены таземетостат (tazverik) и валеметостат (ezharmia), многие ингибиторы EZH2 в настоящее время проходят клинические испытания [77].

Деацетилирование гистонов является основным регулятором аномальной экспрессии генов в опухолевых клетках, поэтому ингибиторы HDAC активно изучаются, благодаря их способности перепрограммировать опухолевые клетки. HDAC — ферменты, катализирующие удаление ацетильной группы с N-ацетиллизина гистонов. Они модифицируют гистоны и изменяют конформацию хроматина, благодаря чему играют большую роль в регуляции экспрессии генов. Таким образом, HDAC является важной эпигенетической мишенью при терапии рака, а ингибиторы HDAC служат успешными цитотоксическими агентами [78]. Некоторые ингибиторы HDAC одобрены FDA для ле-

чения гематологических злокачественных новообразований. Эффективность многих ингибиторов HDAC при использовании различных комбинированных методов лечения солидных опухолей, включая метастатический РМЖ, в настоящее время изучается.

Результаты исследования М.Е. Clements и соавт. продемонстрировали, что некоторые ингибиторы HDAC усиливают остеолиз и рост метастазов в костях, но их можно смягчить с помощью терапии бисфосфонатами. Например, лечение энтиноставом или панобиноставом, но не вальпроевой кислотой, увеличило опухолевую нагрузку и заболеваемость в экспериментальной модели метастазов РМЖ в костях. *In vitro* множественные ингибиторы HDAC стимулировали экспрессию проостеолитических генов в опухолевых клетках молочной железы, на основании чего авторы предположили, что это может быть механизмом, посредством которого ингибиторы HDAC стимулируют рост опухоли [79].

Перспективным направлением в лечении опухолей костей с высокими специфичностью и эффективностью является разработка малых молекул и белков с таргетными молекулами для лечения опухолей костей.

Наличие в костях таких ключевых неколлагеновых белков, как остеопонтин и костный сиалопротеин, которые обладают высоким сродством к гидроксиапатиту и участвуют в закреплении клеток и регуляции минерализации костной ткани, способствовало рассмотрению использования олигопептидов для таргетного воздействия на костную ткань. Повторяющиеся последовательности L-Asp и L-Glu в структурах этих белков обуславливают их сильное сродство к костной ткани. Пептиды Asp и Glu преимущественно связываются с поверхностью костной ткани и остеолитическими костными нишами, что обусловлено высоким уровнем кристалличности костной ткани в этих местах [80].

Большая площадь вновь резорбированных поверхностей обнаруживается как в остеолитических, так и в остеобластических метастазах. Исследователи использовали олигопептиды, содержащие 4–10 повторяющихся остатков Glu или Asp, при этом наилучшая аффинность связывания с гидроксиапатитом наблюдалась при использовании 6 или 8 дубликатов, а в качестве мощного компонента, воздействующего на костную ткань, для доставки малых молекул, белков, микроРНК и наночастиц в костную нишу — поликислотные аминокислоты [81].

В последнее десятилетие для доставки лекарств все чаще стали применяться наноносители, поскольку это способствует преодолению ограничений, присущих традиционным лекарственным формам. Нанопрепараты, воздействующие на кости, которые используют алендронат и памидронат, не обладают селективностью (действуют как на здоровую кость, так и на остеолитические поражения) из-за высокого сродства бисфосфонатов ко всем костным тканям. Многообещающей

альтернативой является дендример с карбоксильным концом, который доставляет терапевтические наночастицы в основном к остеолитическим поражениям. Его высокая плотность обеспечивает большую способность к связыванию с костью, позволяя наночастицам платины накапливаться преимущественно на остеолитических участках, а не в здоровой кости. Фототермическая терапия с использованием этого дендримера эффективно подавляет опухоли костей и остеолитическую активность с минимальной цитотоксичностью и гематологической токсичностью. Такой подход предполагает целенаправленную и эффективную стратегию лечения злокачественных опухолей костей [82].

Для лечения пациентов с кастрационно-резистентным РПЖ и симптоматическими метастазами (вторичные очаги злокачественной опухоли) в костях без других висцеральных метастазов предложено использовать радий-223 (дихлорид радия-223). Это первый в своем роде одобренный FDA терапевтический радиофармацевтический препарат, кальций-миметический агент, воздействующий на поражения костей, который разрывает порочный круг между опухолевыми клетками и микроокружением кости, улучшает показатели общей выживаемости, задерживает развитие скелетных осложнений и способствует повышению качества жизни. Радий-223 испускает α -частицы, что обуславливает его безопасность как для пациентов, так и для лиц, находящихся с ними в тесном контакте. При использовании этого препарата снижается патологический костный метаболизм и происходит облучение опухоли. Радий-223 быстро поглощается костной тканью и костными метастазами после внутривенного введения. Кроме того, способность этого препарата вызывать повреждение ДНК в опухолевых клетках дает веские основания для его потенциально синергизма с ингибиторами PARP и иммунотерапевтическими препаратами [83, 84].

Для предотвращения метастазирования в кости при кастрационно-резистентном РПЖ предложено использовать абитузумаб (abiraterone) — рекомбинантное гуманизированное моноклональное антитело к иммуноглобулину G2, нацеленное на интегрин α -V (ITGA5), являющийся субъединицей белка интегрина, трансмембранного рецептора, который, функционируя механически, облегчает адгезию клеточного цитоскелета к внеклеточному матриксу, а биохимически определяет наличие адгезии. Интегрины, содержащие α -V-субъединицу, способствуют возникновению злокачественных опухолей, таких как меланома, рак почек, колоректальный рак и РПЖ. Связывание абитузумаба с целевыми α -V-субъединицами предотвращает активацию множества сигнальных путей, способствующих росту клеток, клеточной подвижности, и снижает выживаемость опухолевых клеток, вызывает блокировку клеточного цикла, а также уменьшает рост опухоли и метастазирование. Эффективность этого препарата при колоректальном

раке и РПЖ исследовалась в клинических испытаниях [85], но он не одобрен ни в одной стране мира. В клиническом исследовании II фазы, посвященном лечению метастатического кастрационно-резистентного РПЖ, абитузумаб применялся в комбинации с антагонистом/агонистом лютеинизирующего гормона. Выявлено, что изучаемый препарат ингибирует миграцию и инвазию клеток РПЖ и снижает фосфорилирование FAK, Akt и ERK. Однако для оценки эффективности абитузумаба при РПЖ необходимы дальнейшие исследования [86].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В представленном обзоре рассмотрена многофакторная природа костного метастазирования. Выявлено, что одну из ключевых ролей при развитии солидных опухолей играет эпигенетическая регуляция. Углубленное исследование сложных механизмов инвазии опухолевых клеток в костную ткань и последующих метаболических перестроек в костном микроокружении является фундаментальной основой для поиска новых прогностических биомаркеров и разработки эффективных таргетных терапевтических стратегий.

Л и т е р а т у р а / R e f e r e n c e s

- Zhang X., Miao J., Song Y. et al. Review on effects and mechanisms of plant-derived natural products against breast cancer bone metastasis. *Heliyon* 2024;10(18):e37894. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e37894
- Yue Z., Niu X., Yuan Z. et al. RSP02 and RANKL signal through LGR4 to regulate osteoclastic premetastatic niche formation and bone metastasis. *J Clin Invest* 2022;132(2):e144579. DOI: 10.1172/JCI144579
- Springfield C., Ferrone C.R., Katz M.H.G. et al. Neoadjuvant therapy for pancreatic cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2023;20(5):318–37. DOI: 10.1038/s41571-023-00746-1
- Zöllner S.K., Amatruda J.F., Bauer S. et al. Ewing sarcoma – diagnosis, treatment, clinical challenges and future perspectives. *J Clin Med* 2021;10(8):1685. DOI: 10.3390/jcm10081685
- Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet* 1889;133(3421):571–3. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)49915-0
- Taipaleenmäki H. Secreted microRNAs in bone metastasis. *J Bone Miner Metab* 2023;41(3):358–64. DOI: 10.1007/s00774-023-01424-z
- Coleman R.E., Croucher P.I., Padhani A.R. et al. Bone metastases. *Nat Rev Dis Primer* 2020;6(1):83. DOI: 10.1038/s41572-020-00216-3
- Puppo M., Jaafar M., Diaz J.-J. et al. MiRNAs and snoRNAs in bone metastasis: functional roles and clinical potential. *Cancers* 2022;15(1):242–242. DOI: 10.3390/cancers15010242
- Sharma G., Sultana A., Abdullah K.M. et al. Epigenetic regulation of bone remodeling and bone metastasis. *Semin Cell Dev Biol* 2024;154:275–85. DOI: 10.1016/j.semcdb.2022.11.002
- Shibata H., Kato S., Sekine I. et al. Diagnosis and treatment of bone metastasis: comprehensive guideline of the Japanese Society of Medical Oncology, Japanese Orthopedic Association, Japanese Urological Association, and Japanese Society for Radiation Oncology. *ESMO Open* 2016;1(2):e000037. DOI: 10.1136/esmoopen-2016-000037
- Nishimura K. Management of bone metastasis in prostate cancer. *J Bone Miner Metab* 2023;41(3):317–26. DOI: 10.1007/s00774-023-01435-w
- Tang J., Gu Z., Yang Z. et al. Bibliometric analysis of bone metastases from lung cancer research from 2004 to 2023. *Front Oncol* 2024;14:1439209. DOI: 10.3389/fonc.2024.1439209
- Long N., Woodlock D., D'Agostino R. et al. Incidence and prevalence of bone metastases in different solid tumors determined by natural language processing of CT reports. *Cancers* 2025;17(2):218. DOI: 10.3390/cancers17020218
- Huang J.F., Shen J., Li X. et al. Incidence of patients with bone metastases at diagnosis of solid tumors in adults: a large population-based study. *Ann Transl Med* 2020;8(7):482. DOI: 10.21037/atm.2020.03.55
- Knapp B.J., Cittolin-Santos G.F., Flanagan M.E. et al. Incidence and risk factors for bone metastases at presentation in solid tumors. *Front Oncol* 2024;14:1392667. DOI: 10.3389/fonc.2024.1392667
- Nie H., Yuan Y., Li J. et al. Occurrence and distribution of bone metastases in 984 metastatic breast cancer patients. *Transl Breast Cancer Res* 2021;2. DOI: 10.21037/tbcr-20-64
- Hernandez R.K., Wade S.W., Reich A. et al. Incidence of bone metastases in patients with solid tumors: analysis of oncology electronic medical records in the United States. *BMC Cancer* 2018;18(1):44. DOI: 10.1186/s12885-017-3922-0
- Curtis E.M., Fuggle N.R., Cooper C. et al. Epigenetic regulation of bone mass. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2022;36(2):101612. DOI: 10.1016/j.beem.2021.101612
- Weivoda M.M., Bradley E.W. Macrophages and bone remodeling. *J Bone Miner Res* 2023;38(3):359–69. DOI: 10.1002/jbmr.4773
- Нуруллина Г.М., Ахмадуллина Г.И. Костное ремоделирование в норме и при первичном остеопорозе: значение маркеров костного ремоделирования. *Архив внутренней медицины* 2018;8(2):100–10. DOI: 10.20514/2226-6704-2018-8-2-100-110
- Nurullina G.M., Akhmadullina G.I. Bone remodeling in norm and in primary osteoporosis: the significance of bone remodeling markers. *Arkhiv vnutrenney meditsiny = The Russian Archives of Internal Medicine* 2018;8(2):100–10. (In Russ.). DOI: 10.20514/2226-6704-2018-8-2-100-110
- Veis D.J., O'Brien C.A. Osteoclasts, master sculptors of bone. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2023;18(1):257–81. DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-031521-040919
- Zhang Y., Liang J., Liu P. et al. The RANK/RANKL/OPG system and tumor bone metastasis: potential mechanisms and therapeutic strategies. *Front Endocrinol* 2022;13:1063815. DOI: 10.3389/fendo.2022.1063815
- Silver S.A., Adhikari N.K., Bell C.M. et al. Nephrologist follow-up versus usual care after an acute kidney injury hospitalization (FUSION): a randomized controlled trial. *Clin J Am Soc Nephrol* 2021;16(7):1005–14. DOI: 10.2215/CJN.17331120
- Майлян Э.А. Мультифакторность этиопатогенеза остеопороза и роль генов канонического WNT- сигнального пути. *Остеопороз и остеопатии* 2015;18(2):15–9. DOI: 10.14341/osteo2015215-19
- Maylyan E.A. Multifactority of etiopathogenesis of osteoporosis and the role of genes of the canonical WNT-signaling pathway. *Osteoporoz i osteopatii = Osteoporosis and Osteopathy* 2015;18(2):15–9. (In Russ.). DOI: 10.14341/osteo2015215-19
- Ben-Ghedalia-Peled N., Vago R. Wnt Signaling in the development of bone metastasis. *Cells* 2022;11(23):3934. DOI: 10.3390/cells11233934
- Герштейн Е.С., Тимофеев Ю.С., Зуев А.А. и др. Лиганд-рецепторная система RANK/RANKL/OPG и ее роль при первичных

- новообразованиях костей (анализ литературы и собственные результаты). Успехи молекулярной онкологии 2015;2(3):51–9. Gerstein E.S., Timofeev Yu.S., Zuev A.A. et al. RANK/RANKL/OPG ligand-receptor system and its role in primary bone neoplasms (literature analysis and own data). Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2015;2(3):51–9. (In Russ.).
27. Vičić I., Belev B. The pathogenesis of bone metastasis in solid tumors: a review. *Croat Med J* 2021;62(3):270–82. DOI: 10.3325/cmj.2021.62.270
 28. Pu D., Zhang H.E., Li L. Immune-related osteoblastic bone alterations mimicking bone metastasis in a small-cell lung cancer patient treated with durvalumab: a case report. *Transl Lung Cancer Res* 2024;13(8):2043–9. DOI: 10.21037/tlcr-24-461
 29. Lu K., Wang W., Liu Y. et al. Advancements in microenvironment-based therapies: transforming the landscape of multiple myeloma treatment. *Front Oncol* 2024;14:1413494. DOI: 10.3389/fonc.2024.1413494
 30. Elaasser B., Arakil N., Mohammad K.S. Bridging the gap in understanding bone metastasis: a multifaceted perspective. *Int J Mol Sci* 2024;25(5):2846. DOI: 10.3390/ijms25052846
 31. Luzzi K.J., MacDonald I.C., Schmidt E.E. et al. Multistep nature of metastatic inefficiency. *Am J Pathol* 1998;153(3):865–73. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65628-3
 32. Choi S.W., Sun A.K., Cheung J.P.-Y. et al. Circulating tumour cells in the prediction of bone metastasis. *Cancers* 2024;16(2):252. DOI: 10.3390/cancers16020252
 33. Choi S., Whitman M.A., Shimpi A.A. et al. Bone-matrix mineralization dampens integrin-mediated mechanosignalling and metastatic progression in breast cancer. *Nat Biomed Eng* 2023;7(11):1455–72. DOI: 10.1038/s41551-023-01077-3
 34. Ernst C., Wang H. Bone mineral slows down breast cancer cells. *Nat Biomed Eng* 2023;7(11):1346–7. DOI: 10.1038/s41551-023-01122-1
 35. Ялаев Б.И., Тюрин А.В., Миргалиева Р.Я. и др. Роль метилирования ДНК в нарушении костного метаболизма. Вавиловский журнал генетики и селекции 2019;23(1):67–74. DOI: 10.18699/VJ19.463
Yalaev B.I., Tyurin A.V., Mirgalieva R.Y. et al. The role of DNA methylation in bone metabolism disorders. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding* 2019;23(1):67–74 (In Russ.). DOI: 10.18699/VJ19.463
 36. Sibuh B., Quazi S., Panday H. et al. The Emerging role of epigenetics in metabolism and endocrinology. *Biology* 2023;12(2):256. DOI: 10.3390/biology12020256
 37. Yang M., Wang A., Li C. et al. Methylation-induced silencing of ALDH2 facilitates lung adenocarcinoma bone metastasis by activating the MAPK pathway. *Front Oncol* 2020;10:1141. DOI: 10.3389/fonc.2020.01141
 38. Nishikawa K., Iwamoto Y., Kobayashi Y. et al. DNA methyltransferase 3a regulates osteoclast differentiation by coupling to an S-adenosylmethionine–producing metabolic pathway. *Nat Med* 2015;21(3):281–7. DOI: 10.1038/nm.3774
 39. Scheid A.D., Beadnell T.C., Welch D.R. Roles of mitochondria in the hallmarks of metastasis. *Br J Cancer* 2021;124(1):124–35. DOI: 10.1038/s41416-020-01125-8
 40. Liu Z., Tian J., Peng F. et al. Hypermethylation of mitochondrial DNA facilitates bone metastasis of renal cell carcinoma. *J Cancer* 2022;13(1):304–12. DOI: 10.7150/jca.62278
 41. De Azevedo A.L.K., Gomig T.H.B., de Souza Fonseca Ribeiro E.M. Stress-induced phosphoprotein 1: how does this co-chaperone influence the metastasis steps? *Clin Exp Metastasis* 2024;41(5):589–97. DOI: 10.1007/s10585-024-10282-6
 42. Wang J., Zhao X., Qi J. et al. Eight proteins play critical roles in RCC with bone metastasis via mitochondrial dysfunction. *Clin Exp Metastasis* 2015;32(6):605–22. DOI: 10.1007/s10585-015-9731-4
 43. Ishikawa S., Umemura M., Nakakaji R. et al. EP4-induced mitochondrial localization and cell migration mediated by CALML6 in human oral squamous cell carcinoma. *Commun Biol* 2024;7(1):567. DOI: 10.1038/s42003-024-06231-4
 44. Liu Z., Mao H., Chu D. et al. Clinical Implications of a six-protein signature in bone metastasis of renal cell carcinoma. *J Cancer* 2024;15(10):3034–44. DOI: 10.7150/jca.88612
 45. Ma W., Yan Y., Bai S. et al. SPARC expression in tumor microenvironment induces partial epithelial to mesenchymal transition of esophageal adenocarcinoma cells via cooperating with TGFβ signaling. *Cell Biol Int* 2023;47(1):250–9. DOI: 10.1002/cbin.11927
 46. Nätkin R., Pennanen P., Syväla H. et al. Adaptive and non-adaptive gene expression responses in prostate cancer during androgen deprivation. *PLoS One* 2023;18(2):e0281645. DOI: 10.1371/journal.pone.0281645
 47. Matteucci E., Maroni P., Disanza A. et al. Coordinate regulation of microenvironmental stimuli and role of methylation in bone metastasis from breast carcinoma. *Biochim Biophys Acta* 2016;1863(1):64–76. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2015.10.010
 48. Tu C., Wei L., Wang L. et al. Eight differential miRNAs in DN identified by microarray analysis as novel biomarkers. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther* 2022;15:907–20. DOI: 10.2147/DMSO.S355783
 49. Zaib S., Rana N., Khan I. Histone modifications and their role in epigenetics of cancer. *Curr Med Chem* 2022;29(14):2399–411. DOI: 10.2174/0929867328666211108105214
 50. Edwards C.M., Johnson R.W. Targeting Histone Modifications in Bone and Lung Metastatic. *Cancers* 2021;19(3):230–46. DOI: 10.1007/s11914-021-00670-2
 51. Wang C., Zhang H., Wang X. et al. Targeting BRD4 to attenuate RANKL-induced osteoclast activation and bone erosion in rheumatoid arthritis. *Mol Cell Biochem* 2024;480(3):1669–84. DOI: 10.1007/s11010-024-05073-2
 52. Li Z., Liu P., Chen W. et al. Hypoxia-cleavable and specific targeted nanomedicine delivers epigenetic drugs for enhanced treatment of breast cancer and bone metastasis. *J Nanobiotechnology* 2023;21(1):221. DOI: 10.1186/s12951-023-01939-7
 53. Searcy M.B., Johnson R.W. Epigenetic control of the vicious cycle. *J Bone Oncol* 2024;44:100524. DOI: 10.1016/j.jbo.2024.100524
 54. Raji L., Tetteh A., Amin A.R.M.R. Role of c-Src in carcinogenesis and drug resistance. *Cancers* 2023;16(1):32. DOI: 10.3390/cancers16010032
 55. Lu Y., Chan Y.-T., Tan H.-Y. et al. Epigenetic regulation in human cancer: the potential role of epi-drug in cancer therapy. *Mol Cancer* 2020;19(1):79. DOI: 10.1186/s12943-020-01197-3
 56. Zhang W., Bado I.L., Hu J. et al. The bone microenvironment invigorates metastatic seeds for further dissemination. *Cell* 2021;184(9):2471–86.e20. DOI: 10.1016/j.cell.2021.03.011
 57. Maroni P., Gomasca M., Lombardi G. Long non-coding RNAs in bone metastasis: progresses and perspectives as potential diagnostic and prognostic biomarkers. *Front Endocrinol* 2023;14:1156494. DOI: 10.3389/fendo.2023.1156494
 58. Wang X., Gong Z., Ma L. et al. LncRNA GACAT1 induces tongue squamous cell carcinoma migration and proliferation via miR149. *J Cell Mol Med* 2021;25(17):8215–21. DOI: 10.1111/jcmm.16690
 59. Wen S., Wei Y., Zen C. et al. Long non-coding RNA NEAT1 promotes bone metastasis of prostate cancer through N6-methyladenosine. *Mol Cancer* 2020;19(1):171. DOI: 10.1186/s12943-020-01293-4
 60. Lang C., Yin C., Lin K. et al. m⁶A modification of lncRNA PCAT6 promotes bone metastasis in prostate cancer through IGF2BP2 mediated IGF1R mRNA stabilization. *Clin Transl Med* 2021;11(6):e426. DOI: 10.1002/ctm.2426
 61. Li K.X., Sun X., Li B.Y. et al. Conversion of osteoclasts into bone-protective, tumor-suppressing cells. *Cancers* 2021;13(22):5593. DOI: 10.3390/cancers13225593
 62. Bonci D., Coppola V., Patrizii M. et al. A microRNA code for prostate cancer metastasis. *Oncogene* 2016;35(9):1180–92. DOI: 10.1038/ncr.2015.176
 63. Takai M., Mori S., Honoki K. et al. Roles of lysophosphatidic acid (LPA) receptor-mediated signaling in cancer cell biology. *J Bioenerg Biomembr* 2024;56(4):475–82. DOI: 10.1007/s10863-024-10028-9

64. Liu Y., Chen H., Chen T. et al. The emerging role of osteoclasts in the treatment of bone metastases: rationale and recent clinical evidence. *Front Oncol* 2024;14:1445025. DOI: 10.3389/fonc.2024.1445025
65. Puppo M., Valluru M.K., Clézardin P. MicroRNAs and their roles in breast cancer bone metastasis. *Curr Osteoporos Rep* 2021;19(3):256–63. DOI: 10.1007/s11914-021-00677-9
66. Taipaleenmäki H., Farina N.H., van Wijnen A.J. et al. Antagonizing miR-218-5p attenuates Wnt signaling and reduces metastatic bone disease of triple negative breast cancer cells. *Oncotarget* 2016;7(48):79032–46. DOI: 10.18632/oncotarget.12593
67. Shojaei S., Moradi-Chaleshtori M., Paryan M. et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes enriched with miR-218 reduce the epithelial–mesenchymal transition and angiogenesis in triple-negative breast cancer cells. *Eur J Med Res* 2023;28(1):516. DOI: 10.1186/s40001-023-01463-2
68. Ariffin S.H.Z., Wahab R.M.A., Razak M.A. et al. Evaluation of in vitro osteoblast and osteoclast differentiation from stem cell: a systematic review of morphological assays and staining techniques. *PeerJ* 2024;12:e17790. DOI: 10.7717/peerj.17790
69. Kostenuik P.J., Nguyen H.Q., McCabe J. et al. Denosumab, a fully human monoclonal antibody to RANKL, inhibits bone resorption and increases BMD in knock-in mice that express chimeric (murine/human) RANKL. *J Bone Miner Res* 2009;24(2):182–95. DOI: 10.1359/jbmr.081112
70. Polyzos S.A., Makras P., Tournis S., Anastasilakis A.D. Off-label uses of denosumab in metabolic bone diseases. *Bone* 2019;129:115048. DOI: 10.1016/j.bone.2019.115048
71. Keizer R.J., Huitema A.D., Damen C.W. et al. The pharmacokinetics of monoclonal antibodies. *Ned Tijdschr Geneesk* 2007;151(12):683–8. (In Dutch).
72. Lu J., Hu D., Zhang Y. et al. Current comprehensive understanding of denosumab (the RANKL neutralizing antibody) in the treatment of bone metastasis of malignant tumors, including pharmacological mechanism and clinical trials. *Front Oncol* 2023;13:1133828. DOI: 10.3389/fonc.2023.1133828
73. Cheung Y.M.M., Morgans A., Hamnvik O.P.R. Bone health and denosumab discontinuation in oncology populations. *Oncologist* 2022;27(12):998–1003. DOI: 10.1093/oncolo/oyac213
74. Rodan G.A., Fleisch H.A. Bisphosphonates: mechanisms of action. *J Clin Invest* 1996;97(12):2692–6. DOI: 10.1172/JCI118722
75. Lu K.H., Lu E.W., Lin C.W. et al. New insights into molecular and cellular mechanisms of zoledronate in human osteosarcoma. *Pharmacol Ther* 2020;214:107611. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107611
76. Liu R., Li Z., Chen R. et al. EZH2 serves as a viable therapeutic target for myeloma-induced osteolytic bone destruction. *Nat Commun* 2025;16(1):1206. DOI: 10.1038/s41467-025-56506-5
77. Tang M., Gong M., Liu X. et al. Recent update on the development of EZH2 inhibitors and degraders for cancer therapy. *Eur J Med Chem* 2025;299:118106. DOI: 10.1016/j.ejmech.2025.118106
78. Verza F.A., Das U., Fachin A.L. et al. Roles of histone deacetylases and inhibitors in anticancer therapy. *Cancers (Basel)* 2020;12(6):1664. DOI: 10.3390/cancers12061664
79. Clements M.E., Holtslander L., Johnson J.R., Johnson R.W. Select HDAC inhibitors enhance osteolysis and bone metastasis outgrowth but can be mitigated with bisphosphonate therapy. *JBM Plus* 2023;7(3):e10694. DOI: 10.1002/jbm4.10694
80. Dang L., Liu J., Li F. et al. Targeted delivery systems for molecular therapy in skeletal disorders. *Int J Mol Sci* 2016;17(3):428. DOI: 10.3390/ijms17030428
81. Sekido T., Sakura N., Higashi Y. et al. Novel drug delivery system to bone using acidic oligopeptide: pharmacokinetic characteristics and pharmacological potential. *J Drug Target* 2001;9(2):111–121. DOI: 10.3109/10611860108997922
82. Yan Y., Gao X., Zhang S. et al. Carboxyl-terminated dendrimer enables osteolytic lesion targeting and photothermal ablation of malignant bone tumors. *ACS Appl Mater Interfaces* 2019;11:160–8. DOI: 10.1021/acsami.8b15827
83. Gupta N., Devgan A., Bansal I. et al. Usefulness of radium-223 in patients with bone metastases. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2017;30(4):424–6. DOI: 10.1080/08998280.2017.11930213
84. Lunan M., Raval A.D., Phan N.T. N. et al. Effectiveness and safety of radium-223 in men with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): a systematic literature review of 48 real-world studies. *J Clin Oncol* 2025;43(5):81. DOI: 10.1200/JCO.2025.43.5_suppl.81
85. Liu Z., Zhang X., Ben T. et al. Focal adhesion in the tumour metastasis: from molecular mechanisms to therapeutic targets. *Biomark Res* 2025;13(1):38. DOI: 10.1186/s40364-025-00745-7
86. Hussain M., Le Moulec S., Gimmi C. et al. Differential effect on bone lesions of targeting integrins: randomized phase II trial of abiraterone in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2016;22(13):3192–200. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2512

Вклад авторов

А.Р. Зарипова: обзор литературы по теме статьи, написание текста статьи, редактирование;

М.А. Бермишева: разработка концепции исследования, руководство исследованием, редактирование.

Authors' contributions

A.R. Zaripova: literature review on the topic of the article, article writing, editing;

M.A. Bermisheva: development of the research concept, research management, editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.Р. Зарипова / A.R. Zaripova: <https://orcid.org/0000-0001-6975-5151>

М.А. Бермишева / M.A. Bermisheva: <https://orcid.org/0000-0002-0584-3969>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was performed without external funding.

Статья поступила: 10.03.2025. Принята к публикации: 12.01.2026. Опубликовано онлайн: 16.03.2026.

Article submitted: 10.03.2025. Accepted for publication: 12.01.2026. Published online: 16.03.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-62-71>©Все права защищены
©All rights reserved

Повышенный уровень экспрессии гена *MUC16* как потенциальный прогностический и предиктивный маркер рака яичников

А.К. Нургалиева¹, К.А. Кузин², Т.И. Фетисов², Р.И. Князев², Т.А. Невзорова¹, М.Г. Якубовская^{2,3},
К.И. Кирсанов^{2,3}, Р.Г. Киямова¹

¹Научно-исследовательская лаборатория «Биомаркер», Институт фундаментальной медицины и биологии
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»; Россия, 420008 Казань, ул. Кремлевская, 18, корп. 1;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия,
115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

³ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

Контакты: Рамзия Галлямовна Киямова kiyamova@mail.ru

Введение. Развитие химиорезистентности является ключевым фактором, ограничивающим эффективность терапии рака яичников. Несмотря на то что высокий уровень экспрессии гена *MUC16* в опухоли служит неблагоприятным прогностическим фактором, его роль в предсказании ответа на различные химиотерапевтические агенты остается недостаточно изученной. Это послужило основанием для предположения, что неблагоприятная прогностическая роль уровня экспрессии данного гена может быть опосредована его вкладом в формирование химиорезистентности.

Цель исследования – оценить связь уровня экспрессии гена *MUC16* с результатами тестирования резистентности к стандартным химиопрепаратам *in vitro*, включающим карбоплатин, цисплатин и паклитаксел, а также с ключевыми клинико-патологическими характеристиками (статус мутаций в *BRCA1/2*, платиночувствительность) и выживаемостью без прогрессирования у пациенток с карциномой яичников.

Материалы и методы. В исследование включены образцы опухолей 35 пациенток со злокачественными новообразованиями яичников, преимущественно с серозной карциномой высокой степени злокачественности. Уровень экспрессии гена *MUC16* определяли методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени. Химиорезистентность опухолевых клеток оценивали *in vitro* на первичных культурах с помощью резазуринового метаболического теста с последующим расчетом индекса химиорезистентности (resistance sensitivity index, RSI) для каждого препарата. Для статистического анализа применяли корреляционный анализ Спирмена, непарметрический U-критерий Манна–Уитни и *log-rank*-тест.

Результаты. Продemonстрировано, что высокий уровень экспрессии *MUC16* ассоциирован с сокращением времени до прогрессирования заболевания ($p = 0,0437$). Выявлена статистически значимая положительная корреляция экспрессии *MUC16* с RSI к паклитакселу ($R = 0,3614$; $p = 0,0388$). При этом ассоциаций с RSI к препаратам платины обнаружено не было. Не установлено также связи экспрессии гена *MUC16* с мутациями в *BRCA1/2* ($p = 0,8180$) и платиночувствительностью/платинорезистентностью опухолей у пациенток с карциномой яичников ($p = 0,2899$).

Заключение. Высокий уровень экспрессии *MUC16* ассоциирован с сокращением времени до прогрессирования заболевания и с резистентностью к паклитакселу, что может характеризовать его как неблагоприятный прогностический и предиктивный маркер. Таким образом, определение уровня экспрессии *MUC16* до начала терапии может иметь клинический потенциал для установления прогноза заболевания и выявления пациенток, у которых применение таксанов может оказаться неэффективным.

Ключевые слова: рак яичников, *MUC16*, химиорезистентность, паклитаксел, предиктивный маркер

Для цитирования: Нургалиева А.К., Кузин К.А., Фетисов Т.И. и др. Повышенный уровень экспрессии гена *MUC16* как потенциальный прогностический и предиктивный маркер рака яичников. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(1):62–71.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-62-71>

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-86-92>

Асинхронная репликация генов *AURKA* и *TP53* у больных со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта в отдаленный период после лечения

В.В. Цепенко, Г.Ф. Михайлова, В.Н. Черкесов, А.П. Шинкаркина, В.М. Макачук, А.В. Мурзаева, С.А. Иванов

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 249031 Обнинск, ул. Маршала Жукова, 10

Контакты: Галина Федоровна Михайлова mgp@mrrc.obninsk.ru

Введение. В общей структуре онкологической заболеваемости злокачественные новообразования ободочной кишки, желудка и прямой кишки занимают лидирующие позиции. Частота встречаемости этих патологий в России составляет приблизительно 60 тыс. человек в год. В связи с этим прогнозирование возникновения рецидивов или прогрессирования опухолевого процесса после проведенного лечения на основе биологических маркеров является крайне актуальным.

Цель исследования — изучение в периферической крови доли лимфоцитов с асинхронной репликацией (ЛАР) генов *AURKA* и *TP53* у больных со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта в отдаленный период после лечения.

Материалы и методы. Асинхронность репликации генов *AURKA* и *TP53* в лимфоцитах периферической крови определена методом флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH). У пациентов со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта выполнен интерфазный FISH-анализ до лечения и в период до 5 лет после него.

Результаты. Через 1 год после проведенного лечения доля ЛАР как гена *AURKA* (34,4 % против 28,8 %), так и гена *TP53* (26,1 % против 21,0 %) значимо снизилась по сравнению с данным показателем до лечения ($p < 0,05$). У больных без прогрессирования заболевания среднegrupповое количество ЛАР обоих генов на протяжении 1–5 лет практически не менялось. У пациентов с прогрессированием заболевания среднegrupповые значения доли ЛАР обоих генов значимо превышали эти показатели в группе после лечения без прогрессирования заболевания ($p < 0,01$). У некоторых больных прогрессирование заболевания установлено через 1–13 мес после исследования ЛАР. В группе до прогрессирования заболевания уровни ЛАР генов *AURKA* и *TP53* также были выше и значимо отличались от этого показателя в группе без прогрессирования (33,8 % против 30,4 % и 25,3 % против 21,7 % соответственно) ($p < 0,05$).

Заключение. Анализ динамики доли ЛАР генов *AURKA* и *TP53* в отдаленные сроки после лечения показал, что сохраняющийся высокий уровень ЛАР обоих генов у больных может быть потенциальным индивидуальным показателем прогрессирования основного заболевания.

Ключевые слова: асинхронная репликация, ген *AURKA*, ген *TP53*, интерфазная флуоресцентная гибридизация *in situ*, рак ободочной кишки, рак желудка, рак прямой кишки

Для цитирования: Цепенко В.В., Михайлова Г.Ф., Черкесов В.Н. и др. Асинхронная репликация генов *AURKA* и *TP53* у больных со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта в отдаленный период после лечения. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(1):86–92.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-86-92>

Asynchronous replication of *AURKA* and *TP53* genes in patients with gastrointestinal tumors at the distant period after treatment

V.V. Tsepenko, G.F. Mikhaylova, V.N. Cherkesov, A.P. Shinkarkina, V.M. Makarchuk, A.V. Murzaeva, S.A. Ivanov

A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Centre, Ministry of Health of Russia; 10 Marshala Zhukova St., Obninsk 249031, Russia

Contacts: Galina Fedorovna Mikhaylova mgp@mrrc.obninsk.ru

Introduction. Malignant neoplasms of the transverse colon, stomach and rectum are some of the most common oncological diseases. In Russia, their incidence is about 60,000 cases a year. Therefore, prediction of tumor recurrence or progression after treatment using biological markers is very important.

Aim. To study percentage of lymphocytes with asynchronous DNA replication (LAR) of the *AURKA* and *TP53* genes in the peripheral blood of patients with malignant neoplasms of the gastrointestinal tract after treatment.

Materials and methods. Asynchronicity of the *AURKA* and *TP53* genes in peripheral lymphocytes was measured using fluorescent *in situ* hybridization (FISH). In patients with malignant neoplasms of the gastrointestinal tract, interphase FISH analysis was performed prior to treatment and during the 5-year period after treatment.

Results. One year after treatment, percentage of LAR of both *AURKA* (34.4 % versus 28.8 %) and *TP53* (26.1 % versus 21.0 %) genes significantly decreased compared to the values prior to treatment ($p < 0.05$). In patients without disease progression, mean group amount of LAR of both genes did not change in the 1–5-year period. In patients with disease progression, mean group values of LAR percentage of both genes were significantly higher than in the group without progression post-treatment ($p < 0.01$). In some patients, disease progression was diagnosed 1–13 months after LAR study. In the group before progression, LAR of *AURKA* and *TP53* genes were also higher and differed from the value in the progression-free group (33.8 % versus 30.4 % and 25.3 % versus 21.7 %, respectively) ($p < 0.05$).

Conclusion. Analysis of LAR dynamics of the *AURKA* and *TP53* genes in the long-term period after treatment showed that persistent high LAR levels of both genes can serve as a potential individual markers of disease progression.

Keywords: asynchronous replication, *AURKA* gene, *TP53* gene, interphase fluorescent *in situ* hybridization, transverse colon cancer, gastric cancer, rectal cancer

For citation: Tsepenko V.V., Mikhaylova G.F., Cherkesov V.N. et al. Asynchronous replication of *AURKA* and *TP53* genes in patients with gastrointestinal tumors at the distant period after treatment. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2026;13(1):86–92.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-86-92>

ВВЕДЕНИЕ

В общей структуре онкологической заболеваемости злокачественные новообразования (ЗНО) ободочной кишки, желудка и прямой кишки занимают лидирующие позиции — они встречаются в 5,6–7,1 % случаев [1]. В сумме заболеваемость этими видами рака в России составляет приблизительно 60 тыс. человек в год, а общая 5-летняя выживаемость пациентов с отдаленными метастазами не превышает 30 %. В связи с этим прогнозирование развития рецидивов или прогрессирования опухолевого процесса после проведенного лечения на основе биологических маркеров является крайне актуальным.

Злокачественная трансформация клеток является сложным процессом, включающим ряд структурных и функциональных изменений в геноме клетки, что приводит к мутациям ДНК, гиперэкспрессии генов, аномальному метилированию и асинхронной репликации генов. Показано, что сбой во времени репликации, в том числе асинхронная репликация, является одним из ключевых событий в развитии опухоли [2]. Ранее в наших работах показано, что у здоровых лиц доля лимфоцитов с асинхронной репликацией (ЛАР) гена *AURKA* равна $22,0 \pm 0,4$ %, гена *TP53* — $18,0 \pm 0,4$ %. У онкологических больных уровни ЛАР генов *AURKA* и *TP53* составляют $36,8 \pm 0,3$ и $28,4 \pm 0,5$ % соответственно, у больных с полинеоплазиями, имевших рак желудка и вторые синхронные или метакронные опухоли, — $39,3 \pm 0,6$ и $32,3 \pm 0,6$ % соответственно [3, 4]. Таким образом, установлено, что с развитием опухолевого процесса доля ЛАР возрастает.

Цель исследования — изучение в периферической крови доли ЛАР генов *AURKA* и *TP53* у больных с ЗНО желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в отдаленный период после лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пациенты. В исследование включены клинически здоровые доноры и пациенты с различными неонкологическими заболеваниями в анамнезе (гастрит, панкреатит, хронический калькулезный холецистит, язвенная болезнь желудка, паховая грыжа, аденома прямой кишки) (контрольная группа), а также больные с ЗНО ЖКТ до лечения и после терапии (табл. 1).

При взятии образцов всем здоровым донорам и пациентам без онкологической патологии дана подробная информация о проводимом исследовании.

Для определения асинхронной репликации в лимфоцитах периферической крови онкологических больных выбраны ген-супрессор *TP53* и протоонкоген *AURKA*. Обоснование выбора генов, метод их исследования и анализ препаратов описаны в опубликованной ранее работе [4].

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку данных выполняли с помощью стандартных методов статистического анализа с использованием программ SPSS Statistics v.23 и Microsoft Office Excel 2007. Полученные данные объединены в вариационные ряды, для которых рассчитывали среднее арифметическое (M), ошибку среднего (m) и стандартное отклонение. Проверку распределения на нормальность осуществляли с помощью одновыборочного

Таблица 1. Исследованные группы больных и контрольная группа (лица без злокачественной патологии)
Table 1. Studied groups of patients and the control group without malignant pathology

Группа Group	Число пациентов (мужчины/женщины), <i>n</i> Number of patients (male/female), <i>n</i>	Возраст, min–max, лет Age, min–max, year	Средний возраст, лет Average age, year
Контрольная Control	77 (33/44)	20–79	43
ЗНО желудочно-кишечного тракта до лечения Gastrointestinal tumors before treatment	95 (50/45)	31–88	63
ЗНО желудка после лечения Stomach cancer after treatment	26 (16/10)	34–76	65
ЗНО ободочной кишки после лечения Colon tumors after treatment	29 (9/20)	46–86	64
ЗНО прямой кишки после лечения Colorectal tumors after treatment	42 (23/19)	39–79	61

Примечание. ЗНО – злокачественные новообразования.

критерия Колмогорова–Смирнова. Совокупности были однородными. Данные представлены как $M \pm m$.

Оценку значимости различий среднегрупповых показателей проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа и двустороннего *t*-критерия Стьюдента с поправкой Ньюмана–Келса для множественных сравнений. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Частота встречаемости ЛАР генов *AURKA* и *TP53* у больных с ЗНО ЖКТ в отдаленный период после лечения приведены в табл. 2 и на рис. 1, 2. Согласно

представленным в них данным, среднегрупповая величина ЛАР гена *AURKA* ($28,8 \pm 0,9 \%$) через 1 год после лечения значимо снизилась ($p = 9,6 \times 10^{-8}$) по сравнению со среднегрупповым количеством ЛАР до лечения ($34,4 \pm 0,3 \%$), но осталась значимо выше этого показателя в контрольной группе ($21,8 \pm 0,4 \%$) ($p = 1,1 \times 10^{-8}$). Аналогичная закономерность наблюдалась и для гена *TP53*: $21,0 \pm 1,1$; $26,1 \pm 0,5$ и $17,2 \pm 0,4 \%$ соответственно.

Дальнейшее наблюдение частоты встречаемости ЛАР исследованных генов показало, что среднегрупповые уровни ЛАР на протяжении 1–5 лет практически не изменялись (см. рис. 1 и 2).

Таблица 2. Доля лимфоцитов с асинхронной репликацией (ЛАР) генов *AURKA* и *TP53* у онкологических пациентов до лечения и в различные сроки после проведенного лечения
Table 2. Percentage of lymphocytes with asynchronous replication (LAR) of the *AURKA* and *TP53* genes in oncological patients before treatment and at various times after treatment

Группа Group	Число обследованных лиц, <i>n</i> Number of observed persons, <i>n</i>	Количество проанализированных клеток, <i>n</i> Number of analyzed cells, <i>n</i>	ЛАР, min–max, % LAR value, min–max, %	σ
Ген <i>AURKA</i> <i>AURKA</i> gene				
Контрольная Control	73	24 184	13,7–27,7	3,3
До лечения Before treatment	95	28 208	28,6–44,3	3,0
1 год после лечения 1 year after treatment	19	5690	22,0–36,3	4,0
2 года после лечения 2 year after treatment	27	8059	20,3–42,0	5,4

Окончание табл. 2
End of table 2

Группа Group	Число обследованных лиц, <i>n</i> Number of observed persons, <i>n</i>	Количество проанализированных клеток, <i>n</i> Number of analyzed cells, <i>n</i>	ЛАР, min–max, % LAR value, min–max, %	σ
3 года после лечения 3 year after treatment	21	6581	25,7–36,7	2,9
4–5 лет после лечения 4–5 year after treatment	17	5092	24,0–36,7	4,4
>5 лет после лечения >5 year after treatment	14	4200	24,7–37,3	4,4
Ген <i>TP53</i> <i>TP53</i> gene				
Контрольная Control	73	24 176	9,7–25,3	3,5
До лечения Before treatment	71	20 967	18,3–38,9	4,2
1 год после лечения 1 year after treatment	19	5687	11,7–30,4	5,0
2 года после лечения 2 year after treatment	27	8029	13,77–33,3	5,6
3 года после лечения 3 year after treatment	21	6210	13,97–29,4	4,7
4–5 лет после лечения 4–5 year after treatment	17	5038	16,37–30,4	4,2
>5 лет после лечения >5 year after treatment	14	4079	12,07–30,7	5,6

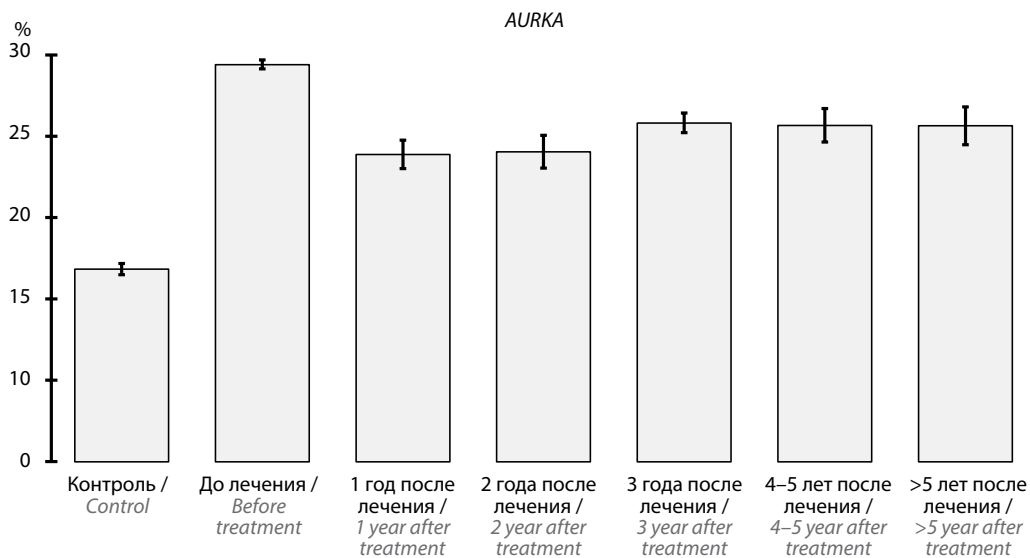


Рис. 1. Результаты сравнения среднегрупповых значений ($M \pm m$) лимфоцитов с асинхронной репликацией гена *AURKA* в группах контроля, больных до и после лечения
Fig. 1. Results of comparison of mean group values ($M \pm m$) of lymphocytes with asynchronous replication of the *AURKA* gene in the control group, groups of patients before and after treatment

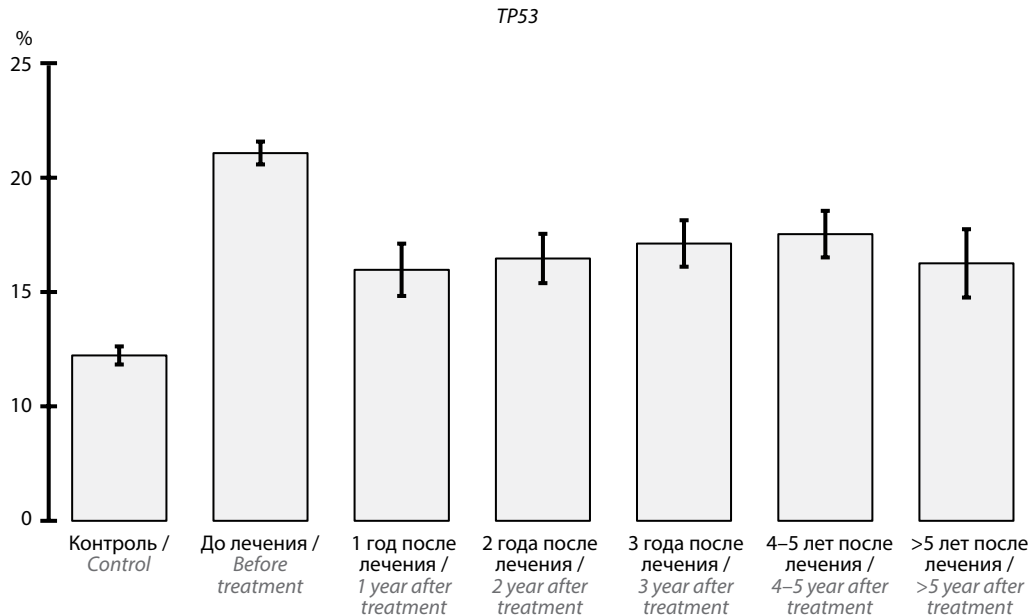


Рис. 2. Результаты сравнения среднегрупповых значений ($M \pm m$) лимфоцитов с асинхронной репликацией гена *TP53* в группах контроля, больных до лечения и после лечения
Fig. 2. Results of comparison of mean group values ($M \pm m$) of lymphocytes with asynchronous replication of the *TP53* gene in the control group, groups of patients before and after treatment

В табл. 3 и на рис. 3 представлены среднегрупповые величины ЛАР генов *AURKA* и *TP53* в группах пациентов с ЗНО ЖКТ в отдаленные сроки после лечения онкологического заболевания в зависимости от исхода: отсутствие прогрессирования (группа без прогрессирования), прогрессирование заболевания на момент исследования ЛАР (группа прогрессирования), прогрессирование заболевания спустя некоторое время (от 1 до 13 мес) после

исследования частоты ЛАР генов (группа перед прогрессированием). Согласно результатам проведенного анализа установлено, что в этих группах все среднегрупповые показатели частоты ЛАР исследованных генов оказались значимо выше контрольных величин ($p < 0,01$). Также наблюдались значимые различия в среднегрупповых значениях ЛАР обоих генов у пациентов с разными исходами ($p < 0,05$) (рис. 3).

Таблица 3. Доля лимфоцитов с асинхронной репликацией (ЛАР) генов *AURKA* и *TP53* у онкологических больных в зависимости от исхода после лечения
Table 3. Percentage of lymphocytes with asynchronous replication (LAR) of the *AURKA* and *TP53* genes in oncological patients depending on the treatment outcome

Группа Group	Число обследованных лиц, <i>n</i> Number of observed persons, <i>n</i>	Количество проанализированных клеток, <i>n</i> Number of analyzed cells, <i>n</i>	ЛАР, min–max, % LAR value, min–max, %	σ
Ген <i>AURKA</i> <i>AURKA</i> gene				
Без прогрессирования Without progression	81	29 922	20,3–42,0	4,3
Перед прогрессированием Before progression	13	3883	21,7–40,0	4,8
Прогрессирования Progression	14	4188	31,3–49,5	4,4
Ген <i>TP53</i> <i>TP53</i> gene				
Без прогрессирования Without progression	81	29 342	11,7–33,3	5,0
Перед прогрессированием Before progression	13	3814	17,6–34,1	4,4
Прогрессирования Progression	14	4150	25,3–39,4	4,0

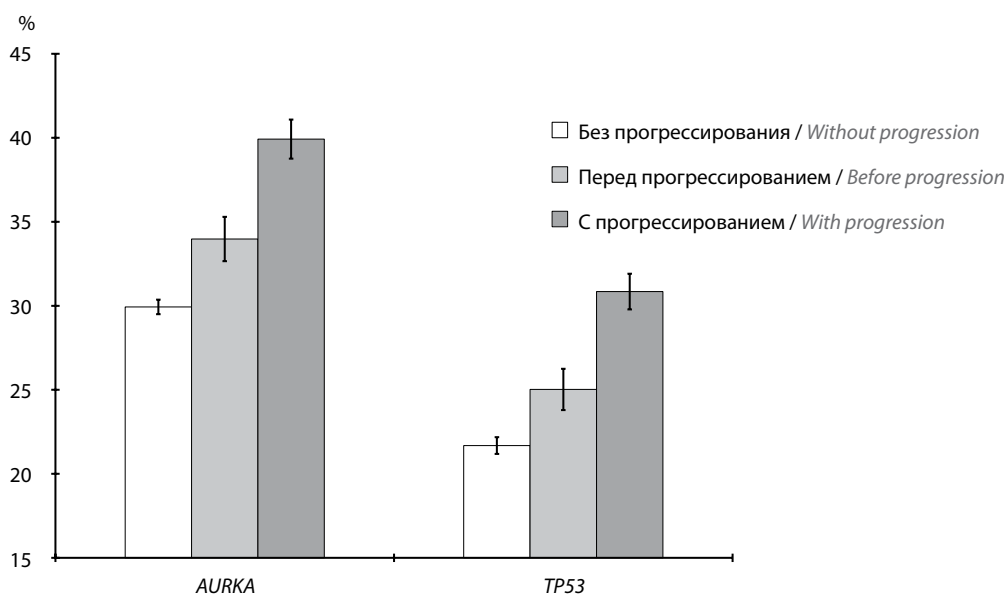


Рис. 3. Результаты сравнения среднегрупповых значений ($M \pm m$) лимфоцитов с асинхронной репликацией генов *AURKA* и *TP53* в группах больных в зависимости от исхода (без прогрессирования, перед прогрессированием и прогрессирование заболевания)

Fig. 3. Results of comparison of mean group values ($M \pm m$) of lymphocytes with asynchronous replication of the *AURKA* and *TP53* genes in patient groups depending on the outcome (no progression, before progression, and progression)

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследований, посвященных изучению встречаемости ЛАР биаллельно экспрессирующих генов в периферической крови онкологических больных сразу после лечения, крайне мало, а в отдаленные сроки после терапии они не проводились. В нашем обзоре показано, что есть только 2 работы, посвященные оценке снижения частоты ЛАР у пациентов в результате лечения [5]. А. Amiel и соавт. продемонстрировали, что у больных полицитемией и эссенциальной тромбоцитемией частота встречаемости ЛАР генов *RBI*, *HER-2/neu* до и после терапии составила 21 и 16 % соответственно, а частота встречаемости ЛАР гена *C-MYC* в результате терапии не изменилась [6]. А. Nagler и соавт. установили, что уровень ЛАР генов *TP53* и *AML1* у пациентов с онкогематологическими заболеваниями после аллогенной трансплантации костного мозга снизился с 38 до 21 %, т. е. до контрольного уровня [7].

В ходе нашего исследования среднегрупповых показателей у больных ЗНО ЖКТ без прогрессирования заболевания также выявлены снижение частоты встречаемости ЛАР генов *AURKA* и *TP53* в период до 1 года после лечения и сохранение этого показателя на протяжении более 5 лет (не до контрольного уровня, однако значительно ниже по сравнению с группой больных до лечения). Также установлено, что после терапии у 25 % пациентов для гена *AURKA* и у 43 % пациентов для гена *TP53* индивидуальные показатели частоты встречаемости ЛАР значительно снижаются до контрольного уровня. Однако у части больных на протяжении всего срока исследования они сохранялись высокими и были сравнимы с уровнем до лечения по одному или обоим генам. Как продемонстрировали дальнейшие наблюдения, у некоторых из таких пациентов ($n = 13$)

диагностировано прогрессирование заболевания через определенный промежуток времени (1–13 мес) после изучения частоты встречаемости ЛАР. Также проведено исследование уровня ЛАР в группе пациентов ($n = 14$), у которых на момент выполнения флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) ЛАР генов установлено прогрессирование заболевания (метастазы, вторая опухоль и пр.). В этой группе частота встречаемости ЛАР значимо не отличалась от уровня, наблюдаемого до лечения.

Можно предположить, что пациенты с высокими уровнями ЛАР спустя длительное время после проведенного лечения имеют повышенную нестабильность генома, в результате которой увеличивается риск возникновения рецидивов, прогрессирования заболевания или появления второй опухоли, что требует дальнейшего пристального наблюдения за ними и проведения контрольных обследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования продемонстрировали, что сохранение высокой частоты встречаемости ЛАР генов *AURKA* и *TP53* у пациентов с ЗНО ЖКТ в отдаленные периоды после лечения может быть потенциальным индивидуальным показателем прогрессирования основного заболевания. Полученные данные могут служить основой для раннего выявления прогрессирования заболевания у конкретного больного в отдаленные периоды после терапии. Для подтверждения этого требуются большее число обследованных пациентов, сопоставление полученных результатов FISH-анализа с клиническими данными, а также изучение индивидуальной динамики частоты встречаемости ЛАР после лечения.

Л и т е р а т у р а / R e f e r e n c e s

1. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. 276 с. Malignant neoplasms in Russia in 2023 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMITS radiologii” Minzdrava Rossii, 2024. 276 p. (In Russ.).
2. Blumenfeld B., Ben-Zimra M., Simon I. Perturbations in the replication program contribute to genomic instability in cancer. *Int J Mol Sci* 2017;18(6):1138. DOI: 10.3390/ijms18061138
3. Tsepenko V.V., Shkavrova T.G., Cherkosov V.N. et al. Asynchronous DNA replication of biallelically expressed genes in human peripheral blood lymphocytes as a prognostic sign of cancer. *Sovrem Tekhnologii Med* 2021;13(3):33–40. DOI: 10.17691/stm2021.13.3.04
4. Цепенко В.В., Михайлова Г.Ф., Шкаврова Т.Г. и др. Асинхронная репликация генов *AURKA* и *TP53* у больных солитарным раком желудка и больных с полинеоплазиями. *Успехи молекулярной онкологии* 2019;6(2):42–7. DOI: 10.17650/2313-805X-2019-6-2-42-47 Tsepenko V.V., Mikhaylova G.F., Shkavrova T.G. et al. Asynchronous replication of *AURKA* and *TP53* genes in gastric cancer patients and patients with multiple tumors. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2019;6(2):42–7. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2019-6-2-42-47
5. Михайлова Г.Ф., Цепенко В.В., Шкаврова Т.Г., Голуб Е.В. Асинхронная репликация у онкологических больных. *Успехи молекулярной онкологии* 2018;5(1):26–34. DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-1-26-34 Mikhaylova G.F., Tsepenko V.V., Shkavrova T.G., Goloub E.V. Asynchronous replication in oncological patients. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2018;5(1):26–34. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-1-26-34
6. Amiel A., Elis A., Maimon O. et al. Replication status in leukocytes of treated and untreated patients with polycythemia vera and essential thrombocytosis. *Cancer Genet Cytogenet* 2002;133(1):34–8. DOI: 10.1016/S0165-4608(01)00560-X
7. Nagler A., Cytron S., Mashevich M. et al. The aberrant asynchronous replication – characterizing lymphocytes of cancer patients – is erased following stem cell transplantation. *BMC Cancer* 2010;10(1):230. DOI: 10.1186/1471-2407-10-230

Вклад авторов

В.В. Цепенко: подготовка и цитогенетический анализ препаратов, статистическая обработка данных, написание текста статьи;
 Г.Ф. Михайлова: разработка концепции и дизайна исследования, интерпретация данных, написание текста статьи;
 В.Н. Черкесов: формирование групп пациентов, обследованных в отдаленные периоды после лечения;
 А.П. Шинкаркина: формирование контрольной группы;
 В.М. Макачук, А.В. Мурзаева: цитогенетический анализ препаратов;
 С.А. Иванов: участие в окончательном утверждении версии статьи.

Authors' contributions

V.V. Tsepenko: preparation of blood samples and cytogenetic analysis, statistical data processing, article writing;
 G.F. Mikhaylova: development of the research concept and design, interpretation of data, article writing;
 V.N. Cherkosov: formation of groups of patients examined in the distant period after treatment;
 A.P. Shinkarkina: formation of a control group;
 V.M. Makarchuk, A.V. Murzaeva: cytogenetic analysis;
 S.A. Ivanov: final editing and correction the final version of article.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.В. Цепенко / V.V. Tsepenko: <https://orcid.org/0000-0002-5278-0809>
 Г.Ф. Михайлова / G.F. Mikhaylova: <https://orcid.org/0000-0003-4158-0147>
 А.П. Шинкаркина / A.P. Shinkarkina: <https://orcid.org/0000-0002-7808-6508>
 В.М. Макачук / V.M. Makarchuk: <https://orcid.org/0000-0001-6066-1415>
 А.В. Мурзаева / A.V. Murzaeva: <https://orcid.org/0009-0002-5770-4669>
 С.А. Иванов / S.A. Ivanov: <https://orcid.org/0000-0001-7689-6032>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен этическим комитетом Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании и публикацию своих данных.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study was approved by the ethics committee of A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Centre, Ministry of Health of Russia.

All patients signed an informed consent to participate in the study and the publication of their data.

Статья поступила: 21.08.2025. **Принята к публикации:** 16.02.2026. **Опубликована онлайн:** 16.03.2026.

Article submitted: 21.08.2025. **Accepted for publication:** 16.02.2026. **Published online:** 16.03.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-93-102>

Enzyme-enhanced immunocytochemical detection of cytoplasmic proteins in human leukocytes sorted by surface antigens using anti-CD antibody microarray

O.S. Fedyanina¹⁻³, A.O. Zakirova^{1,2}, A.I. Khamidullina^{4,5}, A.N. Khvastunova^{1,2}, I.V. Grebennik^{1,2}, A.V. Filatov⁶, S.A. Kuznetsova^{1,2}

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia; 1 Samory Mashela St., 117198 Moscow, Russia;

²Centre for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences; 30 Srednyaya Kalitnikovskaya St., Moscow 109029, Russia;

³N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences; 47 Leninsky Prospekt, Moscow 119991, Russia;

⁴Laboratory of Molecular Oncobiology, Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences; 34/5 Vavilova St., Moscow 119334, Russia;

⁵Ufa Institute of Chemistry, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences; 71 Oktyabrya Prospekt, Ufa 450054, Russia;

⁶Institute of Immunology, Federal Medical and Biological Agency of Russia; Bld. 2, 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Contacts: Sofya Alekseevna Kuznetsova kuznetsova.sonya@gmail.com

Anti-cluster-of-differentiation (anti-CD) antibody microarray is an attractive multiplex analogue to leukocyte immunocytochemistry for surface markers. The transparent plastic microarray support permits to sort leukocytes by their surface lineage-specific markers making them available for subsequent high-resolution morphology examination. The combined data on the pathologic cells' immunophenotype, morphology and cytochemistry from the microarray is sufficient to suggest preliminary diagnosis in many leukemia types. However, in some cases additional staining for internal markers is required, i.e. in T cell acute leukemia the T cell origin of the blasts can only be proved by the presence of cytoplasmic CD3 (cytCD3). Here we describe a new protocol of immunocytochemical detection of internal proteins in mononuclear cells captured by mouse anti-CD antibodies on the microarray surface. The protocol uses primary mouse FITC-conjugated (FITC – fluorescein isothiocyanate) antibodies against the target, secondary anti-FITC antibodies conjugated with alkaline phosphatase and colorimetric alkaline phosphatase substrate, BCIP/NBT. We show on normal leukocytes and leukemic cell lines that the protocol is sensitive and specific. The percentages of cytCD3-positive cells determined by this method in bone marrow aspirates of two patients with T cell acute lymphoblastic leukemia are in excellent agreement with flow cytometry results. This method expands the diagnostic capabilities of anti-CD antibody microarray.

Keywords: anti-CD antibody microarray, T cell acute lymphoblastic leukemia, Jurkat cell line, CD3

For citation: Fedyanina O.S., Zakirova A.O., Khamidullina A.I. et al. Enzyme-enhanced immunocytochemical detection of cytoplasmic proteins in human leukocytes sorted by surface antigens using anti-CD antibody microarray. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2026;13(1):93–102.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-93-102>

Иммуноцитохимическая детекция внутриклеточных белков в лейкоцитах человека, рассортированных по поверхностным антигенам с помощью клеточного биочипа

О.С. Федянина¹⁻³, А.О. Закирова^{1,2}, А.И. Хамидуллина^{4,5}, А.Н. Хвастунова^{1,2}, И.В. Гребенник^{1,2}, А.В. Филатов⁶, С.А. Кузнецова^{1,2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117198 Москва, ул. Саморы Машела, 1;

²ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук»; Россия, 109029 Москва, ул. Средняя Калитниковская, 30;

³ФГБУН «Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского Российской академии наук»; Россия, 119991 Москва, Ленинский пр-кт, 47;

⁴Лаборатория молекулярной онкобиологии ФГБУН «Институт биологии гена Российской академии наук»; Россия, 119334 Москва, ул. Вавилова, 34/5;

⁵Уфимский институт химии, ФГБНУ «Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»; Россия, 450054 Уфа, пр-кт Октября, 71;
⁶ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России»; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, корп. 2

Контакты: Софья Алексеевна Кузнецова kuznetsova.sonya@gmail.com

Клеточный биочип – привлекательный аналог многоцветной иммуноцитохимии для определения поверхностных CD-антигенов лейкоцитов. Прозрачный пластиковый биочип позволяет сортировать лейкоциты по их поверхностным детерминантам для последующего морфологического исследования с высоким разрешением. Комбинации данных об иммунофенотипе, морфологических и цитохимических особенностях патологических клеток, полученных с помощью клеточного биочипа, достаточно для установления предварительного диагноза при многих типах лейкозов. Однако в некоторых случаях для этого необходимо определение цитоплазматических маркеров. Например, в случаях Т-клеточных лейкозов Т-клеточная природа бластов должна быть подтверждена наличием цитоплазматического CD3 (cytCD3).

В статье представлен новый протокол иммуноцитохимической детекции внутриклеточных белков в мононуклеарных клетках, связавшихся с мышиными anti-CD-антителами на клеточном биочипе. В нем использованы первичные мышиные FITC-конъюгированные (FITC – флуоресцеин изотиоцианат) антитела к цитоплазматическим белкам-мишеням, вторичные anti-FITC-антитела, конъюгированные с щелочной фосфатазой, и колометрический субстрат BCIP/NBT для щелочной фосфатазы. На лейкоцитах здоровых доноров и лейкозных клеточных линиях мы показали, что протокол является довольно чувствительным и специфичным. Процент cytCD3-положительных клеток, определенный описанным методом в аспиратах костного мозга 2 пациентов с Т-клеточным острым лимфобластным лейкозом, подтверждается результатами проточной цитометрии. Данный метод расширяет диагностические возможности клеточного биочипа.

Ключевые слова: клеточный биочип, Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз, клеточная линия Jurkat, CD3

Для цитирования: Федянина О.С., Закирова А.О., Хамидуллина А.И. и др. Иммуноцитохимическая детекция внутриклеточных белков в лейкоцитах человека, рассортированных по поверхностным антигенам с помощью клеточного биочипа. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(1):93–102. (На англ.).
 DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-93-102>

INTRODUCTION

Acute leukemia diagnosis is based on the detection of malignant leukocyte precursors (blast cells) in patient's bone marrow and definition of their lineage. The blast presence is usually independently verified by morphology in bone marrow aspirate films and by flow cytometry, while their lineage is usually determined either by cytochemistry [1] or by flow cytometry based on the expression of lineage-specific surface of cytoplasmic cluster-of-differentiation (CD) antigens and other markers [2]. Blast cell lineage determination in acute leukemias is not always straightforward as leukemic cells often aberrantly express surface markers normally restricted to another lineage [3, 4]. Current World Health Organization classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues [2] suggests the presence of myeloperoxidase or at least two monocyte-specific markers (CD11c, CD14, CD64, non-specific esterase or lysozyme) as a proof of myeloid blast origin, the presence of CD19 and at least one B cell marker, CD79a, CD10 and cytoplasmic CD22 (at least two if CD19 expression is weak), as a proof of B cell blast origin while only cytoplasmic CD3 (cytCD3) can be used as a reliable T cell marker [2].

Earlier we have developed a new diagnostic method for leukemias and lymphomas with leukemization using an anti-CD antibody microarray on a transparent support for leukocyte sorting and subsequent high-resolution morphology analysis [5–10]. The mononuclear fraction of peripheral blood or bone marrow aspirate is incubated

with monoclonal mouse immunoglobulins G (IgG) against main lineage-specific diagnostically relevant CD antigens including positive and negative controls (anti-CD45 and isotype control) immobilized on the microarray. After incubation and washing the antibody spots on the microarray are filled with specifically bound cells. The microarray with captured cells is then dried and stained after May–Grünwald–Giemsa. The microarray permits to determine the set of CD antigens present on the surface of cells with certain morphology (i. e. leukemic blasts) by analysing the percentage of these cells among the leukocytes captured by different anti-CD antibodies [6–10]; in this way, it combines the analysis of the pathologic cells' immunophenotype, morphology and cytochemistry. This makes the anti-CD antibody microarray a unique diagnostic instrument for diagnosis of many leukemia types, including acute leukemia, in resource-poor setting [6–10]. However, while myeloid or B-cell origin of the blasts can be verified for the anti-CD microarray-bound cells by the fact of the blast capture by a certain anti-CD antibody or by cytochemical reaction for myeloperoxidase or nonspecific esterase [6–8], the confirmation of acute T-lymphoblastic leukemia (T-ALL) cannot be performed without immunocytochemical staining of microarray-bound cells for intracellular CD3.

Here we describe a method for enzymatic immunocytochemical method for staining microarray-bound cells for cytoplasmic markers. As the widest variety of commercially available anti-CD antibodies are produced

in mouse, both the capturing antibodies on the microarray and primary antibody for immunocytochemistry come from the same species and enzyme-linked anti-species secondary antibodies cannot be used for signal enhancement. Using FITC-labeled (FITC – fluorescein isothiocyanate) mouse anti-human primary antibodies and secondary anti-FITC antibodies conjugated with alkaline phosphatase (AP) we demonstrate stable and specific enzyme-linked immunocytochemical detection of cytoplasmic markers in leukocytes, captured on anti-CD antibody microarray. The results can be visualized with simple bright field microscopy and the microarray with stained cells can be stored for reexamination without signal loss.

MATERIALS AND METHODS

Patients. This study used a sample of venous blood from three healthy volunteers (two females, 37 and 42 y.o. and one 27 y.o. male) and bone marrow aspirate from two patients of Dmitry Rogachev National Medical Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, one with suspected T-ALL and one with suspected T-cell lymphoblastic lymphoma. Informed consent was obtained from all participants or their legal representatives after the nature and possible consequences of the study had been fully explained.

Cell line. Jurkat cell line (clone J.RT3-T3.5) was grown in RPMI 1640 medium (300 µg/mL L-glutamine, 25 mM HEPES, 25 mM NaHCO₃, 20 µg/mL gentamicin, 10 % fetal calf serum (FCS) at 37 °C at 5 % CO₂. The cell lines were reseeded every 3 days at the concentration of 5×10^5 cells per 25 cm² area culture flask. A log-phase growing culture was fixed in 1 % formaldehyde for 1 h at room temperature, washed with phosphate buffered saline (PBS), treated with 100 mM glycine for 1 min, washed with PBS and stained with anti-CD3-FITC (BD Biosciences, San Jose, CA, USA).

Manufacturing of anti-CD antibody microarrays. Microarrays were made according to the protocol described before [6, 10]. Antibodies to CD2, CD3, CD5, CD7, CD8, CD10, CD16, CD19, CD38, CD45, HLA-DR (Sorbent LTD, Moscow, Russia) [11] and to CD4, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD33, CD41a, CD61, CD45RA, CD45RO, CD64, CD117, CD123 (eBioscience, Waltham, MA, USA) were spotted on the microarrays.

Leukocyte sorting and analysis using anti-CD antibody microarray. Mononuclear cell fractions from venous blood (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) or bone marrow aspirate taken on EDTA were isolated by density gradient centrifugation on Histopaque-1077 (Sigma, St. Louis, MO, USA) according to manufacturers' instructions. The mononuclear leukocyte fraction or harvested cells of the leukemic cell line was then incubated with anti-CD antibody microarray at 4°C for 1 hour as described by A.N. Khvastunova et al. [6] with minor modifications (isolated mononuclear cells were incubated with anti-CD antibody microarray in 100 % FCS (Sigma, St. Louis, MO, USA)). The microarray was then washed

in PBS containing 1 % bovine serum albumin (BSA) to eliminate the unbound cells, covered with a small volume of FCS and dried in a cytocentrifuge by rotating around the axis normal to its surface at 5000–6000 rpm. The microarray-captured cells were then either stained after May–Grünwald–Giemsa for morphology examination and studied at $\times 1000$ magnification using Nikon Eclipse Ni microscope equipped with Nikon DS-Ri1 camera (Nikon, Amstelveen, Netherlands) or permeabilised and stained for intracellular proteins as described below.

Staining microarray-captured leukocytes for cytoplasmic and intranuclear proteins. Microarray-captured leukocytes after the drying step were fixed and permeabilised in 10 % formalin in ethanol for 10, 30 s or 5 min. Longer permeabilisation time was not necessary as the staining results for 10, 30 s and 5 min fixation did not differ (table 1). To stain for intranuclear protein Ki-67 microarray-captured Jurkat cells were fixed and permeabilised in 70 % ethanol at –20 °C for at least 2 h. After washing in PBS, the microarray-captured cells were incubated for 30 min at room temperature in 1 % BSA on PBS to reduce non-specific binding, then stained for 30 min at room temperature with anti-CD3-FITC, anti-CD22-FITC or anti-Ki-67-FITC (UCHT1, Dako, Glostrup, Denmark) diluted 80 times in PBS with 1 % BSA, washed and analysed using confocal Axio Observer.Z1 microscope (Carl Zeiss, Jena, Germany). To enhance the signal, microarray with bound cells was further incubated for 30 min at room temperature with F(ab') fragment of rabbit anti-FITC-AP conjugated secondary antibodies (PNA ISH Detection Kit, Dako, Glostrup, Denmark), washed with PBS, and then incubated for 30–45 min with the BCIP/NBT substrate (PNA ISH Detection Kit, Dako, Glostrup, Denmark) of AP, washed in running water, and imaged under

Table 1. The percentage of anti-CD45RA-captured peripheral blood mononuclear cells from the same donor staining positive for CD3 according to the protocol with enzyme-linked enhancement for different fixation time, average $\pm$ standard deviation, %

Таблица 1. Доля CD3+-клеток среди мононуклеарных клеток периферической крови одного донора, связавшихся на биочипе с анти-CD45RA в зависимости от времени фиксации, среднее $\pm$ стандартное отклонение, %

Fixation time, s Время фиксации, с	Number of CD3+ cells Количество CD3+-клеток
10	66
15	78
30	84
300	67

Note. Average $\pm$ standard deviation for different fixation time is 74 ± 9 %.

Примечание. Среднее $\pm$ стандартное отклонение при разном времени фиксации составило 74 ± 9 %.

Nikon Eclipse Ni microscope using 100× and 40× objectives and Nikon DS-Ri1 camera. For negative controls the primary anti-CD3-FITC, anti-CD22-FITC or anti-Ki-67-FITC antibodies were replaced by isotype control mouse IgG1-FITC (Invitrogen, Camarillo, CA, USA). Cell staining intensity was estimated from inverted 32-bit greyscale photographs using ImageJ software.

Flow cytometry. Immunophenotypic study was carried out by 6-color laser flow cytometry according to the standard protocol (Navios, Beckman Coulter, Miami, FL, USA).

RESULTS

Confirmation of intracellular localization of anti-CD3-FITC staining. The protocol was tested by performing anti-CD3-FITC staining of Jurkat cell line, clone J.RT3-T3.5, a surface T cell receptor deficient mutant derived from Jurkat cell line originating from a pediatric patient with T-ALL [12] (fig. 1, *a–e*). Flow cytometry confirmed that less than 1 % of cells in this line are positive for surface CD3 (see fig. 1, *c*). The results of J.RT3-T3.5 staining with primary anti-CD3-FITC according to the described procedure are shown in fig. 1, *d*. The percentage of cells staining positive for internal CD3 was 100 %. The data shown in fig. 1, *d* demonstrate the results of anti-CD3 staining with enhancement by AP-labeled F(ab') fragment of secondary anti-FITC antibody and colorimetric AP substrate as described in Materials and methods (enzyme-enhanced immunocytochemical detection, EEID). The data presented in fig. 1 show that the suggested method allows sensitive and specific immunocytochemical staining for cytoplasmic CD3.

CytCD3⁺ and cytCD22⁺ microarray-captured lymphocytes had more intense coloration after enzyme-enhanced immunocytochemical detection than lymphocytes negative for these markers. The enzyme-enhanced immunocytochemical detection of cytoplasmic proteins CD3 and CD22 was performed on lymphocytes isolated from the blood of healthy donors incubated with an anti-CD antibody microarray as described in Materials and Methods. The results are shown in fig. 2 and 3. The intensity of anti-CD3-FITC staining is higher in anti-CD7 captured T cells than in anti-CD19-captured B cells and in cells stained with mouse-IgG-FITC (isotype control) (see fig. 2, *a–c*). The intensity threshold for determining CD3⁺ was 60 a.u., cells with the staining intensity above 60 a.u. are CD3⁺ (see fig. 2, *d*). Consistent results were obtained for anti-CD22-FITC, the intensity of anti-CD22-FITC staining is higher in anti-CD22 captured B cells than in anti-CD7-captured T cells and in cells stained with mouse-IgG-FITC (isotype control) (see fig. 3, *a–c*). The intensity threshold for determining CD22⁺ was 30 a.u., cells with the staining intensity above 30 a.u. are CD22⁺ (see fig. 3, *d*). We also qualitatively showed the possibility of using the enzyme-enhanced immunocytochemical method for detection of intranuclear protein Ki-67 in microarray-captured T-lymphocytes (fig. 4). The percentage of Jurkat cells staining positive for Ki-67 was 100 %, this result was

confirmed by a parallel study of the Jurkat cell suspension by flow cytometry (data not shown). These results demonstrated the ability to reliably detect cytCD3⁺, cytCD22⁺ and Ki-67⁺ cells among microarray-captured lymphocytes using enzyme-enhanced immunocytochemical detection.

The dried microarray-captured lymphocytes can be stored for 7 days before staining. The dried microarrays with captured normal PBMC were stored at room temperature in the dark for 1–7 days prior to fixation and staining according to the above-described protocol. Figure 5 shows the intensity diagram of anti-CD7- and anti-CD19-captured PBMC from normal blood stained for internal CD3 as described above after 0 and 7 days storage respectively. There is a clear difference between CD3-positive cells (CD7⁺ cells) and CD3-negative cells (CD19⁺ cells) while no drop in staining intensity is observed upon storage (fig. 5). Thus storage of a dry sample at room temperature for 7 days before staining for intracellular markers does not affect the results of the staining procedure.

The protocol application to T-ALL diagnosis. The cytoplasmic protein detection method was tested on two patients with suspected T cell lymphoproliferative diseases. For each patient the mononuclear fraction of the bone marrow aspirate was incubated with 2 identical microarrays, one of which was stained after May–Grünwald–Giemsa for morphology examination and another – with anti-CD3-FITC primary antibody with enhancement by enzyme-linked secondary antibody.

Patient M., a 17-y.o. boy, was admitted with suspected T cell lymphoblastic lymphoma. The flow cytometry of bone marrow aspirate showed a blast region of 53 % with blasts positive for CD2, CD5, CD7, CD15, CD19 and CD38. The anti-CD antibody microarray analysis of the mononuclear fraction of the patient's bone marrow aspirate showed 75 % of blast cells of average size with no granulation, large nuclei and thin rims of cytoplasm positive for CD2, CD7, CD15, CD19, CD38 and CD45 (fig. 6, *a*, panel 1). As the criteria for blast attribution to myeloid or B cell lineage were not fulfilled, the microarray-captured blasts were stained for internal CD3 according to the protocol with enzyme-linked enhancement described above. Among the anti-CD45-captured blasts 90 % were positive for cytoplasmic CD3 (see fig. 6, *a*, panel 2) in consistence with the flow cytometry data (88 % of blasts were positive for cytoplasmic CD3). Based on the presence of cytoplasmic CD3 and surface CD2 and CD7 on the blast cells, the microarray-based data suggests the diagnosis of pre-T-ALL (T-II) [13].

Patient R., a 23-y.o. man, was referred to the flow cytometry laboratory of Rogachev National Research Centre for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology for diagnosis. The flow cytometry of bone marrow aspirate showed 96 % of blasts positive for CD2, CD7, CD11b (low expression), CD13, CD33, CD38, CD117 and HLA-DR. 9 % of blasts were positive for myeloperoxidase and 40 % of blasts were positive for cytoplasmic CD3 by flow

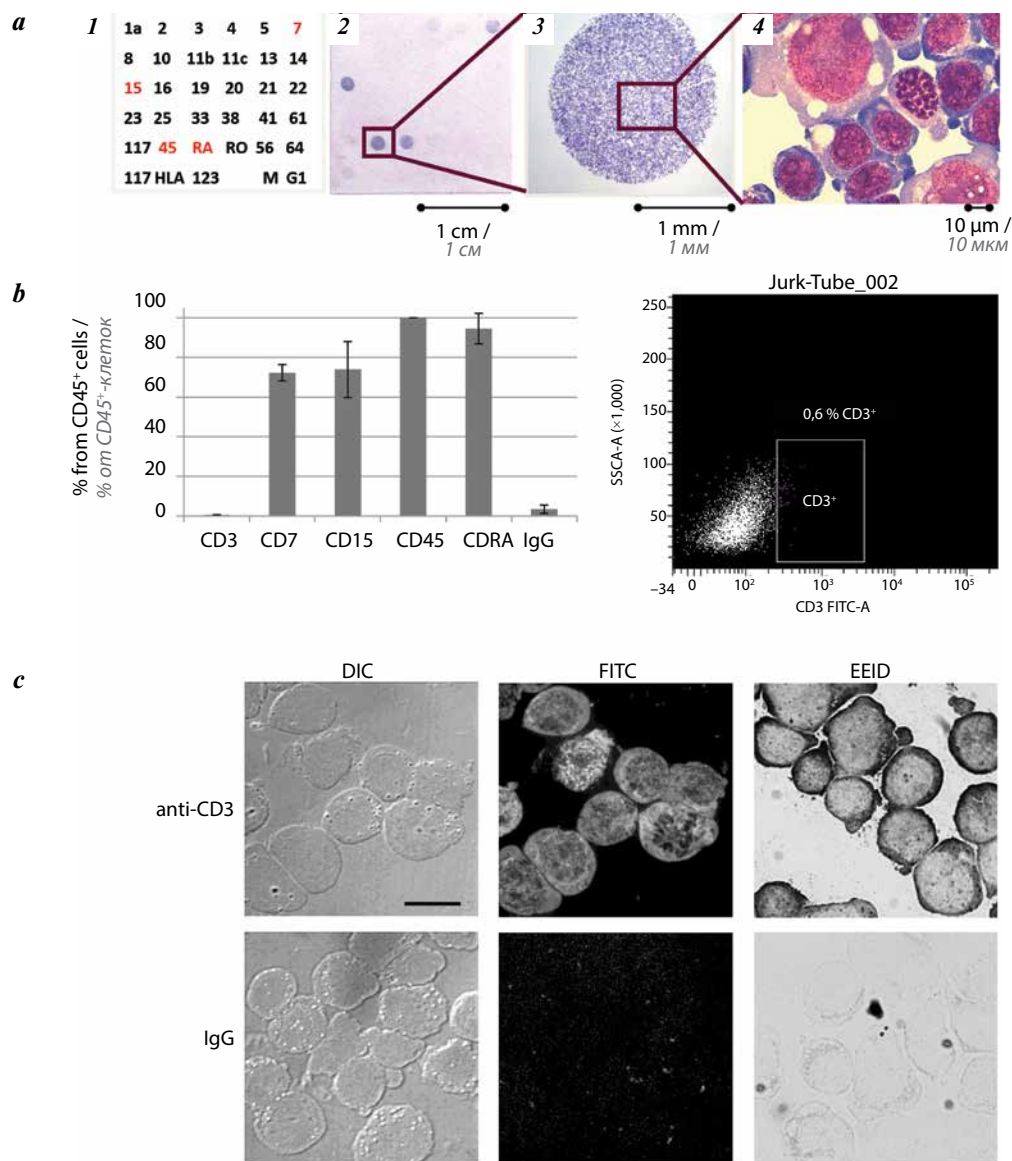


Fig. 1. Confirmation of intracellular localization of anti-CD3-FITC (FITC – fluorescein isothiocyanate) staining in Jurkat cells (Jurkat cells were concentrated and incubated with anti-CD antibody microarray, after washing, drying and staining according to May–Grünwald–Giemsa): a – the “map” of the microarray with numbers indicating the spots of mouse immunoglobulin G (IgG) against corresponding CD antigens. Numbers of anti-CDx captured Jurkat cells are highlighted in red, mouse IgG1 (isotype control) indicates the negative control (panel 1); the whole microarray with captured cells specifically bound to anti-CDx (panel 2). Anti-CD45-bound Jurkat cells after May–Grünwald–Giemsa staining at different magnifications, $\times 40$ (panel 3) and $\times 1000$ (panel 4); b – percentage of Jurkat cells bound to anti-CDx; c – percentage of CD3⁺ Jurkat cells determined by flow cytometry; d – control of permeabilization quality using anti-CD3-FITC staining of surface CD3-negative clone of Jurkat cell line with enzyme-enhanced immunocytochemical detection (EEID) or without (FITC) enhancement. Enzyme-enhanced detection includes anti-CD3 staining of surface CD3-negative clone of Jurkat cell line with enhancement using mouse anti-CD3-FITC primary antibody (replaced with FITC-labeled isotype control for negative control), F(ab') fragment of rabbit anti-FITC-alkaline phosphatase secondary antibody and BCIP/NBT colorimetric substrate; the signal without enhancement (FITC) corresponds to primary antibody staining only. Original magnification $\times 1000$, the scale bar represents 10 mm. DIC – differential interference contrast; SSCA-A – side scattering; FITC-A – anti-CD3 signal intensity

Рис. 1. Подтверждение внутриклеточной локализации anti-CD3-FITC-окрашивания (FITC – флуоресцеин изотиоцианат) в клеточной линии Jurkat (клетки Jurkat концентрировали и инкубировали с биочипом с anti-CDx-антителами, промывали, сушили и окрашивали по методу Мая–Грюнвальда–Гимзы): a – схема биочипа с номерами, указывающими расположение пятен мышиного иммуноглобулина G (IgG) против соответствующих CD-антигенов. Номера anti-CD-антител, связавших клетки Jurkat, выделены красным цветом, mIgG обозначает смесь мышиных IgG1 (изотипический отрицательный контроль, панель 1). Весь биочип с клетками, специфически связавшимися с anti-CDx-антителами, представлен на панели 2, клетки Jurkat, связанные с CD45, после окрашивания по методу Мая–Грюнвальда–Гимзы при $\times 40$ – на панели 3, при $\times 1000$ – на панели 4; b – доля клеток Jurkat, связанных с anti-CDx-антителами; c – процентное содержание CD3⁺-клеток Jurkat, определенное методом проточной цитометрии; d – контроль за качеством пермеабилзации, выполненный с помощью окрашивания отрицательной по поверхностному CD3 клеточной линии Jurkat anti-CD3-FITC-антителами, с иммуоферментным усилением (EEID) и без него (FITC). Иммуоферментное усиление включает окрашивание первичными мышиными anti-CD3-FITC-антителами (в отрицательном контроле заменялись на FITC-меченный изотипический контроль), вторичными антителами (F(ab')-фрагментом кроличьих anti-FITC-антител, конъюгированных с щелочной фосфатазой, и использование колориметрического субстрата щелочной фосфатазы BCIP/NBT. Сигнал без усиления предполагает окрашивание только первичными антителами. $\times 1000$, масштабный отрезок соответствует 10 мкм. DIC – дифференциальный интерференционный контраст; SSCA-A – боковое светорассеяние; FITC-A – интенсивность окрашивания anti-CD3

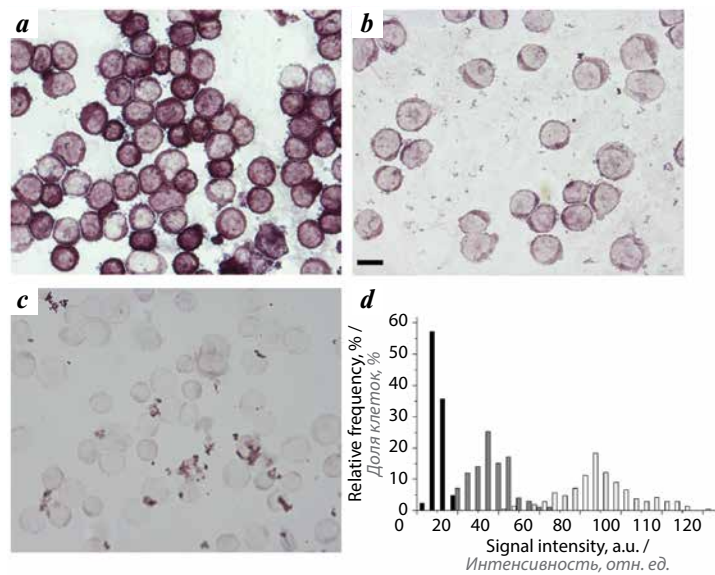


Fig. 2. Normal peripheral blood mononuclear cells (PBMC) staining for cytoplasmic CD3 using protocol with enzyme-enhanced immunocytochemical detection (EEID). Normal PBMC captured by anti-CD7 (a, c) and anti-CD19 (b) stained for cytoplasmic CD3 (a, b). In fig. c represents a negative control (anti-CD3-FITC (FITC – fluorescein isothiocyanate) replaced by FITC-labeled isotypic control). Original magnification $\times 1000$, the scale bar represents 10 μm . Staining intensity for cytoplasmic CD3 and negative controls using EEID protocol is shown in fig. d. The black color indicates IgG1-FITC staining of anti-CD7-captured PBMC, grey – anti-CD3-FITC staining of anti-CD19-captured PBMC, white – anti-CD3-FITC staining of anti-CD7-captured PBMC

Рис. 2. Окрашивание мононуклеаров, выделенных из периферической крови, на цитоплазматический CD3 с использованием протокола с иммуноферментным усилением (EEID). Мононуклеары, связавшиеся с антителами к CD7 (a, c) и к CD19 (b) на биочипе, окрашивались на цитоплазматический CD3 (a, b). На рис. c представлен отрицательный контроль (анти-CD3-FITC заменен на FITC-меченный (FITC – флуоресцеин изотиоцианат) изотипический контроль). $\times 1000$, масштабный отрезок соответствует 10 мкм. Интенсивность окрашивания мононуклеаров анти-CD3-FITC с использованием протокола EEID представлена на рис. d. Черным цветом обозначены мононуклеары, связавшиеся с антителами к CD7 на биочипе и окрашенные IgG1-FITC (IgG – иммуноглобулин G1), серым – мононуклеары, связавшиеся с антителами к CD19 на биочипе и окрашенные anti-CD3-FITC, белым – мононуклеары, связавшиеся с антителами к CD7 антителами на биочипе и окрашенные anti-CD3-FITC-антителами

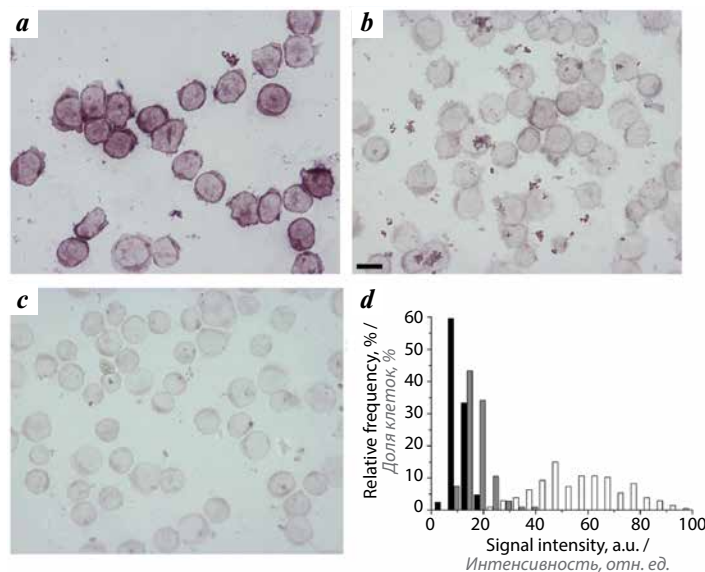


Fig. 3. Normal peripheral blood mononuclear cells (PBMC) staining for cytoplasmic CD22. Normal PBMC captured by anti-CD19 (a, c) and anti-CD7 (b) stained for cytoplasmic CD22 (a, b). In fig. c represents a negative control (anti-CD3-FITC (FITC – fluorescein isothiocyanate) replaced by FITC-labeled isotypic control). Original magnification $\times 1000$, the scale bar represents 10 mm. The staining intensity for cytoplasmic CD22 and negative controls using protocol with enzyme-enhanced immunocytochemical detection (EEID) is shown in fig. d. The black color indicates IgG1-FITC (IgG1 – immunoglobulin G1) staining of anti-CD19-captured PBMC, grey – anti-CD22-FITC staining of anti-CD7-captured PBMC, white – anti-CD22-FITC staining of anti-CD19-captured PBMC

Рис. 3. Окрашивание мононуклеаров, выделенных из периферической крови, на цитоплазматический CD22. Мононуклеары, связавшиеся с антителами к CD19 (a, c) и CD7 (b) на биочипе, окрашивали на цитоплазматический CD22 (a, b). На рис. c представлен отрицательный контроль (анти-CD3-FITC заменен на FITC-меченный (FITC – флуоресцеин изотиоцианат) изотипический контроль). $\times 1000$, масштабный отрезок соответствует 10 мкм. На рис. d представлена интенсивность окрашивания мононуклеаров anti-CD22-FITC с использованием протокола с иммуноферментным усилением. Черным цветом обозначена интенсивность мононуклеаров, связавшихся с антителами к CD19 на биочипе и окрашенных IgG1-FITC (IgG – иммуноглобулин G1), серым – мононуклеаров, связавшихся с антителами к CD7 на биочипе и окрашенных anti-CD22-FITC, белым – мононуклеаров, связавшихся с антителами к CD19 на биочипе и окрашенных anti-CD22-FITC

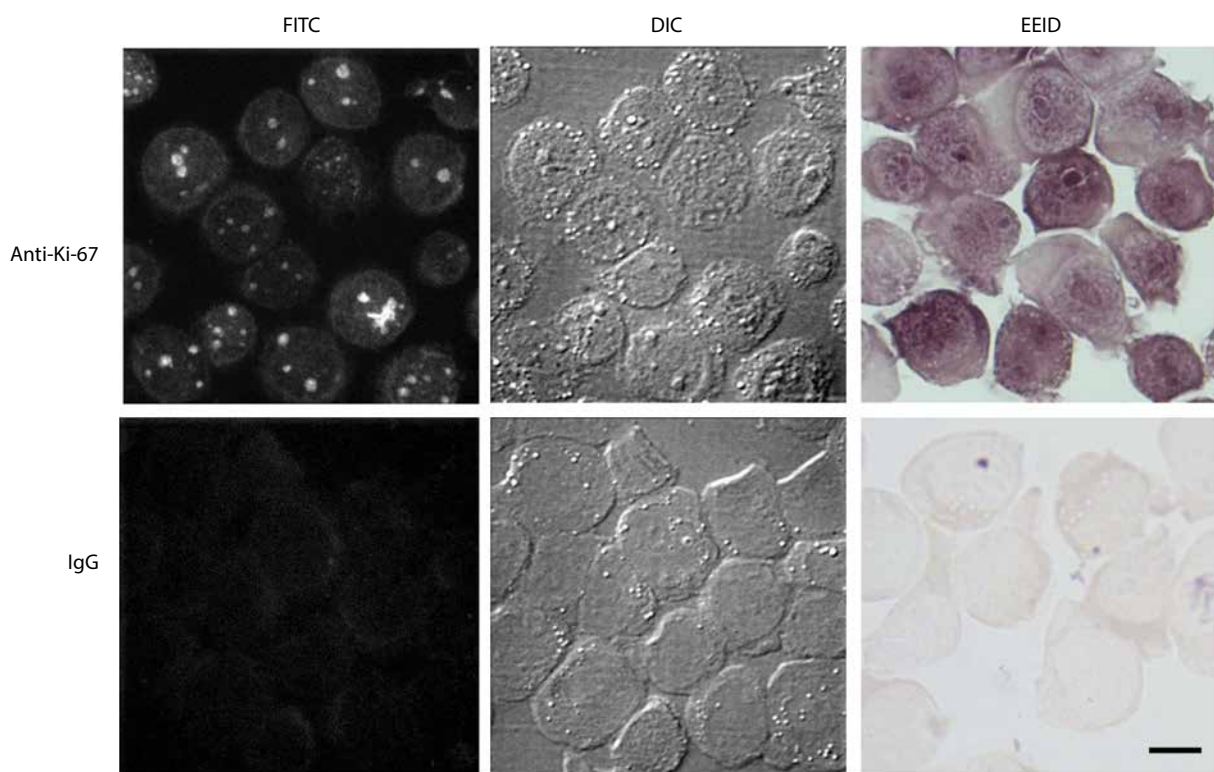


Fig. 4. Anti-Ki-67-FITC (FITC — fluorescein isothiocyanate) staining according to protocol with enzyme-enhanced immunocytochemical detection (EEID) of anti-CD45-captured Jurkat cells. $\times 1000$, the scale $10 \mu\text{m}$. IgG — immunoglobulin G

Рис. 4. Окрашивание anti-Ki-67-FITC (FITC — флуоресцеин изотиоцианат) по протоколу с иммуноферментным усилением клеток Jurkat, связавшихся с антителами к CD45 на клеточном биоципе. $\times 1000$, масштаб $10 \mu\text{м}$. IgG — иммуноглобулин G

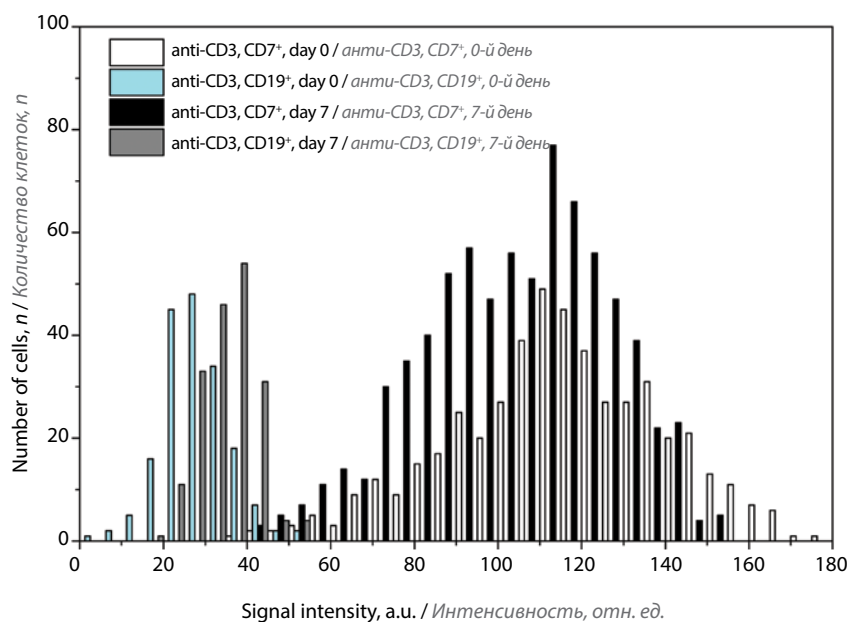


Fig. 5. Intensity of anti-CD3-FITC (FITC — fluorescein isothiocyanate) staining of anti-CD7- and anti-CD19-captured normal peripheral blood mononuclear cells for cytoplasmic CD3 according to protocol with enhancement after storage 0 and 7 days. $\times 1000$, the scale $10 \mu\text{m}$

Рис. 5. Интенсивность окрашивания анти-CD3-FITC (FITC — флуоресцеин изотиоцианат) по протоколу усиления, мононуклеаров, выделенных из периферической крови и связавшихся на биоципе с антителами к CD7- или CD19, после 0 и 7 дней хранения. $\times 1000$, масштаб $10 \mu\text{м}$

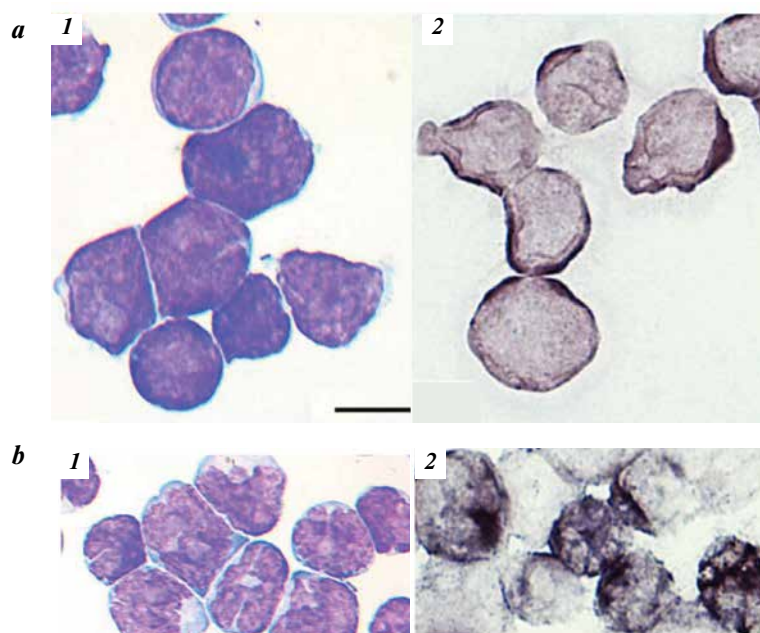


Fig. 6. The protocol with enzyme-enhanced immunocytochemical detection application to T-lymphoblastic leukemia diagnosis: a – anti-CD19-captured mononuclear cells from bone marrow aspirate of patient M.; b – anti-CD2-captured mononuclear cells from bone marrow aspirate of patient R. Panels 1, 3 – morphology; panels 2, 4 – anti-CD3 staining with enzyme-linked enhancement. $\times 1000$, the scale 10 mm

Рис. 6. Применение протокола с иммуноферментным усилением для диагностики Т-клеточного лимфобластного лейкоза: а – мононуклеары, выделенные из аспирата костного мозга пациента М. и связавшиеся с анти-CD19 на клеточном биочипе; б – мононуклеары, выделенные из аспирата костного мозга пациента Р. и связавшиеся с анти-CD2 на клеточном биочипе. Панели 1, 3 – морфология опухолевых клеток, панели 2, 4 – окрашивание анти-CD3-антителами с усилением. $\times 1000$, масштаб 10 мкм

cytometry data. The microarray analysis of the mononuclear fraction of bone marrow aspirate showed immature cells of average size, with large nuclei of irregular shape containing one or two nucleoli and scarce cytoplasm without granulation captured by anti-CD2, anti-CD7, anti-CD13, anti-CD33, anti-CD45RA, anti-CD117 and anti-HLA-DR (see fig. 6, b, panel 3). The presence of the earliest T cell marker CD7 together with myeloid markers, CD13, CD33, CD117 resulted in differential diagnosis between acute myeloid leukemia and early T cell precursor leukemia, a recently suggested diagnostic entity separated from pro-T-ALL [14]. Cytoplasmic CD3 staining of the microarray-captured cells showed the 45 % of anti-CD45RA-captured blasts stained positive for CD3 (see fig. 6, b, panel 4). According to the current guidelines, this data led to the diagnosis of early T cell precursor acute lymphoblastic leukemia [15].

DISCUSSION

The application of enzyme-linked enhancement increases the detection sensitivity, permits to use light microscopy for detection and to store the samples for later reexamination. Our data shows that the dry microarray with captured cells can be stored for up to 5 days before staining for intracellular markers, which is an advantage for a diagnostic laboratory. The application of mouse FITC-labeled primary and anti-FITC enzyme-linked secondary antibodies widens the choice for primary

antibodies that can be applied to the cells captured by the immobilized mouse IgG on the microarray.

From the two enzymes commonly used in enzyme-linked enhancement, AP is a better choice for the analysis of mononuclear fraction of peripheral blood and bone marrow aspirate than the horseradish peroxidase (HRP). HRP colorimetric substrates also react with myeloperoxidase present in all myeloid cells [16]. Thus the myeloperoxidase present in normal or leukemic mononuclear cells would interfere with the detection of HRP introduced for signal enhancement. AP is present only in polymorphonuclear neutrophils [17] most of which are eliminated during the purification of the mononuclear cell fraction. However, the AP signal from a few mature neutrophils present in the sample should be taken into account during analysis.

Anti-CD antibody microarray on a transparent support is an attractive analogue to multicolour leukocyte immunocytochemistry for surface markers. Its main advantage lies in the possibility of high-resolution morphology examination of microarray-sorted cells. The diagnostic potential for this method for most chronic B-cell leukemias as well as for acute myeloid leukemia and acute B cell lymphoblastic leukemia has been demonstrated before [6]. However, the differential diagnosis of acute leukemias of T cell origin requires detection of intracellular CD3. The method described here eliminates the limitations for diagnostic applications of anti-CD antibody microarray

in leukemia diagnosis. It can also be used to test for coexpression of any surface with any intracellular marker on the same cells if the antibody specific for the surface marker is spotted on the microarray and used for cell sorting.

CONCLUSION

We described a new protocol of immunocytochemical detection of internal proteins in mononuclear cells captured by mouse anti-CD antibodies on the microarray surface.

The protocol uses primary mouse (FITC)-conjugated antibodies against the target, secondary anti-FITC antibodies conjugated with AP and colorimetric AP substrate, BCIP/NBT. We show on normal leukocytes and leukemic cell lines that the protocol is sensitive and specific. The percentages of cytCD3-positive cells determined by this method in bone marrow aspirates of two patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia are in excellent agreement with flow cytometry results.

References / Литература

1. Bain B.J. Leukaemia Diagnosis 4th edn. Blackwell Publishing, 2010.
2. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Ed. By S.H. Swerdlow, E. Campo, N.L. Harris et al. 4th edn. Lyon: IARC, 2017.
3. Garg N., Kotru M., Kumar D. et al. Correlation of expression of aberrant immunophenotypic markers in T-ALL with its morphology: a pilot study. *J Lab Physicians* 2018;10(4):410–3. DOI: 10.4103/JLP.JLP_35_18
4. Ahuja S., Malviya A. Spectrum of immunophenotypic aberrancies in acute leukemia along with their correlation with adverse hematological parameters. *Ind J Health Sci Biomed Res (KLEU)* 2022;15(1):76. DOI: 10.4103/kleuhj.kleuhj_170_21
5. Fedyanina O.S., Filippova A.E., Kuznetsova S.A. et al. The nature and clinical significance of atypical mononuclear cells in infectious mononucleosis caused by the Epstein-Barr virus in children. *J Infect Dis* 2021;223(10):1699–706. DOI: 10.1093/infdis/jiaa601
6. Khvastunova A.N., Kuznetsova S.A., Al-Radi L.S. et al. Anti-CD antibody microarray for human leukocyte morphology examination allows analyzing rare cell populations and suggesting preliminary diagnosis in leukemia. *Sci Rep* 2015;5:1–13. DOI: 10.1038/srep12573
7. Kuznetsova S.A., Fedyanina O.S., Zakirova A.O. et al. Cell biochip – a new method of combined morphological diagnosis of acute leukemia in children. *Pediatriva = Pediatrics* 2019;98:91–7. (In Russ.). DOI: 10.24110/0031-403X-2019-98-4-91-97
8. Fedyanina O.S., Zakirova A.O., Zadorozhnaya A.E. et al. Morphology and distribution of α -naphthyl butyrate esterase and naphthol AS-D chloroacetate esterase in normal myelomonocytic precursors studied by the cell microarray. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2016;11(4):74–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-4-74-79
9. Fedyanina O.S., Chuksina Yu.Yu., Khmelevskaya A.N. et al. Diagnostic criteria of lymphoproliferative diseases from the peripheral blood samples using a cell biochip. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny = Almanac of Clinical Medicine* 2021;49:405–11. (In Russ.). DOI: 10.18786/2072-0505-2021-49-053
10. Khvastunova A.N., Al-Radi L.S., Kapranov N.M. et al. Cell-binding microarray application in diagnosis of hairy cell leukemia. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2015;10(1):37–45. (In Russ.). DOI: 10.17650/1818-8346-2015-1-37-45
11. Filatov A.V., Bachurin P.S., Markova N.A., Churakova N.E. A panel of monoclonal antibodies to antigens of human lymphocytes. *Experimental Oncology* 1989;11(2):29. (In Russ.).
12. Weiss A., Stobo J.D. Requirement for the coexpression of T3 and the T cell antigen receptor on a malignant human T cell line. *J Exp Med* 1984;160(5):1284–99. DOI: 10.1084/jem.160.5.1284
13. Genescà E., la Starza R. Early T-cell precursor ALL and beyond: immature and ambiguous lineage T-ALL subsets. *Cancers* 2022;14(8):1873. DOI: 10.3390/cancers14081873
14. Coustan-Smith E., Mullighan C.G., Onciu M. et al. Early T-cell precursor leukaemia: a subtype of very high-risk acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol* 2009;10(2):147–56. DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70314-0
15. Sin C.F., Man P.H.M. Early T-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: diagnosis, updates in molecular pathogenesis, management, and novel therapies. *Front Oncol* 2021;11:750–89. DOI: 10.3389/fonc.2021.750789
16. Mahjoub F.E., Karder F.F., Jahanzad I. et al. Introducing a rapid and safe method for myeloperoxidase staining. *Open Journal of Pathology* 2015;5:38. DOI: 10.4236/ojpathology.2015.52006
17. Geddes A.D., Kirchen M.E., Marshall J. Localization of leukocyte alkaline phosphatase in human neutrophils. *Acta Haematologica* 1975;53:145–51.

Acknowledgement. We thank the Center for Precision Genome Editing and Genetic Technologies for Biomedicine, Institute of Gene Biology Russian Academy of Sciences for providing the research facility and also S. Nikulin for kindly provided Jurkat cells, N.M. Kapranov for help with flow cytometry experiments and to P.A. Yadgarova for her help with anti-CD antibody microarrays manufacturing.

Благодарность. Мы благодарим Центр высокоточного редактирования генома и генетических технологий для биомедицины ФГБУН «Институт биологии гена Российской академии наук» за предоставление исследовательской базы, а также С. Никулину за предоставление клеток Jurkat, Н.М. Капранову за помощь в проведении экспериментов по проточной цитометрии и П.А. Ядгарову за ее помощь в изготовлении микрочипов антител к CD.

Authors' contributions

O.S. Fedyanina, S.A. Kuznetsova: development of research design, conducting experiments, data analysis, article writing;

A.O. Zakirova: conducting experiments, data analysis;

A.I. Khamidullina: cell cultivation, conducting experiments, data analysis;

A.N. Khvastunova: conducting experiments and data analysis;

I.V. Grebennik: data analysis;

A.V. Filatov: research design development.

Вклад авторов

О.С. Федянина, С.А. Кузнецова: разработка дизайна исследования, проведение экспериментов, анализ данных, написание текста статьи;

А.О. Закирова: проведение экспериментов, анализ данных;

А.И. Хамидулина: культивирование клеток, проведение экспериментов, анализ данных;

А.Н. Хвастунова: проведение экспериментов и анализ данных;
И.В. Гребенник: анализ данных;
А.В. Филатов: разработка дизайна исследования.

ORCID of authors / ORCID авторов

O.S. Fedyanina / О.С. Федянина: <https://orcid.org/0000-0001-7131-8006>
A.O. Zakirova / А.О. Закирова: <https://orcid.org/0000-0001-9475-3318>
A.I. Khamidullina / А.И. Хамидулина: <https://orcid.org/0000-0001-8137-0625>
A.N. Khvastunova / А.Н. Хвастунова: <https://orcid.org/0000-0002-7117-0168>
I.V. Grebennik / И.В. Гребенник: <https://orcid.org/0009-0008-9607-101X>
A.V. Filatov / А.В. Филатов: <https://orcid.org/0000-0002-6460-9427>
S.A. Kuznetsova / С.А. Кузнецова: <https://orcid.org/0000-0001-5946-0026>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation grant (grant No. 25-25-20193).

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (грант № 25-25-20193).

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of Centre for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences (protocol No. 1/1-21(НЭК) dated 25.01.2021).

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук» (протокол № 1/1-21(НЭК) от 25.01.2021).

Article submitted: 14.08.2025. **Accepted for publication:** 17.11.2025. **Published online:** 16.03.2026.

Статья поступила: 14.08.2025. **Принята к публикации:** 17.11.2025. **Опубликована онлайн:** 16.03.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-103-112>

Роль полиморфных вариантов генов *ERCC1* и *ERCC2* в развитии рака желудка в кыргызской популяции

Н.Д. Бакиров¹, Ж.Т. Исакова², Б.Б. Тайлаков³, В.Н. Кипень⁴, А.К. Тойгонбеков¹, Э.Э. Омурбаев¹, Р.А. Рамалданов¹

¹Национальный центр онкологии и гематологии Министерства здравоохранения Кыргызской Республики; Кыргызская Республика, 720064 Бишкек, ул. Исы Ахунбаева, 92, корп. 3;

²Кыргызский национальный университет им. Жусупа Баласагына; Кыргызская Республика, 720033 Бишкек, ул. Фрунзе, 547;

³ТОО «Международный научно-образовательный центр инновационной медицины»; Республика Казахстан, 010000 Астана, ул. Алихан Бокейхан, 10;

⁴Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси; Республика Беларусь, 220012 Минск, ул. Академическая, 27

Контакты: Нурбек Дуйшенбаевич Бакиров nurbek.bakirov.1977@mail.ru

Введение. Рак желудка является агрессивной злокачественной опухолью желудочно-кишечного тракта человека. Его возникновение и развитие связаны с генетическими и внешними факторами. Нарушения в генах репарации ДНК, таких как *ERCC1* и *ERCC2*, могут играть большую роль в развитии данного заболевания.

Цель исследования – определить прогностическую значимость полиморфизмов генов *ERCC1* (rs11615, rs3212986) и *ERCC2* (rs13181) в развитии рака желудка в кыргызской популяции.

Материалы и методы. В исследование вошли 123 пациента со злокачественными новообразованиями желудка и 138 здоровых лиц кыргызской этнической группы. Генотипирование проводилось методом конкурентной аллель-специфической полимеразной цепной реакции. Статистический анализ включал использование точного критерия Фишера и расчет отношения шансов (ОШ) для оценки ассоциаций генотипов с клиническими параметрами. При сравнении результатов генотипирования, гистологической и морфологической структур опухоли, возраста пациентов, роста и локализации опухоли применялся точный критерий Фишера. ОШ определяли путем построения таблиц кросс-табуляции.

Результаты. Выявлена статистически значимая ассоциация генотипа СС полиморфного локуса *ERCC1* (rs3212986) с возрастом пациентов (41–50 и 61–70 лет). Генотипы ТГ и ТТ гена *ERCC2* (rs13181) были связаны с малодифференцированной аденокарциномой. Также установлено, что генотип СА и аллель А полиморфизма rs3212986 (*ERCC1*) могут выполнять протективную роль, снижая вероятность развития рака желудка в кыргызской популяции (ОШ 0,472; 95 % доверительный интервал 0,287–0,785 и ОШ 0,676; 95 % доверительный интервал 0,464–0,991 для генотипа СС и аллеля А соответственно) ($p = 0,046$).

Заключение. Полиморфизмы генов *ERCC1* и *ERCC2* могут быть связаны с риском развития рака желудка в кыргызской популяции. Полученные данные указывают на необходимость дальнейших исследований для уточнения роли этих генов в патогенезе рака желудка и разработки стратегий его профилактики и лечения.

Ключевые слова: рак желудка, полиморфизм, *ERCC1*, *ERCC2*, кыргызская популяция

Для цитирования: Бакиров Н.Д., Исакова Ж.Т., Тайлаков Б.Б. и др. Роль полиморфных вариантов генов *ERCC1* и *ERCC2* в развитии рака желудка в кыргызской популяции. Успехи молекулярной онкологии 2026;13(1):103–12.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-103-112>

The role of polymorphic variants of the *ERCC1* and *ERCC2* genes in the development of gastric cancer in the Kyrgyz population

N.D. Bakirov¹, Zh.T. Isakova², B.B. Tailakov³, V.N. Kipen⁴, A.K. Toigonbekov¹, E.E. Omurbaev¹, R.A. Ramaldanov¹

¹National Center of Oncology and Hematology, Ministry of Kyrgyz Republic; Bld. 3, 92 Isa Akhunbayeva St., Bishkek 720064, Kyrgyz Republic;

²Kyrgyz National University named after Zhusup Balasagyn; 547 Frunze St., Bishkek 720033, Kyrgyz Republic;

³International Scientific and Educational Center for Innovative Medicine; Republic of Kazakhstan, 10 Alikhan Bokeikhan St., Astana 010000, Republic of Kazakhstan;

⁴Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus; 27 Akademicheskaya St., Minsk 220012, Republic of Belarus

Contacts: Nurbek Duishenbaevich Bakirov nurbek.bakirov.1977@mail.ru

Introduction. Gastric cancer is an aggressive malignant tumor of the gastrointestinal tract. Its onset and development are associated with genetic and external factors. Abnormalities in DNA repair genes, for example *ERCC1* and *ERCC2*, can play a role in the development of this disease.

Aim. To determine prognostic significance of *ERCC1* (rs11615, rs3212986) and *ERCC2* (rs13181) gene polymorphisms in the development of gastric cancer in the Kyrgyz population.

Materials and methods. The study included 123 patients with malignant tumors of the stomach and 138 healthy individuals belonging to the Kyrgyz ethnic group. Genotyping was performed using allele-specific polymerase chain reaction. Statistical analysis included Fisher's exact test and calculation of odds ratio (OR) for evaluation of associations between genotypes and clinical parameters. Genotyping results, histological and morphological tumor structures, patient age, tumor growth and location were compared using Fisher's exact test. OR was determined through cross-tabulation.

Results. Statistically significant association of CC genotype of the *ERCC1* (rs3212986) polymorphic locus with patient age (41–50 and 61–70 years) was found. Genotypes TG and TT of the *ERCC2* (rs13181) gene were associated with poorly differentiated adenocarcinoma. Additionally, it was shown that CA genotype and A allele of the rs3212986 (*ERCC1*) polymorphism can play a protective role decreasing the likelihood of gastric cancer development in the Kyrgyz population (OR 0.472; 95 % confidence interval 0.287–0.785 and OR 0.676; 95 % confidence interval 0.464–0.991 for CC genotype and allele A, respectively) ($p = 0.046$).

Conclusion. Polymorphisms of the *ERCC1* and *ERCC2* genes can be associated with the risk of gastric cancer development in the Kyrgyz population. These data show the necessity of further studies investigating the role of these genes in gastric cancer and development of strategies for its prevention and treatment.

Keywords: gastric cancer, polymorphism, *ERCC1*, *ERCC2*, Kyrgyz population

For citation: Bakirov N.D., Isakova Zh.T., Tailakov B.B. et al. The role of polymorphic variants of the *ERCC1* and *ERCC2* genes in the development of gastric cancer in the Kyrgyz population. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = Advances in Molecular Oncology 2026;13(1):103–12.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2026-13-1-103-112>

ВВЕДЕНИЕ

Рак желудка (РЖ) относится к агрессивным злокачественным новообразованиям и занимает 5-е место в мире по распространенности и смертности среди онкологических заболеваний. Согласно данным Глобальной обсерватории Международного агентства по изучению рака (International Agency for Research on Cancer, IARC), в 2022 г. в мире зарегистрировано около 970 тыс. новых случаев РЖ, что составляет 4,9 % от общего числа впервые выявленных злокачественных новообразований, а также около 660 тыс. смертей, что составляет 6,8 % от общей онкологической смертности [1]. Для сравнения: 1-е место по распространенности и смертности занимает рак легкого (2,5 млн (12,4 %) случаев), 2-е место — рак молочной железы (2,3 млн (11,6 %) случаев), 3-е место — колоректальный рак (1,9 млн (9,6 %) случаев), 4-е место — рак предстательной железы (1,5 млн (7,3 %) случаев) [1].

Результаты исследований показывают, что клинический исход при РЖ зависит от гистологической структуры опухоли, ее локализации, наличия хронических заболеваний желудка, инфекции *Helicobacter pylori*, питания, условий среды, а также лечения [2, 3].

Несмотря на успехи в изучении и терапии РЖ, его распространенность остается высокой, что обуславливает необходимость дальнейшего изучения патогенеза и разработки надежных и простых методов ранней диагностики данной патологии для повышения эффективности лечения [4, 5].

Известно, что трансформация нормальных клеток организма в опухолевые связана с накоплением генетических и эпигенетических изменений в геноме, в частности с мутациями в генах, продукты которых участвуют в процессах репарации ДНК. При нарушении репарации клетки ускользают из-под контроля системы апоптоза, приобретают способность к быстрому росту и сохраняют жизнеспособность, несмотря на свою функциональную неполноценность [6–8].

В процессе репарации ДНК задействовано множество генов, особенно гены эксцизионной репарации *ERCC1* и *ERCC2*, продукты которых регулируют скорость репарации ДНК. Белок *ERCC1* является ключевым компонентом системы нуклеотидной эксцизионной репарации и участвует в эндонуклеолитическом разрезании поврежденной цепи ДНК. Белок *ERCC2*, обладающий ДНК-хеликазной активностью, обеспе-

чивает расплетание двухцепочечной ДНК в области повреждения, что необходимо для последующего удаления поврежденного фрагмента [9].

Ген *ERCC1*, локализованный на хромосоме 19 в локусе 19q13.32, включает 13 экзонов и кодирует белок, состоящий из 297 аминокислот. Белок *ERCC1* взаимодействует с белками ХРА, ХРФ и РРА, участвуя в катализе 5'-расщепления поврежденных участков ДНК, что играет ключевую роль в процессе нуклеотидной эксцизионной репарации (NER) [10].

Ген *ERCC2*, локализованный на хромосоме 7 в локусе 7q36.1, включает 10 экзонов и кодирует белок, состоящий из 280 аминокислот. Белок *ERCC2* представляет собой высококонсервативный фермент, выполняющий функции АТФ-зависимой (АТФ — аденозинтрифосфат) хеликазы. Он участвует в индукции апоптоза, регуляции базальной транскрипции и раскручивании ДНК в области повреждения [11].

Установлено, что определенные генотипы полиморфных локусов rs11615 и rs3212986 гена *ERCC1*, а также rs13181 гена *ERCC2* ассоциированы со снижением активности хеликазы, нарушением процессов восстановления ДНК и повышенным риском развития злокачественных новообразований [12]. Таким образом, функциональные полиморфизмы *ERCC1* и *ERCC2* могут оказывать влияние на эффективность репарации ДНК и способствовать канцерогенезу [13].

Цель исследования — определить прогностическую значимость полиморфизмов генов *ERCC1* и *ERCC2* в развитии РЖ в кыргызской популяции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 123 пациента с РЖ кыргызской этнической группы, получавшие лечение в Национальном центре онкологии и гематологии Министерства здравоохранения Кыргызской Республики (84 (68) мужчины и 39 (32 %) женщин) (основная группа). Средний возраст больных составил 58 ± 7 лет (диапазон 33—79 лет). В контрольную группу вошли 138 условно здоровых лиц (89 (64 %) мужчин и 49 (36 %) женщин), которые на момент забора крови не имели онкологической патологии в анамнезе и не состояли в родстве с пациентами из основной группы. Средний возраст участников группы контроля составил 52 ± 7 лет. Группы были сопоставимы по ключевым демографическим и антропометрическим характеристикам.

У всех больных диагноз РЖ был подтвержден морфологически, при этом у подавляющего большинства пациентов (65,9 % случаев) выявлена низкодифференцированная аденокарцинома. В 83 (67 %) случаях отмечался кишечный тип по классификации Lauren, в 23 (18,7 %) — диффузный тип. У 101 (82,1 %) из 123 пациентов было заболевание III—IV стадии. Клинико-морфологическая характеристика больных РЖ представлена в табл. 1.

Таблица 1. Клинико-морфологическая характеристика больных раком желудка

Table 1. Clinical and morphological characteristics of patients with gastric cancer

Показатель Parameter	Значение Value
Средний возраст (лет), <i>n</i> Average age (years), <i>n</i>	58 ± 7
Возраст (лет), <i>n</i> (%): Age (years), <i>n</i> (%):	
<55	35 (28)
>55	88 (72)
Пол, <i>n</i> (%): Gender, <i>n</i> (%):	
мужской male	84 (68)
женский female	39 (32)
Статус курения, <i>n</i> (%): Smoking status, <i>n</i> (%):	
некурящие smoker	79 (64)
курящие non-smoker	44 (36)
Употребление алкоголя, <i>n</i> (%): Alcohol consumption, <i>n</i> (%):	
нет no	69 (56)
да yes	54 (44)
Гистологический тип опухоли по классификации Lauren, <i>n</i> (%): Histological tumor type according to Lauren classification, <i>n</i> (%):	
кишечный intestinal	83 (67)
диффузный diffuse	23 (19)
смешанный mixed	17 (14)
Тип опухоли, <i>n</i> (%): Tumor type, <i>n</i> (%):	
низкодифференцированная аденокарцинома poorly differentiated adenocarcinoma	81 (66)
умеренно дифференцированная аденокарцинома moderately differentiated adenocarcinoma	15 (12)
высокодифференцированная аденокарцинома well differentiated adenocarcinoma	3 (2)
недифференцированный рак undifferentiated cancer	2 (2)
перстневидноклеточный рак pearl cell carcinoma	18 (15)
слизистый рак mucosal cancer	4 (3)
Стадия, <i>n</i> (%): Stage, <i>n</i> (%):	
I—II	22 (18)
III—IV	101 (82)

Биопсийные образцы опухоли для гистологического исследования получены в соответствии с международными этическими стандартами.

Выделение ДНК. Для исследования полиморфных локусов rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) и rs13181 (*ERCC2*) ДНК выделяли из лейкоцитов венозной крови с использованием метода фенол-хлороформной экстракции. Для генотипирования применялась конкурентная аллель-специфическая полимеразная цепная реакция. Подбор праймеров и дизайн протокола выполнялись компанией LGC Biosearch Technologies, Inc. (Великобритания) с использованием программного обеспечения Kraken™, прошедшего валидацию *in silico*.

Статистический анализ. Качественные данные представлены в виде абсолютного числа наблюдений по каждому признаку и их процентного соотношения внутри группы. Для оценки различий между номинальными переменными применяли χ^2 -критерий с построением таблиц сопряженности. Для небольших выборок или при нарушении условий применения этого критерия использовали точный критерий Фишера, основанный на методе перестановок (пермутаций). Значение p для точного критерия вычисляли с применением формул комбинаторной теории вероятностей, что обеспечивало более точную оценку значимости в условиях ограниченного количества данных. Отношение шансов (ОШ) рассчитывали с помощью построения таблицы кросс-табуляции с использованием программы SPSS v.20.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проанализирована ассоциация между демографическими и клиническими факторами у больных РЖ с генотипами полиморфных локусов rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) и rs13181 (*ERCC2*). Для этого оценена взаимосвязь возраста пациентов, морфологической структуры опухоли, типов ее роста по классификации Lauren и Borrmann и генотипов исследованных

генов. В табл. 2 представлены наиболее часто встречающиеся генотипы в разных возрастных группах.

Ассоциация генотипов rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) и rs13181 (*ERCC2*) с возрастом больных РЖ. Выявлена статистически значимая связь полиморфизма *ERCC1* rs3212986 с возрастом 41–50 и 61–70 лет. Так, у больных этих возрастных групп генотип CC полиморфного локуса *ERCC1* rs3212986 встречался в 28,3 и 57,8 % случаев соответственно, в контрольной группе – в 9,4 и 7,2 % соответственно (χ^2 -критерий = 11,01 и 8,21 соответственно; $p = 0,004$) (табл. 3).

Ассоциация генотипов rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) и rs13181 (*ERCC2*) с гистологическим типом опухоли. Мы выявили статистически значимые различия в распределении генотипов полиморфного локуса *ERCC2* rs13181 в зависимости от гистологического типа опухоли (табл. 4). Так, у больных с верифицированной низкодифференцированной аденокарциномой желудка частота встречаемости генотипов TG и TT составила 26 и 71,6 % соответственно, тогда как в контрольной группе – 50 и 46,7 % соответственно ($p = 0,027$; χ^2 -критерий = 7,205). Таким образом, можно предположить, что у пациентов с РЖ кыргызской этнической группы генотипы TG и TT полиморфного локуса *ERCC1* rs13181 ассоциированы с низкодифференцированной аденокарциномой.

Ассоциация генотипов rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) и rs13181 (*ERCC2*) с морфологическим типом опухоли по классификации Lauren. Мы также попытались выявить связь вариантов генотипов исследованных генов с типами роста опухоли по классификации Borrmann, морфологическими типами по классификации Lauren, а также с локализацией опухолевого процесса в различных анатомических областях желудка. Ассоциации вариантов генотипов rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) и rs13181 (*ERCC2*) с перечисленными клиническими характеристиками выявлено не было (табл. 5).

Таблица 2. Распределение наиболее часто встречающихся генотипов rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) и rs13181 (*ERCC2*) в зависимости от возраста пациентов с раком желудка

Table 2. Distribution of the most common genotypes rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) and rs13181 (*ERCC2*) among ages of patients with gastric cancer

Возраст, лет Age, years	Генотип Genotype		
	rs11615 (<i>ERCC1</i>)	rs3212986 (<i>ERCC1</i>)	rs13181 (<i>ERCC2</i>)
20–40	GA	CA	TG
41–50	GA	CC	TT
51–60	GA	CC	TT
61–70	GG	CC	TT
≥71	GG	CC	TG

Таблица 3. Распределение генотипов rs11615 (ERCC1), rs3212986 (ERCC1) и rs13181 (ERCC2) в зависимости от возраста больных ($n = 123$), n (%)

Table 3. Distribution of genotypes rs11615 (ERCC1), rs3212986 (ERCC1) and rs13181 (ERCC2) depending on the age of patients ($n = 123$), n (%)

Генотип Genotype	20–40 лет ($n = 7$) 20–40 years ($n = 7$)	41–50 лет ($n = 17$) 41–50 years ($n = 17$)	51–60 лет ($n = 46$) 51–60 years ($n = 46$)	61–70 лет ($n = 45$) 61–70 years ($n = 45$)	≥70 лет ($n = 8$) ≥70 years ($n = 8$)
rs11615 (ERCC1):					
GA	5 (71,4)	7 (41,2)	19 (41,3)	24 (53,3)	4 (50)
GG	2 (28,6)	8 (47,1)	21 (45,7)	13 (28,9)	2 (0,3)
AA	0	2 (12,8)	6 (13,0)	8 (17,8)	2 (0,3)
p	0,353	0,859	0,564	0,062	0,223
rs13181 (ERCC2):					
TG	3 (42,9)	6 (35,3)	14 (30,4)	14 (31,1)	5 (62,5)
TT	2 (28,6)	11 (67)	31 (67,4)	31 (68,9)	3 (37,5)
GG	2 (28,6)	0 (0)	1 (2,2)	0	0
p	0,094	0,048	0,454	0,779	0,444
rs3212986 (ERCC1):					
CA	5 (71,4)	4 (23,5)	19 (41,3)	13 (28,9)	2 (25)
CC	2 (28,6)	13 (28,3)	23 (50)	26 (57,8)	5 (62,5)
AA	0	0	4 (8,7)	6 (13,3)	1 (12,5)
p	0,0001*	0,004*	0,629	0,016*	0,472

*Здесь и в табл 4: различия статистически значимы ($p < 0,05$).

*Here and in table 4: differences are statistically significant ($p < 0.05$).

Таблица 4. Распределение генотипов rs11615 (ERCC1), rs3212986 (ERCC1) и rs13181 (ERCC2) в зависимости от гистологического типа опухоли, n (%)

Table 4. Distribution of rs11615 (ERCC1), rs3212986 (ERCC1) and rs13181 (ERCC2) genotypes depending on the tumor histological type, n (%)

Генотип Genotype	Низкодифференцированная аденокарцинома ($n = 81$) Poorly differentiated adenocarcinoma ($n = 81$)	Умеренно дифференцированная аденокарцинома ($n = 15$) Moderately differentiated adenocarcinoma ($n = 15$)	Высокодифференцированная аденокарцинома, слизистый рак, недифференцированный рак ($n = 9$) Well differentiated adenocarcinoma, mucosal cancer, undifferentiated cancer ($n = 9$)	Перстневидно-клеточный рак ($n = 18$) Pearl cell carcinoma ($n = 18$)
rs11615 (ERCC1):				
AA	11 (14)	2 (13)	2 (22)	3 (17)
GA	36 (44)	4 (27)	5 (56)	4 (22)
GG	34 (42)	9 (60)	2 (22)	11 (61)
p	0,349	0,460	0,342	0,243
rs13181 (ERCC1):				
GG	2 (2)	0	1 (11)	0
TG	21 (26)	8 (44)	4 (44)	9 (50)
TT	58 (72)	7 (46)	4 (44)	9 (50)
p	0,027*; χ^2 -критерий = 7,205 χ^2 -test = 7.205	0,221	0,146	0,263
rs3212986 (ERCC2):				
AA	6 (7)	2 (13)	1 (0)	2 (11)
CA	29 (36)	6 (40)	2 (33)	6 (33)
CC	46 (57)	7 (46)	6 (67)	10 (56)
p	0,706	0,682	0,706	0,938

Таблица 5. Распределение генотипов rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) и rs13181 (*ERCC2*) в зависимости от типов рака желудка по классификации Lauren, n (%)Table 5. Distribution of rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) and rs13181 (*ERCC2*) genotypes depending on the morphological classification of gastric cancer according to Lauren classification, n (%)

Генотип Genotype	Кишечный тип (n = 83) Intestinal type (n = 83)	Диффузный тип (n = 23) Diffuse type (n = 23)	Смешанный тип (n = 17) Mixed type (n = 17)
rs11615 (<i>ERCC1</i>):			
AA	11 (13)	4 (17)	3 (18)
GA	37 (45)	8 (35)	4 (23)
GG	35 (42)	11 (48)	10 (59)
<i>p</i>	0,300	0,834	0,332
rs3212986 (<i>ERCC1</i>):			
AA	7 (8)	2 (9)	2 (12)
CA	29 (35)	8 (35)	6 (35)
CC	47 (57)	13 (56)	9 (53)
<i>p</i>	0,957	0,998	0,899
rs13181 (<i>ERCC2</i>):			
GG	2 (3)	1 (4)	0
TG	27 (32)	10 (44)	5 (29)
TT	54 (65)	12 (52)	12 (71)
<i>p</i>	0,858	0,425	0,680

В данном исследовании мы попытались выяснить, являются ли определенные варианты генотипов генов *ERCC1* и *ERCC2* факторами риска развития РЖ в кыргызской популяции. Для этого проведено сравнение частоты встречаемости генотипов полиморфных локусов *ERCC1* rs11615, *ERCC1* rs3212986 и *ERCC2* rs13181 в группах РЖ и контроля (табл. 6, 7).

Анализ ОШ генотипов и аллелей показал статистически значимые различия в частоте встречаемости

генотипа rs3212986CA и аллеля rs3212986A гена *ERCC1* между основной (ОШ 0,47; 95 % ДИ 0,28–0,78) и контрольной (ОШ 0,67; 95 % ДИ 0,46–0,99) группами ($p = 0,046$).

Полученные результаты позволяют предположить, что генотип CA и аллель А полиморфизма rs3212986 (*ERCC1*) могут обладать протективным эффектом, снижать риск развития РЖ в кыргызской популяции.

Таблица 6. Частота встречаемости генотипов rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) и rs13181 (*ERCC2*) в группах рака желудка (РЖ) и контроля, n (%)Table 6. Frequency of occurrence of genotypes rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) and rs13181 (*ERCC2*) in the stomach cancer (SC) and the control groups, n (%)

Полиморфизм (ген) Polymorphism (gene)	Генотип Genotype	РЖ (n = 123) SC (n = 123)	Контрольная группа (n = 138) Control group (n = 138)
rs11615 (<i>ERCC1</i>)	AA	14 (18)	9 (12)
	GA	39 (48)	41 (57)
	GG	46 (57)	50 (69)
rs3212986 (<i>ERCC1</i>)	AA	9 (11)	8 (11)
	CA	35 (43)	53 (73)
	CC	56 (70)	39 (54)
rs13181 (<i>ERCC2</i>)	GG	2 (3)	3 (4)
	TG	35 (43)	33 (46)
	TT	63 (77)	64 (88)

Таблица 7. Ассоциация генотипов *ERCC1* и *ERCC2* с риском развития рака желудка в кыргызской популяции**Table 7.** Association of *ERCC1* and *ERCC2* genotypes with the risk of developing gastric cancer in the Kyrgyz population

Полиморфизм (ген) Polymorphism (gene)	Генотип Genotype	Отношение шансов Odds ratio	95 % доверительный интервал 95 % confidence interval
rs11615 (<i>ERCC1</i>)	AA	1,78	0,83–3,89
	GA	0,93	0,57–1,54
	GG	0,85	0,51–1,38
	A	1,25	0,86–1,82
	G	0,79	0,54–1,15
rs3212986 (<i>ERCC1</i>)	AA	1,12	0,48–2,58
	CA	0,47	0,28–0,78
	CC	2,01	1,22–3,26
	A	0,67	0,46–0,99
	C	1,47	1,00–2,15
rs13181 (<i>ERCC2</i>)	GG	0,83	0,20–3,14
	TG	1,06	0,63–1,77
	TT	0,96	0,58–1,58
	G	1,01	0,64–1,56
	T	0,98	0,63–1,53

ОБСУЖДЕНИЕ

ERCC1 — ключевой ген системы нуклеотидной эксцизионной репарации ДНК. Полиморфизмы rs11615 и rs3212986 гена *ERCC1*, а также rs13181 гена *ERCC2* относятся к однонуклеотидным полиморфизмам (SNP), кодирующим белки, участвующие в механизме нуклеотидной эксцизионной репарации ДНК [10].

Полиморфизм *ERCC1* rs11615 (Asn118Asn) является синонимичной заменой (C>T) и не приводит к изменению аминокислотной последовательности (аспарагин → аспарагин), однако оказывает влияние на уровень экспрессии матричной РНК (мРНК) и белка. При полиморфизме *ERCC1* rs3212986 происходит замена лизина на глутамин (Lys → Gln), что может снижать стабильность мРНК [11].

Полиморфизм *ERCC2* rs13181 (Lys751Gln) представляет собой миссенс-мутацию (A>C), при которой лизин в позиции 751 заменяется на глутамин. Данная замена снижает эффективность геликазной активности белка, что приводит к нарушению репарации ДНК, накоплению мутаций и развитию геномной нестабильности [12, 13].

В ходе данного исследования проведен комплексный анализ прогностической значимости полиморфизмов генов репарации ДНК *ERCC1* (rs11615,

rs3212986) и *ERCC2* (rs13181) у больных РЖ кыргызской этнической группы. Полученные результаты демонстрируют значимую ассоциацию демографических и клинических факторов с генотипами полиморфных локусов rs11615 (*ERCC1*), rs3212986 (*ERCC1*) и rs13181 (*ERCC2*), а также связь между однонуклеотидными полиморфизмами генов и риском развития РЖ в кыргызской популяции, что подчеркивает важность генетических факторов в патогенезе этого злокачественного заболевания.

Особого внимания заслуживает выявленная статистически значимая связь между генотипом CC полиморфного локуса *ERCC1* rs3212986 и возрастом пациентов 41–50 и 61–70 лет. Частота встречаемости этого генотипа в основной группе была значительно выше, чем в контрольной группе, что указывает на возможное влияние варианта CC на предрасположенность к РЖ у больных данных возрастных категорий. Вышесказанное согласуется с тем, что *ERCC1* является ключевым компонентом системы NER, отвечающим за устранение повреждений ДНК и поддержание геномной стабильности. Нарушения функции этого гена, обусловленные полиморфизмами, могут приводить к накоплению мутаций и ускоренному канцерогенезу [14].

Старение является основным фактором риска развития рака; большинство злокачественных опухолей диагностируют у пациентов старше 60 лет [15]. В последнее время одним из факторов, способствующих возникновению возрастных заболеваний, считается геномная нестабильность, возникающая из-за неразрешенного накопления вариантов ДНК [16]. Так, по мнению М. Mahmoudi и соавт., сосудистая и эндотелиальная дисфункции усиливаются с возрастом; выдвинута гипотеза о том, что ключевым фактором риска развития и прогрессирования возрастных заболеваний (сердечно-сосудистых, цереброваскулярных и онкологических) является постепенное увеличение неразрешенных вариантов ДНК [17]. D.F. Giachino и соавт. не обнаружили связи генотипов гена *ERCC2* с такими характеристиками, как возраст, статус курения, пол, общее состояние здоровья, гистологическая структура опухоли и стадия заболевания при раке легкого [18]. Таким образом, данные литературы свидетельствуют о неоднозначной роли белков системы NER, в частности *ERCC1* и *ERCC2*, в патогенезе солидных опухолей и формировании лекарственной устойчивости [16–19]. При различных нозологических формах выявлена выраженная гетерогенность эффектов, которая не может быть объяснена исключительно биологическими особенностями опухолей.

Особый интерес представляет полиморфизм rs3212986 (C8092A) гена *ERCC1*, влияние которого характеризуется высокой вариабельностью. Так, при немелкоклеточном раке легкого в иранской популяции, а также при раке пищевода у итальянских пациентов генотипы AA и CA были ассоциированы с высоким риском развития заболевания и снижением показателей общей выживаемости [19, 20]. В то же время результаты метаанализа китайских исследований, посвященных РЖ, а также описания клинических наблюдений диагностики и лечения рака молочной железы в популяции Буркина-Фасо не подтверждают наличия статистически значимой связи между данным полиморфизмом и риском развития рака или прогнозом выживаемости [20, 21].

Выявленная гетерогенность указывает на то, что прогностический и предиктивный потенциалы генетических маркеров системы NER в значительной степени определяется этническими особенностями популяций и характером канцерогенного воздействия. В частности, ассоциация rs3212986 с риском развития рака легкого наиболее выражена у курящих пациентов, что свидетельствует о специфическом взаимодействии генотипа с экзогенными ДНК-повреждающими агентами [19, 22].

Одной из ключевых проблем, выявленных в ходе анализа литературы, является отсутствие воспроизводимой корреляции генетических полиморфизмов с уровнем экспрессии мРНК и фактическим содержанием белка *ERCC1* в опухолевой ткани. Результаты экспериментальных исследований на клеточных ли-

ниях рака яичников демонстрируют, что повышенная экспрессия гена *ERCC1* ассоциирована с резистентностью к платиносодержащим препаратам за счет более эффективного удаления платиновых ДНК-аддуктов [23]. Однако необходимо учесть, что при экстраполяции этих данных в клиническую практику наблюдается ряд методологических трудностей. Несмотря на то что белки *ERCC1* и *ERCC2* остаются биологически обоснованными кандидатами на роль предикторов эффективности платиносодержащей химиотерапии, их внедрение требует строгой стандартизации аналитических подходов.

Данное исследование имеет несколько ограничений. Во-первых, относительно небольшой размер выборки пациентов с РЖ и однородность этнической группы снижают статистическую мощность при анализе подгрупп, что ограничивает обобщаемость полученных результатов. Для подтверждения и расширения полученных данных необходимы дальнейшие крупномасштабные исследования с участием различных этнических групп, а также функциональные молекулярные исследования, направленные на уточнение механизмов влияния полиморфизмов *ERCC1* и *ERCC2* на развитие и прогрессирование РЖ. Во-вторых, мы сконцентрировали внимание только на изучении генетических факторов предрасположенности к данной патологии. При этом такие важные прогностические параметры, как общая выживаемость и выживаемость без прогрессирования, не были учтены, что подчеркивает необходимость их анализа и связи с генетическими факторами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что с увеличением возраста пациентов повышается частота выявления РЖ. Возраст большинства обследованных больных с данной патологией (74 % случаев) составил от 51 до 70 лет. У 65,9 % пациентов диагностирована низкодифференцированная аденокарцинома желудка. Выявлена статистически значимая ассоциация генотипа CC полиморфного локуса *ERCC1* rs3212986 с возрастом 41–50 и 61–70 лет, также генотипов TG и TT полиморфного локуса *ERCC2* rs13181 с низкодифференцированным РЖ в кыргызской популяции.

Отсутствие статистически значимых ассоциаций исследуемых генотипов с морфологическими типами опухоли и локализацией новообразования свидетельствует о специфичности влияния полиморфизмов *ERCC1* и *ERCC2* на отдельные клинические характеристики заболевания. Это согласуется с многофакторным характером патогенеза РЖ, при котором генетические факторы действуют совместно с экологическими и эпигенетическими детерминантами.

Полученные данные имеют большое практическое значение для разработки персонализированных подходов к диагностике и лечению РЖ в кыргызской популяции. Идентификация генетических маркеров

риска позволит более точно прогнозировать течение заболевания и выбирать оптимальные терапевтические стратегии, включая оценку чувствительности к химиотерапии, механизм действия которых связан с повреждением ДНК и активацией репарационных путей.

В целом выявлена значимость полиморфизмов генов *ERCC1* и *ERCC2* как перспективных биомаркеров для оценки риска возникновения и прогноза РЖ, что открывает новые возможности для персонализированной терапии онкологических пациентов.

Л и т е р а т у р а / R e f e r e n c e s

1. Global Cancer Observatory. International Agency for Research on Cancer. Available at: <https://gco.iarc.fr/today/>.
2. Theuer C.P. Asian gastric cancer patients at a southern California comprehensive cancer center are diagnosed with less advanced disease and have superior stage-stratified survival. *Am Surg* 2000;66:821–6.
3. Schwarz R.E., Zagala-Nevarez K. Ethnic survival differences after gastrectomy for gastric cancer are better explained by factors specific for disease location and individual patient comorbidity. *Eur J Surg Oncol* 2002;28:214–9. DOI: 10.1053/ejso.2001.1234
4. Бисултанова З.И., Бисултанова З.Р., Джамбетова П.М. Анализ полиморфных вариантов генов эксцизионной репарации у женщин с раком молочной железы в чеченской популяции. Молекулярная и прикладная генетика 2016;21:99–106. Bisultanova Z.I., Bisultanova Z.R., Dzhambetova P.M. Analysis of polymorphic variants of excision repair genes in women with breast cancer in the Chechen population. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika* = Molecular and Applied Genetics 2016;21:99–106. (In Russ.).
5. Кошель А.П., Севостьянов Н.В., Клоков С.С. и др. Роль полиморфизма генов эксцизионной репарации ДНК и генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков в ранней диагностике рака желудка. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2010;3(4):339–43. Koshel A.P., Sevostyanov N.V., Klokov S.S. et al. The role of polymorphism of DNA excision repair genes and genes of xenobiotic biotransformation enzymes in early diagnosis of gastric cancer. *Vestnik eksperimental'noy i klinicheskoy khirurgii* = Bulletin of Experimental and Clinical Surgery 2010;3(4):339–43. (In Russ.).
6. Георгиев Г.П. Молекулярно-генетические механизмы прогрессии опухолей. Соросовский образовательный журнал (биология) 2000;11:17–22. Georgiev G.P. Molecular-genetic mechanisms of tumor progression. *Sorosovskiy obrazovatel'ny zhurnal (biologiya)* = Soros Educational Journal (Biology) 2000;11:17–22. (In Russ.).
7. Имянитов Е.Н., Калиновский В.П., Князев П.Г. Молекулярная генетика опухолей человека. Вопросы онкологии 1997;43(2):95–101. Imyanitov E.N., Kalinovskiy V.P., Knyazev P.G. Molecular genetics of human tumors. *Voprosy onkologii* = Issues of Oncology 1997;43(2):95–101. (In Russ.).
8. Семетей К.А., Макимбетов Э.К., Исакова Ж.Т. и др. Ассоциация генов *XRCC1*, *HMMR* с развитием рака молочной железы в кыргызской популяции. Злокачественные опухоли 2018;8(4):45–9. DOI: 10.18027/2224-5057-2018-8-4-45-49 Semetey K.A., Makimbetov E.K., Isakova Zh.T., Kudaibergenova I.O. et al. Association of *XRCC1*, *HMMR* genes with the development of breast cancer in the Kyrgyz population. *Zlokachestvennyye opukholi* = Malignant Tumors 2018;8(4):45–9. (In Russ.). DOI: 10.18027/2224-5057-2018-8-4-45-49
9. Benhmou S., Sarasin A. Variability in nucleotide excision repair and cancer risk: a review. *Mutat Res* 2000;462(2–3):149–58. DOI: 10.1016/S1383-5742(00)00032-6
10. Речкунова Н.И., Красикова Ю.С., Лаврик О.И. Интерактом систем репарации оснований и нуклеотидов. Молекулярная биология 2021;55(2):181–93. DOI: 10.31857/S0026898421020129 Rechkunova N.I., Krasikova Yu.S., Lavrik O.I. Interactome of base and nucleotide repair systems. *Molekulyarnaya biologiya* = Molecular Biology 2021;55(2):181–93. (In Russ.). DOI: 10.31857/S0026898421020129
11. Shokrzadeh M., Mohammadpour A., Tabari Y., Almani S. Investigating the distribution of *ERCC2* (rs13181) gene polymorphism in gastric cancer patients in Mazandaran: a case-control study. *J Genet Resour* 2017;3(1):54–60. DOI: 10.22080/jgr.2018.13345.1078
12. Zhang J., Gu S.Y., Zhang P. et al. *ERCC2* Lys751Gln polymorphism is associated with lung cancer among Caucasians. *Eur J Cancer* 2010;46:2479–84. DOI: 10.1016/j.ejca.2010.05.008
13. Zhou C.X., Zhao J.H. Systematic review on the association between *ERCC1* rs3212986 and *ERCC2* rs13181 polymorphisms and glioma risk. *Genet Mol Res* 2015;14(1):2868–75. DOI: 10.4238/2015.March.31.17
14. Шапошников М.В., Прошкина Е.Н., Шилова Л.А., Москалев А.А. Роль репарации повреждений ДНК в долголети. М., 2015. 164 с. Shaposhnikov M.V., Proshkina E.N., Shilova L.A., Moskalov A.A. The role of DNA damage repair in longevity. Moscow, 2015. 164 p. (In Russ.).
15. Edwards B.K., Noone A.M., Mariotto A.B. et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975–2010, featuring prevalence of comorbidity and impact on survival among persons with lung, colorectal, breast, or prostate cancer. *Cancer* 2014;120:1290–314. DOI: 10.1002/cncr.28509
16. De Majo F., Martens L., Hegenbarth J. et al. Genomic instability in the naturally and prematurely aged myocardium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2021;118(36):E2022974118. DOI: 10.1073/pnas.2022974118
17. Mahmoudi M., Mercer J., Bennett M. DNA damage and repair in atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2006;71(2):259–68. DOI: 10.1016/j.cardiores.2006.03.002
18. Giachino D.F., Ghio P., Regazzoni S. et al. Prospective assessment of *XPB* Lys751Gln and *XRCC1* Arg399Gln single nucleotide polymorphisms in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2007;13(10):2876–81. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2543
19. Khalouei A., Masoumi-Ardakani Y., Jafarzaheh A. et al. Association of *ERCC1* gene polymorphisms (rs3212986 and rs11615) with the risk of lung cancer in a population from Southeast Iran. *J Res Health Sci* 2024;24(4):e00631. DOI: 10.34172/jrhrs.2024.166
20. Boldrin E., Malacrida S., Rumiato E. et al. Association between *ERCC1* rs3212986 and *ERCC2/XPB* rs1799793 and OS in patients with advanced esophageal cancer. *Front Oncol* 2019 Feb 21;9:85. DOI: 10.3389/fonc.2019.00085
21. Tang W., Wang H., Wang Y., Wang X. *ERCC1* rs3212986 A/C polymorphism is not associated with chemotherapy treatment outcomes in gastric cancer patients: evidence from 11 publications in Chinese populations. *Onco Targets Ther* 2017;11:1–8. DOI: 10.2147/OTT.S148214
22. Adico M.D.W., Zouré A.A., Sombié H.K. et al. Involvement of *ERCC1* (rs3212986) and *ERCC2* (rs1799793, rs13181) polymorphisms of DNA repair genes in breast cancer occurrence in Burkina Faso. *Mol Genet Genomic Med* 2023;11(4):e2134. DOI: 10.1002/mgg3.2134
23. Богущ Т.А., Попова А.С., Дудко Е.А. и др. *ERCC1* как маркер резистентности рака яичников к препаратам платины. Антибиотики и химиотерапия 2015;60(3–4):42–50. Bogush T.A., Popova A.S., Dudko E.A. et al. *ERCC1* as a marker of ovarian cancer resistance to platinum drugs. *Antibiotiki i khimioterapiya* = Antibiotics and Chemotherapy 2015;60(3–4):42–50. (In Russ.).

Вклад авторов

Н.Д. Бакиров: разработка концепции и дизайна исследования, сбор и обработка данных, написание текста статьи, редактирование;
Ж.Т. Исакова: разработка концепции и дизайна молекулярно-генетического исследования, редактирование;
Б.Б. Тайлаков, А.К. Тойгонбеков: верификация диагноза, редактирование;
В.Н. Кипень: разработка дизайна молекулярно-генетического анализа;
Э.Э. Омурбаев: разработка дизайна исследования;
Р.А. Рамалданов: разработка дизайна исследования, сбор и обработка данных, написание текста статьи.

Authors' contributions

N.D. Bakirov: development of the research concept and design, data collection and processing, article writing, editing;
Zh.T. Isakova: development of the concept and design of the molecular genetic study, editing;
B.B. Tailakov, A.K. Toygonbekov: verification of the diagnosis, editing;
V.N. Kipen: development of the design of the molecular genetic analysis;
E.E. Omurbaev: research design development;
R.A. Ramaldanov: research design development, data collection and processing, article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Н.Д. Бакиров / N.D. Bakirov: <https://orcid.org/0000-0002-9240-8542>
Ж.Т. Исакова / Zh.T. Isakova: <https://orcid.org/0000-0002-3681-6939>
Б.Б. Тайлаков / B.B. Tailakov: <https://orcid.org/0009-0009-2270-4547>
В.Н. Кипень / V.N. Kipen: <https://orcid.org/0000-0002-7822-0746>
А.К. Тойгонбеков / A.K. Toygonbekov: <https://orcid.org/0000-0001-7937-2330>
Э.Э. Омурбаев / E.E. Omurbaev: <https://orcid.org/0000-0002-8471-0813>
Р.А. Рамалданов / R.A. Ramaldanov: <https://orcid.org/0000-0002-0891-6123>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Funding. The work was performed without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен этическим комитетом Национального центра онкологии и гематологии Министерства здравоохранения Кыргызской Республики.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The research protocol was approved by the ethics committee of the National Center of Oncology and Hematology, Ministry of Kyrgyz Republic.

All patients signed an informed consent to participate in the study.