

ИССЛЕДОВАНИЕ МИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В КЛЕТКЕ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С ПОМОЩЬЮ ПРОГРАММНОГО КОМПЛЕКСА ONCOFINDER

М. Б. Корзинкин — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», научный сотрудник; **Ф. Ю. Смирнов** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», инженер; **Л. С. Венкова** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», инженер; **А. В. Крупнов** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», инженер-физик; **Н. Б. Кузьмина** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», инженер; **Б. Г. Жестков** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», инженер; **Е. Н. Иванова** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», заведующий лабораторией; **А. А. Буздин** — Институт биоорганической химии РАН им. М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова, заведующий лабораторией, профессор, доктор биологических наук; **Н. М. Борисов** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», заведующий лабораторией, доктор технических наук.

STUDIES OF PATHOLOGICAL CHANGES IN MITOGENETIC SIGNAL PATHWAYS IN CELLS IN CANCER PATIENTS USING ONCOFINDER SOFTWARE PACKAGE

M. B. Korzinkin — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, research scientist; **Ph. Yu. Smirnov** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, engineer; **L. S. Venkova** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, engineer; **A. V. Krupnov** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, engineer-physicist; **N. B. Kuzmina** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, engineer; **B. G. Zhestkov** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, engineer; **E. N. Ivanova** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Head of laboratory; **A. A. Buzdin** — RAS Institute of Bioorganic Chemistry, Head of laboratory, Professor, Doctor of Biological Sciences; **N. M. Borisov** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnasyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Head of laboratory, Doctor of Engineering Sciences.

Дата поступления — 18.11.2013 г.

Дата принятия в печать — 16.12.2013 г.

Корзинкин М.Б., Смирнов Ф.Ю., Венкова Л.С., Крупнов А.В., Кузьмина Н.Б., Жестков Б.Г., Иванова Е.Н., Буздин А.А., Борисов Н.М. Исследование митогенетических сигнальных путей в клетке у онкологических больных с помощью программного комплекса OncoFinder // Саратовский научно-медицинский журнал. 2013. Т. 9, № 4. С. 775–780.

Хотя основные участники множества митогенетических, про- и антиапоптотических и др. сигнальных путей в клетке подробно исследовались в последние десятилетия, конкретные патологические изменения в этих сигнальных путях у индивидуальных раковых больных до настоящего времени исследованы не были. В данной статье мы предлагаем новый метод исследования влияния онкологического заболевания на интенсивность про- и антимитотических сигналов. В рамках этого подхода биоптат злокачественной опухоли индивидуального больного сначала исследуют с помощью микрочипового анализа мРНК, определяя относительные (по сравнению с нормой для аналогичной ткани / органа в аналогичной популяции) уровни экспрессии нескольких тысяч генов. Затем вычисляют и анализируют уровни патологических изменений в десятках митогенетических сигнальных путей.

Ключевые слова: онкология, клеточные сигнальные пути, мРНК, биоинформатика.

Korzinkin M. B., Smirnov Ph. Yu., Venkova L. S., Krupnov A. V., Kuzmina N. B., Zhestkov B. G., Ivanova E. N., Buzdin A. A., Borisov N. M. Studies of pathological changes in mitogenetic signal pathways in cells in cancer patients using OncoFinder software package // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2013. Vol. 9, № 4. P. 775–780.

Although the basic components of a plethora of mitogenic, pro- and antiapoptotic etc. signaling pathways had been thoroughly studied and summarized during a couple of past decades, the particular pattern of changes for a given cancer patient has not yet been at the focus of a special research until now. Here we suggest the possible method of

the examination of the different malignant processes influencing the intensity of pro- and anti-mitotic signaling. According to our approach, first the tumor sample (that is taken from an individual patient) is studied using mRNA microarray technique, when the expression levels (normalized by the averaged value for the same intact organ/tissue for the same population) for several thousands of genes in the malignant cells is measured. Second, these expression levels are used to calculate the summarized values of pathological changes in mitogenic signaling pathways.

Key words: oncology, cell signaling pathways, mRNA, bioinformatics.

Введение. Как исследователи, так и клиницисты-практики неоднократно отмечали в последние годы, что назначение таргетных препаратов (таких, как моноклональные антитела — мабы, или ингибиторы киназ — нибы) онкологическим пациентам по неполным данным об уровне экспрессии отдельных белков-онкогенов может оказаться неэффективным из-за неучета большого количества других онкогенов и онкосупрессоров, которые могут нейтрализовать терапевтическое действие назначенного препарата [1–3]. С другой стороны, в настоящее время в практике научно-клинических исследований утвердились различные методы исследования совокупности матричной РНК (транскриптома) в клетках [4–9], которые позволяют получить информацию об относительном по сравнению с нормой уровне экспрессии многих тысяч генов у индивидуальных онкологических больных.

Результаты такого обследования мРНК могут быть обработаны путем расчета [10–12] количественных показателей патологических изменений в про- и антимитотических сигнальных путях у каждого пациента, что может позволить прогнозировать способность таргетных противоопухолевых препаратов компенсировать эти изменения и останавливать клеточную пролиферацию.

Цель работы: создание и апробация методов, алгоритмов и программного обеспечения для решения данной задачи.

Материал и методы. Объектом исследования являлись патологические изменения в про- и антимитотических сигнальных путях у онкологических больных, а также способность противоопухолевых препаратов компенсировать эти изменения и подавлять клеточную пролиферацию. Исходными данными, которые могут быть использованы для оценки этих изменений, являются результаты микрочипового обследования транскриптома биоптата как злокачественных опухолей индивидуальных пациентов, так и аналогичных нормальных органов и тканей.

Нами разработан программный комплекс OncoFinder, который при математической обработке использует следующее допущение: для каждого из белков-переносчиков сигнала в каскаде уровень экспрессии в состоянии покоя является много меньшим, чем в состоянии активации (т.е. в состоянии покоя имеет место глубоконасыщенное состояние каждого из белков-переносчиков сигнала).

Таким образом, система OncoFinder рассматривает белки-переносчики сигнала в каждом сигнальном пути как имеющие потенциально равные возможности вызывать активацию/ингибирование путей. В рамках таких предположений на основе закона действующих масс может быть предложена следующая оценка патологических изменений в сигнальном пути (signal outcome, SO):

$$SO = \frac{\prod_{i=1}^N [AGEL]_i}{\prod_{j=1}^M [RGEL]_j}$$

В данной формуле умножение производится по всем присутствующим в пути генам-активаторам и ингибиторам сигнала. Величины $[AGEL]_i$ (activator gene expression level) и $[RGEL]_j$ (repressor gene expression level) — суть уровни экспрессии гена-активатора № i и № j соответственно. Проведем логарифмирование для перехода от мультипликативной величины к аддитивной относительной митогенетической значимости каскада (*pathway mitogenic strength*), служащей для оценки степени патологических изменений в сигнальном пути:

$$PMS_p = \sum_n ARR_{np} \cdot BTIF_n \cdot \lg(CNR_n)$$

Здесь CNR_n (*cancer (case) — to-normal ratio*) есть отношение уровней экспрессии гена, кодирующего белок n , у конкретного больного к норме (среднему значению у контрольной группы). Дискретная величина $BTIF$ (*beyond tolerance interval flag*) вычисляется как:

$$BTIF_n = \begin{cases} 0, & \text{значение } CNR_n \text{ в пределах} \\ & \text{доверительного интервала} \\ 1, & \text{значение } CNR_n \text{ вне пределов} \\ & \text{доверительного интервала} \end{cases}$$

Дискретная величина ARR (*activator/repressor role*) определяется следующим образом и помещается в базу данных митогенетических путей:

$$ARR_{np} = \begin{cases} -1; & \text{белок } n \text{ - репрессор сигнала } b \text{ пути } p \\ -0,5; & \text{белок } n \text{ - скорее репрессор сигнала } b \text{ пути } p \\ 0; & \text{нельзя сказать, что белок } n \text{ - репрессор или} \\ & \text{активатор сигнала } b \text{ пути } p \\ 0,5; & \text{белок } n \text{ - скорее активатор сигнала } n \text{ пути } p \\ 1; & \text{белок } n \text{ - активатор сигнала } b \text{ пути } p \end{cases}$$

Базы данных системы OncoFinder содержат следующую информацию:

- имена генов согласно международной номенклатуре и их роли (ARR) в активации сигнальных путей;
- названия узлов графов (диаграмм) взаимодействия белков в сигнальных путях, имена входящих в эти узлы генов, а также стрелки, показывающие взаимодействие (связывания, активацию, ингибирование) между ними — на основании данных портала SABiosciences компании Qiagen [13];
- информация о таргетных противоопухолевых препаратах (белки и гены-«мишени»), показания, противопоказания и др.

Для апробации программного комплекса OncoFinder мы использовали наборы данных по ре-

Ответственный автор — Борисов Николай Михайлович
Адрес: 123182, г. Москва, ул. Живописная, д. 46.
Тел. +79032187261
E-mail: N.Borisov@fmbcfmba.ru

зультатам экспрессии генов у онкологических больных, а также в нормальных тканях, депонированные в свободном доступе на интернет-портале Gene Expression Omnibus (GEO) [14]. Для каждого из наборов данных, содержащих результаты обследования многих пациентов, мы анализировали средние значения вычисленных с помощью программы OncoFinder величин, а также их стандартные отклонения.

Результаты.

Анализ влияния локализации и типа онкологического заболевания на митогенетические пути в клетке. С помощью программного комплекса OncoFinder для восьми онко- и гематологических нозологических форм проведен сравнительный анализ различий в патологических изменениях в 80 про- и антимитотических сигнальных путях. Процент сигнальных путей, для которых различие между средними значениями PMS патологических изменений в уровнях экспрессии генов-переносчиков сигнала превышает сумму стандартных отклонений для этой пары сигнальных путей, показан в табл. 1.

Верификация способности программного комплекса OncoFinder предсказывать клиническую эффективность противоопухолевых препаратов. Для предклинической верификации системы проведено сравнение результатов ее применения

для больных, у которых была ранее проверена клиническая эффективность применения противоопухолевого препарата трастузумаба (герцептина) для двух наборов [15–16] образцов биоптатов рака молочной железы. Анализом подлежали два предложенных нами способа предсказания клинической эффективности препарата. Одна из величин, обозначенная нами как Drug Score 1 (DS1), оценивает способность препарата компенсировать патологические изменения в про- и антимитотических сигнальных путях в злокачественных клетках. Другая, названная нами Drug Score 2 (DS2), оценивает способность препарата снижать митотическую (пролиферативную) активность злокачественных клеток. Результаты проверки сведены в табл. 2. Видна корреляция между более высокими значениями величин DS1 и DS2, с одной стороны, и большей клинической эффективностью трастузумаба, хотя диапазоны статистической неопределенности (стандартного отклонения) для этих величин частично перекрываются.

4. Обсуждение.

Проверка устойчивости (робастности) формулы для оценки патологических измерений в сигнальных путях. В расчетах величины PMS программа OncoFinder полагает одинаковую важность всех генов для активации митогенетических путей,

Таблица 1

Процент сигнальных путей, для которых различие между средними логарифмическими значениями патологических изменений в уровнях экспрессии генов-переносчиков сигнала превышает сумму стандартных отклонений для этой пары сигнальных путей

	Астроцитомы (n=13)	Рак мочевого пузыря (n=63)	Различ — ные опухоли мозга (n=9)	Хронический лимфолейкоз (n=10)	Различные опухоли головы и шеи (n=42)	Немелкоклеточный рак легкого (n=40)	Рак почки (n=58)	Рак кожи (n=9)
Астроцитомы	0	18	14	8	18	29	20	30
Рак мочевого пузыря	18	0	0	0	24	6	0	9
Различные опухоли мозга	14	0	0	3	5	48	4	4
Хронический лимфолейкоз	8	0	3	0	3	4	1	8
Различные опухоли головы и шеи	18	24	5	3	0	50	26	5
Немелкоклеточный рак легкого	29	6	48	4	50	0	48	60
Рак почки	20	0	4	1	26	48	0	10
Рак кожи	30	9	4	8	5	60	10	0

Таблица 2

Сравнение двух предиктивных показателей, DS1 и DS2, для клинической эффективности препарата трастузумаба (герцептина). Указаны средние значения и стандартные отклонения этих показателей

Изученные параметры	Количество больных и вариационно-статистические показатели	
	Набор №42822 [15]	Набор № 37946 [16]
Число больных со значимыми клиническими улучшениями	12	27
Число больных без значимых клинических улучшений	11	21
DS1 для больных со значимыми клиническими улучшениями	210 ± 140	360 ± 150
DS1 для больных без значимых клинических улучшений	110 ± 80	320 ± 110
DS2 для больных со значимыми клиническими улучшениями	15 ± 3	13 ± 4
DS2 для больных без значимых клинических улучшений	10 ± 6	12 ± 5

Сигнальные пути больных колоректальным раком, наиболее измененные по истечении шести недель после лучевой терапии в 50 Гр (статистика по девяти больным)

Сигнальный путь	Характер изменений	Степень изменений
Cellular anti-apoptosis	Активация	Очень сильная (различие более трех стандартных отклонений)
Mitochondrial apoptosis	Ингибирование	
Androgen receptor	Активация	
cAMP	Активация	
CREB	Активация	
Estrogen	Активация	Сильная (различие более двух стандартных отклонений)
IP3	Активация	
JNK	Активация	
MAPK Signaling	Активация	
PPAR	Активация	
TGF beta ²	Активация	

что в большинстве практических случаев не вполне соответствует действительности. Мы провели стохастическую проверку данной гипотезы следующим образом. В расчетах для величины PMS встречается суммирование по генам логарифмов

$$\lg(CNR_n) = \lg\left(\frac{ELC_n}{ELN_n}\right),$$

где ELC_n — уровень экспрессии гена n у индивидуального ракового больного, а ELN_n — средний уровень экспрессии того же гена в норме у той же популяции. Во время этой проверки мы случайным образом возмущали (проведя 100 независимых испытаний) относительную важность каждого из генов для каждого из сигнальных путей с помощью логнормально распределенных весовых факторов w_n , каждый из которых вычисляли как

$$w_n = 2^{\xi_n},$$

где ξ_n — нормально распределенные случайные числа с математическим ожиданием $M=0$ и стандартным отклонением $\sigma=0.5$. Результаты такого стохастического теста показаны на рисунке.

Видно, что даже значительное возмущение весовых коэффициентов значимости генов для сигнальных путей не в состоянии замаскировать пропорциональность среднего значения возмущенных PMS от невозмущенных.

Проверка влияния лучевой терапии на митогенетические сигнальные пути. Действие не только таргетных противоопухолевых препаратов, но и, к примеру, ионизирующих излучений также изменяет активность многих клеточно-физиологических процессов. В частности, выживание клеток после облучения находится в прямой зависимости от активации репарации ДНК, а также ингибирования проапоптотических и пронекротических реакций [17]. Нами исследовано влияние лучевой терапии на митогенетические сигнальные пути для девяти пациентов с колоректальным раком, облученных в суммарной дозе 50 Гр за 20 фракций. По истечении шести недель после лучевой терапии, облученную опухоль удаляли хирургически, а уровни экспрессии различных генов исследовали с помощью установки ABI Human Genome Survey Microarray [18]. С помощью программного комплекса OncoFinder мы проанализи-

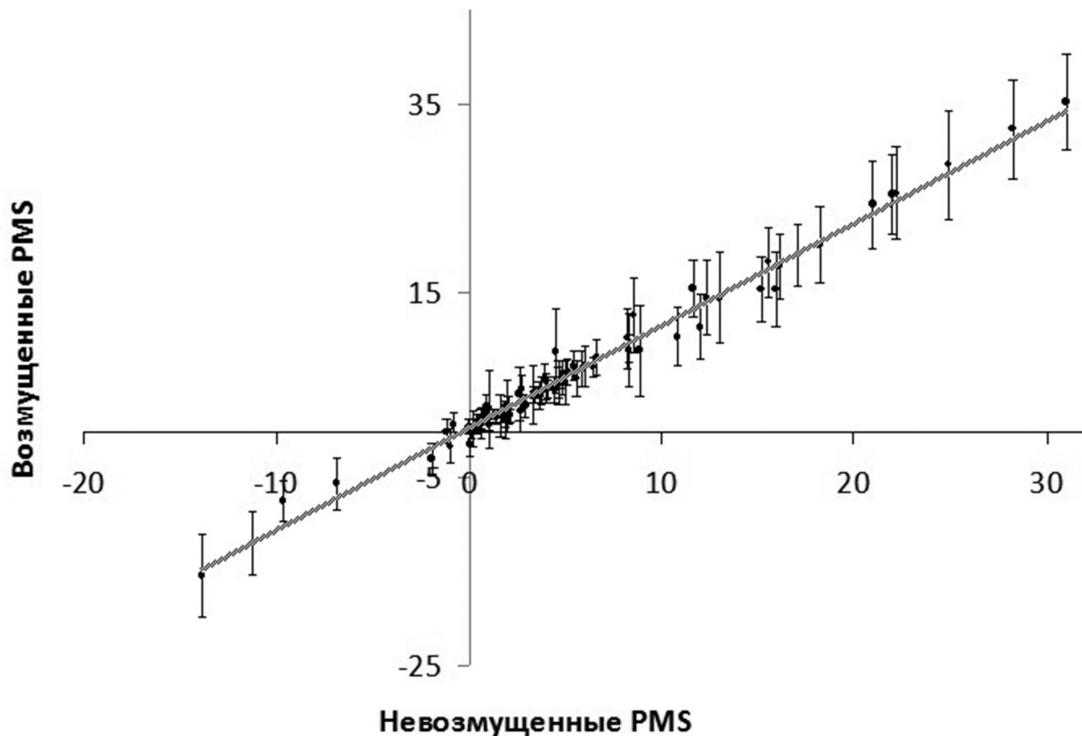
ровали влияние лучевой терапии на про- и антими-то- тические сигнальные пути. Наибольшую активацию лучевая терапия для данных больных оказывала, как и ожидалось, на антиапоптотические пути, наибольшее ингибирование — на апоптотические, значительно усиленными оказываются также гормональные пути и каскады семейства митогенактивированных протеинкиназ, которые тоже можно рассматривать как положительные «таргеты» лучевой терапии.

Закключение. Нами предложен новый способ оценки патологических изменений в сигнальных путях у онкологических больных, а также способности противоопухолевых препаратов компенсировать эти изменения и останавливать клеточную пролиферацию. Данный метод, основанный на математической обработке результатов микрочипового исследования мРНК (транскриптома) биоптата опухолей, реализован в виде программного комплекса OncoFinder. Показана способность программы OncoFinder определять сигнальные пути — маркеры некоторых локализаций и типов онкологических заболеваний, продемонстрирована положительная корреляция между оцененной с помощью данной программы способности снижать активность митогенетических путей и улучшением в клиническом состоянии больных, подтверждено свойство лучевой терапии активировать промитотические, в особенности антиапоптотические, пути и ингибировать проапоптотические.

Конфликт интересов. Данное исследование проведено в рамках госбюджетного финансирования НИОКР ФМБА России в 2011–2013 гг. Конфликты интересов отсутствуют.

Библиографический список

1. Таргетная терапия рака молочной железы (новые направления) / В. Ф. Семиглазов, Г. А. Дашян, В. В. Семиглазов [и др.] // Фарматека. 2011. № 7. С. 14–20.
2. Жуков Н. В., Тюляндин С. А. Целевая терапия в лечении солидных опухолей: практика противоречит теории // Биохимия. 2008. Т. 73. № 5. С. 751–768.
3. Giezen T. J., Mantel-Teeuwisse A. K., Strauss S., Schellekens H. Safety-related regulatory actions for biologicals approved in the United States and the European Union // JAMA. 2008. Vol. 300. P. 1887–1896.
4. Bustin S. A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays // Journal of Molecular Endocrinology. 2000. Vol. 25. P. 169–193.
5. Studencki A. B., Conner B. J., Impraim C. C., Teplitz R. L., Wallace R. B. Discrimination among the human beta A, beta



Зависимость значений возмущенных PMS, рассчитанных в ходе 100 независимых случайных испытаний с логнормально распределенными весовыми факторами w_p важности каждого гена для активации каждого митогенетического сигнального пути, от невозмущенных значений для тех же путей. Для возмущенных значений PMS показаны как средние значения, так и стандартные отклонения

S, and beta C-globin genes using allele-specific oligonucleotide hybridization probes // *Am. J. Hum. Genet.* 1985. Vol. 37. P. 42–51.

6. Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries / L. Diatchenko, Y. Lau, A. Campbell [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. Vol. 93. P. 6025–6030.

7. Enzymatic production of RNAi libraries from cDNAs / D. Shirane, K. Sugao, S. Namiki [et al.] // *Nature Genetics.* 2004. Vol. 36. P. 190–196.

8. Black D.L. Mechanisms of alternative pre-messenger RNA splicing // *Annual Reviews of Biochemistry.* 2003. Vol. 72. P. 291–336.

9. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes / S. B. Ng, E. H. Turner, P. D. Robertson [et al.] // *Nature.* 2009. Vol. 461. P. 272–276.

10. Scaffolding protein GAB1 sustains epidermal growth factor-induced mitogenic and survival signaling by multiple positive feedback loops / A. Kiyatkin, E. Aksamitiene, N. I. Markevich [et al.] // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281. P. 19925–19938.

11. Systems-level interactions between insulin-EGF networks amplify mitogenic signaling / N. Borisov, E. Aksamitiene, A. Kiyatkin [et al.] // *Mol. Syst. Biol.* 2009. Vol. 5, article number 256.

12. Kuzmina N.B., Borisov N.M. Handling complex rule-based models of mitogenic cell signaling (On the example of ERK activation upon EGF stimulation) // *Intl. Proc. Chem. Biol. Envir. Engng.* 2011. Vol. 5. P. 76–82.

13. SABiosciences, a Qiagen company. URL: <http://www.sabiosciences.com/pathwaycentral.php> (дата обращения: 20.11.2013).

14. GEO Profiles, a National Center of Biotechnology Information database. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/profiles/> (дата обращения: 20.11.2013).

15. Cell line derived multi-gene predictor of pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: a validation study on US Oncology 02–103 clinical trial / K. Shen, Y. Qi, N. Song [et al.] // *BMC Med. Genomics.* 2012. Vol. 4, article number 51.

16. Seventeen-gene signature from enriched Her²/Neu mammary tumor-initiating cells predicts clinical outcome for human HER2+ER α -breast cancer / J. C. Liu, V. Voisin, G. D. Bader [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 109. P. 5832–5837.

17. Van der Kogel A., Joiner M. Basic Clinical Radiobiology. Fourth edition. Oxford university press, 2009.

18. New specific molecular targets for radio-chemotherapy of rectal cancer / K. Snipstad, C. G. Fenton, J. Kjaeve [et al.] // *Mol. Oncol.* 2010. Vol. 4. P. 52–64.

Translit

1. Targetnaja terapija raka molochnoj zhelezy (novye napravlenija) / V.F. Semiglavov, G.A. Dashjan, V.V. Semiglavov [i dr.] // *Farmateka.* 2011. № 7. S. 14–20.

2. Zhukov N.V., Tjuljandin S. A. Celevaja terapija v lechenii solidnyh opuholej: praktika protivorechit teorii // *Biohimija.* 2008. T. 73. № 5. S. 751–768.

3. Giezen T. J., Mantel-Teeuwisse A. K., Strauss S., Schellekens H. Safety-related regulatory actions for biologicals approved in the United States and the European Union // *JAMA.* 2008. Vol. 300. P. 1887–1896.

4. Bustin S. A. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays // *Journal of Molecular Endocrinology.* 2000. Vol. 25. P. 169–193.

5. Studencki A. B., Conner B. J., Impraim C. C., Teplitz R. L., Wallace R. B. Discrimination among the human beta A, beta S, and beta C-globin genes using allele-specific oligonucleotide hybridization probes // *Am. J. Hum. Genet.* 1985. Vol. 37. P. 42–51.

6. Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries / L. Diatchenko, Y. Lau, A. Campbell [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. Vol. 93. P. 6025–6030.

7. Enzymatic production of RNAi libraries from cDNAs / D. Shirane, K. Sugao, S. Namiki [et al.] // *Nature Genetics.* 2004. Vol. 36. P. 190–196.

8. Black D.L. Mechanisms of alternative pre-messenger RNA splicing // *Annual Reviews of Biochemistry.* 2003. Vol. 72. P. 291–336.

9. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes / S. B. Ng, E. H. Turner, P. D. Robertson [et al.] // *Nature.* 2009. Vol. 461. P. 272–276.

10. Scaffolding protein GAB1 sustains epidermal growth factor-induced mitogenic and survival signaling by multiple positive feedback loops / A. Kiyatkin, E. Aksamitiene, N. I. Markevich [et al.] // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281. P. 19925–19938.

11. Systems-level interactions between insulin-EGF networks amplify mitogenic signaling / N. Borisov, E. Aksamiene, A. Kiyatkin [et al.] // *Mol. Syst. Biol.* 2009. Vol. 5, article number 256.
12. Kuzmina N.B., Borisov N.M. Handling complex rule-based models of mitogenic cell signaling (On the example of ERK activation upon EGF stimulation) // *Intl. Proc. Chem. Biol. Envir. Engng.* 2011. Vol. 5. P. 76–82.
13. SABiosciences, a Qiagen company. URL: <http://www.sabiosciences.com/pathwaycentral.php> (data obrasheniya: 20.11.2013).
14. GEO Profiles, a National Center of Biotechnology Information database. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geoprofiles/> (data obrasheniya: 20.11.2013).
15. Cell line derived multi-gene predictor of pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: a validation study on US Oncology 02–103 clinical trial / K. Shen, Y. Qi, N. Song [et al.] // *BMC Med. Genomics.* 2012. Vol. 4, article number 51.
16. Seventeen-gene signature from enriched Her2/Neu mammary tumor-initiating cells predicts clinical outcome for human HER2+ERα-breast cancer / J. C. Liu, V. Voisin, G. D. Bader [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 109. P. 5832–5837.
17. Van der Kogel A., Joiner M. *Basic Clinical Radiobiology*. Fourth edition. Oxford university press, 2009.
18. New specific molecular targets for radio-chemotherapy of rectal cancer / K. Snipstad, C. G. Fenton, J. Kjaeve [et al.] // *Mol. Oncol.* 2010. Vol. 4. P. 52–64.

УДК 577.2.043:539.1

Оригинальная статья

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА MMP И RHOA У ЛИЦ, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ИОНИЗИРУЮЩЕМУ ИЗЛУЧЕНИЮ

В. Ф. Михайлов — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», заведующий лабораторией, кандидат биологических наук; **А. А. Шишкина** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», инженер; **Г. Д. Засухина** — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова» Российской академии наук, главный научный сотрудник, профессор, доктор медицинских наук; **Л. В. Шуленина** — ФГБУ «Государственный научный центр Российской Федерации — Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», научный сотрудник.

MMP AND RHOA GENE EXPRESSION IN PERSONS EXPOSED TO IONIZING RADIATION

V. F. Mikhailov — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnazyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Head of laboratory, Candidate of biological sciences; **A. A. Shishkina** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnazyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, engineer; **G. D. Zasukhina** — Institute of Common Genetic n.a. N. I. Vavilov of RAS, leading scientist, doctor of medical sciences, professor; **L. V. Shulenina** — State Scientific Research Center n.a. A. I. Burnazyan — Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Researcher.

Дата поступления — 18.11.2013 г.

Дата принятия в печать — 16.12.2013 г.

Михайлов В. Ф., Шишкина А. А., Засухина Г. Д., Шуленина Л. В. Экспрессия генов семейства MMP и RhoA у лиц, подвергавшихся ионизирующему излучению // *Саратовский научно-медицинский журнал*. 2013. Т. 9, № 4. С. 780–783.

Цель: изучение механизмов пострадиационного изменения экспрессии генов семейства MMP, а также RhoA. **Материал и методы.** Исследовали кровь 27 здоровых доноров, 32 больных раком предстательной железы до и после лучевой терапии, а также 32 пациентов, кровь которых была взята в отдаленный период после воздействия клинически значимых доз радиации. Методом ПЦР в реальном времени определяли уровни экспрессии генов MMP-7, -13, TIMP-2, RhoA. **Результаты.** Установлено, что наиболее выраженные изменения экспрессии изученных генов наблюдаются у больных раком предстательной железы в стадии 2 (T2N0M0). По-видимому, изменения обусловлены развитием опухолевого процесса и не связаны с лучевой терапией. У пациентов, перенесших лучевую болезнь, в отдаленный период экспрессия RhoA достоверно снижалась.

Ключевые слова: экспрессия генов, лучевая терапия, RhoA, MMP, TIMP-2, рак предстательной железы.

Mikhailov V. F., Zasukhina G. D., Shishkina A. A., Shulenina L. V. MMP and RHOA gene expression in persons exposed to ionizing radiation // *Saratov Journal of Medical Scientific Research*. 2013. Vol. 9, № 4. P. 780–783.

The purpose of the study is to investigate the mechanisms of MMP-7, -13, TIMP-2 and RhoA genes expression in blood cells after ionizing radiation exposure. **Material and methods.** We had examined blood samples from 27 healthy donors, 32 prostate cancer patients before and after radiotherapy, and 32 Chernobyl liquidators by qRT-PCR method. **Result.** Our results suggests that the expression of MMP-7, MMP-13 genes in prostate cancer patients with grade 2 (T2N0M0). Probably, these changes were associated with the tumor process development, but no with radiation therapy. RhoA level in blood of liquidators was decreased.

Key words: gene expression, radiotherapy, RhoA, MMP, TIMP-2, prostate cancer.

Введение. После облучения формируются ранние (до 90 дней) и поздние поражения здоровых тканей, окружающих опухоль. Фиброз является распространенным осложнением лучевой терапии здоровых тканей. Он приводит к уменьшению эластичности органов, ограничению проникновения молекул

через мембраны и вызывает стриктуры в полых органах [1]. В выживших клетках фиброз ткани проявляется чрезмерным накоплением коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса. Внеклеточный матрикс поддерживает физическое состояние тканей, обеспечивает межклеточное взаимодействие, диффузию сигнальных молекул. В связи с важностью матрикса для функционирования тканей в течение нескольких десятилетий интенсивно исследуются

Ответственный автор — Шишкина Алена Анатольевна
Адрес: 123182, г. Москва, ул. Живописная, д. 46.
Тел.: 8-499-190-94-57
E-mail: sagittarius1112@yandex.ru