

ПОКАЗАТЕЛЬ КОПИЙНОСТИ ГЕНОВ КАК МАЛОИНВАЗИВНЫЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАРКЕР ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ШЕЙКИ МАТКИ К ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ

Цаплина Н.Н.¹, Фаткина Н.Б.², Гусарева М.А.², Васильева Е.О.², Солнцева А.А.²,
Зинькович М.С.², Толмачева Е.А.², Кошелева Н.Г.², Павлятенко И.В.², Порханова Н.В.³

¹ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Министерства здравоохранения Краснодарского края, Краснодар, e-mail: caplina22@rambler.ru;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России, Ростов-на-Дону;

³ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Краснодар

Рак шейки матки (РШМ) является наиболее распространенным у женщин онкологическим заболеванием. В схему лечения входят радикальная гистерэктомия или лучевая терапия (ЛТ). При проведении ЛТ полный клинический ответ достигается только у определенной доли пациентов, что связывают с радиорезистентностью опухолевых клеток. Цель исследования – поиск генетических маркеров для малоинвазивного выявления чувствительности РШМ к ЛТ. Исследование выполнено на 200 больных РШМ и 30 донорах без онкопатологии. Для формирования списка потенциальных маркеров проводили анализ базы данных TCGA. Клетки из FFPE-блоков выделяли с помощью лазерной микродиссекции. Копийность генов определяли методом РТ-ПЦР. По результатам ЛТ пациентки были разделены на чувствительных к ЛТ (n=114, группа 1) и резистентных (n=86, группа 2). Анализ TCGA выделил 34 гена, ассоциированных с чувствительностью к ЛТ. В 1-й группе выявлены уменьшение (p<0,05) CNV *H2AFX*, *ATM*, *CHEK1*, *LINC00400* и увеличение (p<0,05) CNV *CASP-1/-4/-5*, *CYP1-A1/-A2* и *GPX4* в опухолевых клетках относительно нормальных. В 2-й группе обнаружены уменьшение (p<0,05) копийности *CASP-4/-5*, *CYP1-A1*, *YAP1* и увеличение копийности (p<0,05) *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2* и *BIRC2* в опухолевых клетках относительно нормальных. Копийность *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2*, *LINC00400*, *CASP-4/-5* и *CYP1-A1* статистически значимо (p<0,005) различалась в опухолевых клетках у 2 групп больных. Во вДНК 1-й группы снижена (p<0,05) CNV *H2AFX*, *CHEK1*, *LINC00400* и увеличена (p<0,05) CNV *CASP-4/-5*, *CYP1-A1/-A2* и *GPX4*. Во 2-й группе снижена (p<0,05) CNV *CASP-4/-5*, *CYP1-A1* и повышена CNV (p<0,05) *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2* и *BIRC2*. Таким образом, выявленные маркеры: копийность *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2*, *BIRC2*, *LINC00400*, *CASP-4/-5* и *CYP1-A1* во вДНК – могут стать основой малоинвазивного определения чувствительности РШМ к ЛТ.

Ключевые слова: копийность генов, рак шейки матки, лучевая терапия, внеклеточная ДНК, радиорезистентность.

GENE COPY NUMBER VARIATION INDEX AS A MINIMALLY INVASIVE MOLECULAR GENETIC MARKER OF CERVIX MALIGNANT TUMORS SENSITIVITY TO RADIATION THERAPY

Tsaplina N.N.¹, Fatkina N.B.², Gusareva M.A.², Vasilyeva E.O.², Solntseva A.A.²,
Zinkovich M.S.², Tolmacheva E.A.², Kosheleva N.G.², Pavlyatenko I.V.², Porkhanova N.V.³

¹Clinical oncology dispensary № 1, Krasnodar, e-mail: caplina22@rambler.ru;

²National Medical Research Center of Oncology, Rostov-on-Don;

³Kuban State Medical University, Krasnodar

Cervical cancer (CC) is the most common cancer in women. The treatment regimen includes radical hysterectomy or radiation therapy (RT). With RT, a complete clinical response is achieved only in a part of patients, which is due to the tumor cells radioresistance. The purpose of the study was the screening of molecular markers for minimally invasive determination of CC sensitivity to RT. The study was performed on 200 CC-patients and 30 donors without oncopathology. The TCGA database was analyzed to identify potential markers. Cells from FFPE blocks were isolated using laser microdissection. Gene copy numbers were determined by RT-PCR. According to the RT-results, the patients were divided into those sensitive to RT (n=114, group 1) and resistant (n=86, group 2). TCGA analysis identified 34 genes associated with RT-sensitivity. Group 1 showed a decrease (p<0.05) in the CNV of *H2AFX*, *ATM*, *CHEK1*, *LINC00400* and an increase (p<0.05) in the CNV of *CASP-1/-4/-5*, *CYP1-A1/-A2*, *GPX4* in tumor cells relative to normal. Group 2 showed a decrease (p<0.05) in the CNV of *CASP-4/-5*, *CYP1-A1*, *YAP1* and an increase (p<0.05) in the CNV of *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2*, *BIRC2* in tumor cells relative to normal. The CNV of *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2*, *LINC00400*, *CASP-4/-5*, *CYP1-A1* differed (p<0.005) in tumor cells in 2 patients groups. Group 1 cfDNA showed a decrease (p<0.05) in the CNV of *H2AFX*, *CHEK1*, *LINC00400* and an increase (p<0.05) in the CNV of *CASP-4/-5*, *CYP1-A1/-A2*, *GPX4*. Group 2 showed a decrease (p<0.05) in the CNV of *CASP-*

4/-5, *CYP1-A1*, *YAP1* and an increase ($p<0.05$) in the CNV of *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2*, *BIRC2*. Thus, the identified markers - the copy number of *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2*, *BIRC2*, *LINC00400*, *CASP-4/-5*, *CYP1-A1* in cfDNA – can become the basis for a minimally invasive determination of CC sensitivity to RT.

Keywords: gene copy number variation, cervical cancer, radiation therapy, cell free DNA, radioresistance.

Во всем мире рак шейки матки (РШМ) входит в число четырех онкологических заболеваний, наиболее распространенных у женщин [1]. Ежегодно выявляют порядка 500 000 новых случаев РШМ и регистрируют более 260 000 смертей от него, что превышает показатели любой другой гинекологической патологии [2, 3].

В стандарты лечения ранних стадий РШМ входят радикальная гистерэктомия или только лучевая терапия (ЛТ), а местнораспространенные формы рака лечат только ЛТ [4]. Уничтожение раковых клеток достигается путем облучения высокой дозой энергии в диапазоне 40–85 Гр [5]. По рекомендациям FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) пациенткам с РШМ IB1, IB2 и IIA1 (опухоль размером <4 см) при невозможности проведения хирургического этапа лечения по соматическим показаниям или желанию пациентки рекомендовано проводить самостоятельную химиолучевую терапию (ХЛТ) [6].

По оценкам некоторых авторов [7], 60% больных РШМ получают ЛТ в качестве стандартного лечения, однако около 50% из них приобретают резистентность к ней, и это является основным фактором, способствующим неэффективности лечения и рецидивам. Данные ряда исследований показывают, что несколько микроРНК тесно коррелируют с радиорезистентностью при РШМ. Так, исследование Zhang et al. (2013) показало, что 14 микроРНК (miR-1246, -1290, -137, -150, -3138, -3663-3p, -371-5p, -3926, -4271, -4327, -572, -584, -630, -765) были гиперэкспрессированы и 6 микроРНК (miR-BHRF1-1, -1271, -15b, -19b-1, -378, -95) были гипоекспрессированы в клеточных линиях радиорезистентного рака шейки матки [8]. Авторы идентифицировали сигнатуру экспрессии микроРНК (miR-630, 1246, 1290, 3138), которая связана с повышенной радиорезистентностью при РШМ [9].

Соответственно, полный клинический ответ от проведения ЛТ опухолей шейки матки, как и при ряде других нозологий, достигается только у определенной доли больных, что в большей степени связано с развитием радиорезистентности у опухолевых клеток [10, 11]. К 2022 г. целым рядом исследователей был сформирован значительный список маркеров для предсказания ответа на ЛТ, но ни один из них пока не вошел в отечественную и мировую клиническую практику [7]. Поэтому целью исследования стал поиск генетических маркеров для малоинвазивного выявления чувствительности РШМ к ЛТ.

Материалы и методы исследования

Исследование было проведено на выборке из 200 больных РШМ (IB1, IB2, IIA1, опухоль <4 см) и 30 доноров без онкопатологии. Средний возраст пациенток составлял

59,1±7,6 года. Дистанционная ЛТ (ДЛТ) выполнялась на линейном ускорителе Varian TrueBeam в режиме VMAT или IMRT (РОД 2 Гр до СОД 50 Гр). На фоне дистанционной лучевой терапии проводилось еженедельное введение цисплатина в РД 40 мг/м² от 4 до 6 введений. После этого пациентки получали курс внутриволостной брахитерапии до СОД 35–40 Гр по изоэффекту (EQD2).

Анализ базы данных TCGA (The Cancer Genome Atlas) стал первым этапом работы. Данные из Genomic Data Commons Data Portal (<https://portal.gdc.cancer.gov/>) получали с помощью языка R v.4.0.0 в оболочке Rstudio, используя пакет TCGABiolinks. Алгоритм GISTIC был применен для формирования списка генов на основании выявления областей генома, размер которых значительно изменялся в ряде образцов опухолей шейки матки [12]. Список генов включал 34 локуса (*ERBB2*, *BIRC2*, *TRPC6*, *YAP1*, *MIR-569*, *LRRC31*, *SPRED3*, *MIR-4456*, *CYP-1A*, *-A2*, *CYP11A1*, *MIR-4786*, *TIGD1*, *GPX4*, *ST14*, *LINC00167*, *LINC00558*, *LINC00400*, *FOXO1*, *ENOX1*, *EPST11*, *NEK5*, *KCTD4*, *SERP2*, *MIR-621*, *PTEN*, *SOD2*, *MIR-3939*, *ATM*, *CASP-1*, *-4*, *-5*, *CHEK1* и *H2AFX*).

На следующем этапе исследования для высококачественной дифференцировки опухолевых и нормальных клеток из срезов тканей шейки матки, заключенных в FFPE (Formalin-fixed paraffin-embedded)-блоки, 200 пациенток использовали лазерную микродиссекцию с бесконтактным захватом (Palm MicroBeam, Carl Zeiss, Германия) [13]. Из извлеченных таким способом клеток методом фенол-хлороформной экстракции было выделено 400 образцов ДНК, которую использовали в ПЦР в режиме реального времени (Real-Time qPCR) для определения уровня относительной копийности генов. Для осуществления этого метода были сконструированы последовательности 37 пар синтетических олигонуклеотидов (праймеров), включая пары для референсных локусов (*ACTB*, *B2M*, *GAPDH*). Количественная ПЦР в режиме реального времени с интеркалирующим красителем EvaGreen®Dye (Biotium, США) проводилась на термоциклере Bio-Rad CFX96. Каждый образец ДНК амплифицировали в 3 повторах.

Относительную копийность генетического локуса (CNV_R) вычисляли по формуле $e^{-\Delta Ct}$, где e – эффективность реакции амплификации, определяемая по формуле: $10^{-1/Z}$, где Z – коэффициент из уравнения $Ct = Z \cdot \log P_0 + b$. Конечный результат представляли в виде кратности изменений (fold change, FC) копийности генов в опухолевых образцах по отношению к нормальным: $FC = CNV_{R(оп)}/CNV_{R(н)} = e^{-\Delta Ct(оп)}/e^{-\Delta Ct(н)}$ [14].

Статистический анализ данных выполняли в Statistica 11.0 (StatSoft, США), биоинформационный анализ – в Rstudio (v4.0.1). Непараметрический U-критерий Манна–Уитни с поправкой Бонферрони (множественное сравнение) использовали для оценки

различий значений. Функциональный анализ показателей копийности генов осуществляли с помощью FMD (Functional module detection)-алгоритма [15].

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты анализа копийности генов с помощью алгоритма GISTIC2.

Вариабельность числа копий генов (CNV, copy number variation) представляет собой особый вид полиморфизмов, изменяющий количество определенного гена в геноме и, следовательно, косвенно влияющий на уровень матричной или некодирующей РНК [16].

К 2022 г. накоплены внушительные объемы данных о CNV в клетках опухолей, в том числе опухолей шейки матки. Для формирования списка потенциальных генетических маркеров в целях определения чувствительности этих опухолей к радиотерапии были использованы данные из проекта The Cancer Genome Atlas (TCGA), извлеченные с портала Genomic Data Commons. Алгоритм GISTIC позволил определить области генома с аномальным изменением размера для образцов опухолей.

В этом анализе было использовано 295 образцов опухолей и было обнаружено изменение копийности 4350 генетических локусов. Данные гены были распределены по функциональным модулям с использованием алгоритма FMD (рис. 1). Была проведена фильтрация сигнальных путей для генов, снизивших копийность, и выбраны только те локусы и регулируемые ими сигнальные каскады, которые могут быть ассоциированы с устойчивостью к лучевой терапии: регуляция продукции интерлейкинов, клеточного ответа на облучение, клеточного ответа на стимулы внешней среды, регуляция убиквитинирования белка, активация иммунного ответа, апоптотическая фрагментация ДНК, регуляция активности фосфатидилинозитол-3-киназы, репарация межнитевых поперечных связей ДНК. Аналогичная фильтрация была выполнена для генов с повышенной копийностью относительно нормальной ткани. Были идентифицированы следующие сигнальные пути: регуляция распространения клеток, зависящего от адгезии к субстрату, клеточное деление, реорганизация внеклеточного матрикса, регуляция организации хромосом, регуляция митотического деления, водный гомеостаз многоклеточных организмов, регуляция уровня гормонов, передача сигналов регуляции контрольных точек клеточного цикла, реакция на ионизирующее излучение.

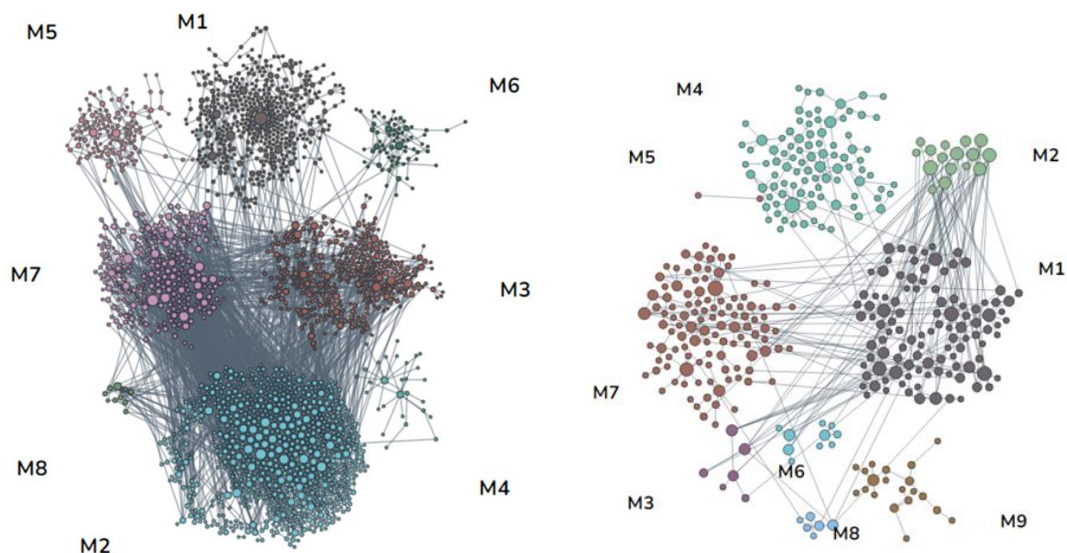


Рис. 1. Распределение снизивших (слева) и увеличивших (справа) копийность генов по функциональным модулям с использованием алгоритма FMD

Таким образом, из 4350 генов были выбраны 34 локуса, с наибольшей вероятностью связанных с радиорезистентностью: *H2AFX*, *ERBB2*, *CHEK1*, *BIRC2*, *TRPC6*, *YAP1*, *LRRC31*, *SPRED3*, *MIR-569*, *MIR-4456*, *MIR-4786*, *MIR-621*, *MIR-3939*, *CYP-1A*, *CYP-A2*, *CYP11A1*, *TIGD1*, *GPX4*, *ST14*, *LINC00167*, *LINC00558*, *LINC00400*, *FOXO1*, *ENOX1*, *EPST11*, *NEK5*, *KCTD4*, *SERP2*, *PTEN*, *SOD2*, *ATM*, *CASP-1*, *CASP-4* и *CASP-5*.

Анализ копийности генов в клетках шейки матки. Анализ эффективности радиотерапии позволил разделить 200 пациенток на 2 группы – чувствительных к ЛТ (n=114, 1-я группа) и резистентных (n=86, 2-я группа). Выявленный на этапе биоинформационного анализа паттерн из 34 генов был валидирован методом ПЦР на ДНК из опухолевых и нормальных клеток тканей шейки матки. У пациенток группы 1 обнаружено статистически значимое ($p < 0,05$) уменьшение копийности генов *H2AFX*, *ATM*, *CHEK1*, *LINC00400* в 2,0, 2,5, в 1,7 и 4,5 раза и увеличение копийности генов *CASP-1*, *-4*, *-5*, *CYP1-A1*, *-A2* и *GPX4* в 1,8, 2,5, 2,0, 2,7, 2,1 и 2,6 раза соответственно в опухолевых клетках относительно этих показателей в нормальных клетках (рис. 2). У пациенток группы 2 обнаружены статистически значимое ($p < 0,05$) уменьшение копийности генов *CASP4*, *CASP5*, *CYP1A1*, *YAP1* в 3,3, 1,7, 1,4 и 2,0 раза и увеличение копийности *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2* и *BIRC2* в 3,5, 3,2, 2,8 и 3,4 раза соответственно в опухолевых клетках относительно CNV в нормальных клетках шейки матки (рис. 2).

CNV генов *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2*, *LINC00400*, *CASP-4*, *-5* и *CYP1A1* различалась статистически значимо ($p < 0,005$) в опухолевых клетках между двумя группами пациенток. Так, CNV гена *H2AFX* в 7,0 раз была выше в опухолевых клетках радиорезистентных пациенток, гена *CHEK1* – в 5,3 раза выше, гена *ERBB2* – в 2,3 раза выше, *LINC00400* – в 6,8

раза выше, а *CASP-4* – в 8,3 раза ниже, *CASP-5* – в 3,3 раза выше и *CYP1A1* – в 3,9 раза ниже, чем в опухолевых клетках в группе пациенток, чувствительных к ЛТ (рис. 2).

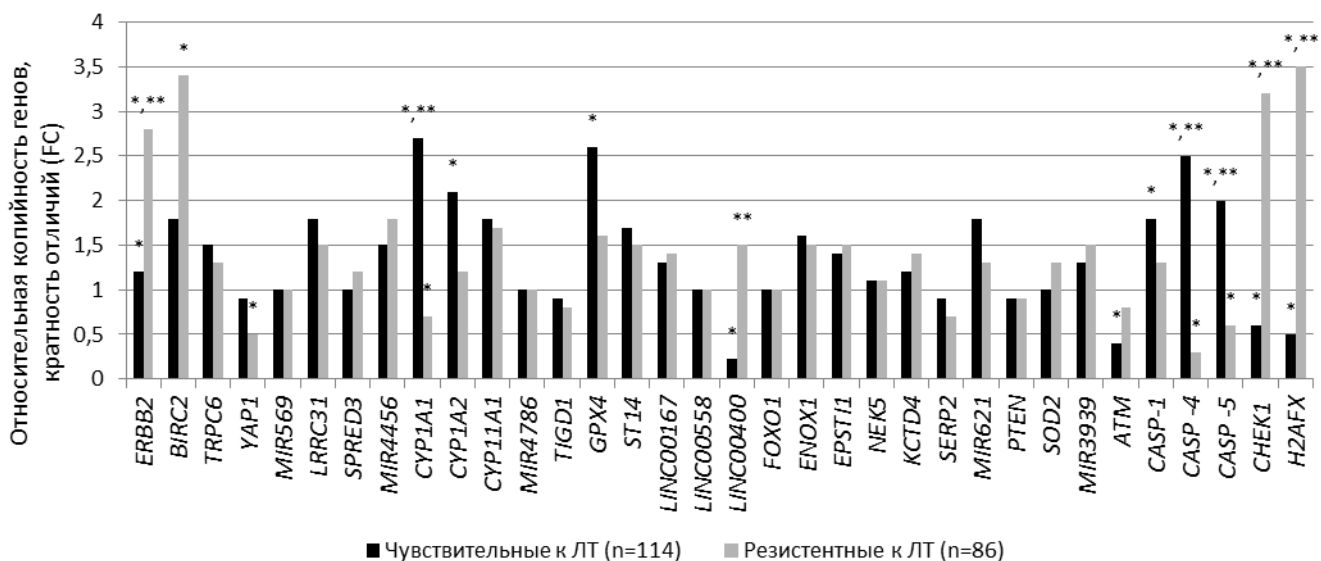


Рис. 2. Копийность генов в опухолевых клетках шейки матки относительно нормальных клеток.

* – статистически значимые отличия от нормальных клеток; ** – статистически значимые отличия между копийностью генов в опухолевых клетках пациенток, резистентных и чувствительных к ЛТ

Анализ копийности генов во вндНК плазмы крови. Создание современных высокоэффективных молекулярных малоинвазивных методов диагностики невозможно без поиска маркеров во внеклеточной ДНК (вндНК) плазмы крови. Этот аспект касается и маркеров чувствительности РШМ к ЛТ.

В крови источником вндНК может быть ядерная и митохондриальная ДНК соматических и опухолевых клеток [17]. При этом сама вндНК долго сохраняет стабильность во внеклеточных средах организма человека, в том числе и в плазме крови [18]. Показатель копийности генетических локусов *H2AFX*, *CHEK1*, *LINC00400*, *CASP-1*, *-4*, *-5*, *CYP1-A1*, *-A2*, *GPX4*, *YAP1*, *ERBB2* и *BIRC2* был проанализирован во вндНК плазмы крови пациенток, чувствительных и резистентных к ЛТ.

В 1-й группе больных выявлены значимое снижение ($p < 0,05$) числа копий генов *H2AFX*, *CHEK1*, *LINC00400* в 1,7, 2,5 и 2,5 раза, а также значимое увеличение ($p < 0,05$) числа копий генов *CASP-4/-5*, *CYP1-A1/-A2* и *GPX4* – в 2,8, 3,0, 2,3, 2,2 и 2,0 раза соответственно. Во 2-й группе больных обнаружены значимое снижение ($p < 0,05$) числа копий генов *CASP-4/-5*, *CYP1-A1*, *YAP1* – в 2,0, 2,0, 3,3 и 2,0 раза соответственно – и увеличение ($p < 0,05$) числа копий генов *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2* и *BIRC2* – в 3,8, 3,6, 2,2 и 3,0 раза соответственно – относительно этих показателей у здоровых доноров. CNV генов *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2*, *BIRC2*, *LINC00400*,

CASP-4/-5 и *CYP1-A1* статистически значимо ($p < 0,005$) отличалась во внДНК 1-й и 2-й групп больных РШМ: у пациенток, резистентных к ЛТ, число копий *H2AFX* в 6,3 раза больше, *CHEK1* – в 9,0 раз больше, *ERBB2* – в 1,8 раза больше, *BIRC2* – в 2,1 раза больше, *LINC00400* – в 3,8 раза больше, *CASP-4/-5* и *CYP1-A1* была в 5,6, 6,0 и 7,7 раза меньше, чем у пациенток, чувствительных к ЛТ (рис. 3).

Возможным следствием, основанным на изменении копийности этих генов, может быть аномальное функционирование системы репарации ДНК. Из данных литературы хорошо известно, что ионизирующее облучение при действии на живые клетки приводит к индукции двуцепочечных разрывов ДНК. В ответ на это в клетке запускается цепь событий, направленных на удаление этих повреждений. А для этого хроматин должен находиться в неконденсированном состоянии [19]. В поддержании его деконденсированной формы задействован гистоновый ген *H2AFX* (*H2AX*, H2A histone family member X). Продукт этого гена в ответ на облучение фосфорилируется и переходит в форму γ H2AX, поддерживая хроматин неконденсированным. Это позволяет репарационным комплексам присоединиться к ДНК [20]. Повреждение ДНК приводит также к активации *CHEK1* и, соответственно, инициации контрольных точек клеточного цикла [21]. *CHEK1* необходим для выживания клеток и благодаря высоким уровням экспрессии в опухолях может индуцировать пролиферацию опухолевых клеток. Опухолевые клетки с повышенным уровнем *CHEK1* приобретают преимущества в плане выживания благодаря способности переносить более высокий уровень повреждения ДНК. Следовательно, *CHEK1* может способствовать резистентности к ЛТ и химиотерапии [22].

Сигнальные пути, регулирующие апоптоз, также вовлечены в формирование чувствительности к ЛТ. Так, белок, кодируемый геном *BIRC2* (*cIAP1*), ингибирует апоптоз путем связывания с факторами TRAF1 и TRAF2, а также путем вмешательства в активацию ICE-подобных протеаз. Этот многофункциональный белок не только регулирует каспазы, но и модулирует воспалительные сигнальные пути и иммунитет, клеточную пролиферацию, клеточную инвазию и метастазирование. Он действует как убиквитин-протеинлигаза E3, регулирующая передачу сигналов NF-каппа-B, и регулирует как каноническую, так и неканоническую передачу сигналов NF-каппа-B [23].

Каспазы 4 и 5, кодируемые генами *CASP-4/-5* соответственно, представляют собой ферменты, которые протеолитически расщепляют другие белки по остатку аспарагиновой кислоты, и принадлежит к семейству цистеиновых протеаз. Функции каспазы 4 и 5 до конца не известны, но считается, что они являются воспалительными каспазами [24].

LINC00400 (Long Intergenic Non-Protein Coding RNA 400) представляет собой ген длинной не кодирующей белок РНК (lncRNA). Публикации, описывающие функции этой

РНК, немногочисленны [11, 25]. В работе W. Yuan и соавторов было показано, что *LINC00400* играет важную роль в развитии и прогрессировании рака. Возможно, lncRNA регулируют посттранскрипционную активность генов путем сети ceRNA (конкурентно взаимодействующих РНК): lncRNA, вероятно, действует как молекулярная «губка» для микроРНК, конкурентно связывая их и влияя на их гены-мишени [11]. Потенциальной ceRNA-мишенью для *LINC00400* являются микро-РНК, взаимодействующие с генами сигнального пути p53 и регулирующие апоптоз [25].

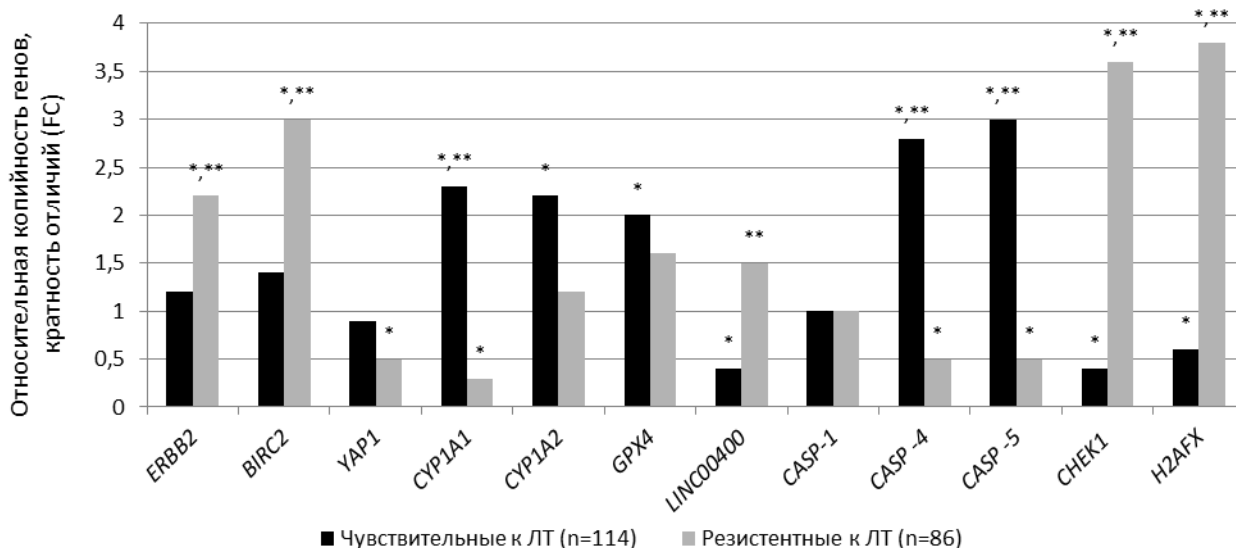


Рис. 3. Число копий генов во вДНК плазмы крови у больных с разной чувствительностью к радиотерапии.

* – статистически значимые отличия от числа копий генов во вДНК здоровых доноров; ** – статистически значимые отличия между числом копий генов во вДНК пациенток, резистентных к ЛТ, и этим показателем во вДНК пациенток, чувствительных к ЛТ

В регуляции деления клеток также задействован ген *ERBB2* (*HER2*), который кодирует her2 (erbB-2) – мембранный белок из семейства рецепторов эпидермального фактора роста. В нормальной клетке есть 2 копии этого гена, в опухолевой – намного больше. Поэтому на поверхности опухолевых клеток находится множество белков her2, что вызывает дисрегуляцию их нормального роста. Опухолевые клетки с большим количеством белков her2 быстрее растут, более агрессивны и почти не подвержены воздействию лучевой терапии [26]. Увеличение числа копий или повышение экспрессии этого гена играют важную роль в патогенезе и прогрессировании различных агрессивных типов рака, а также могут служить молекулярным маркером и мишенью для таргетной терапии [27]. Амплификация her2 связана с устойчивостью к противораковому препарату цетуксимаб [28].

В патогенезе некоторых гинекологических злокачественных новообразований важную роль играет гиперэстрогения [29]. По данным, представленным в исследовательских работах О.И. Кита и соавторов [29, 30], метаболическая активация эстрадиола является ключевым фактором в развитии и прогрессировании опухолей шейки матки. Из данных отечественных и зарубежных исследователей известно, что ряд гинекологических опухолей характеризуется высокой экспрессией генов регуляторов гидроксилирования эстрадиола. Так, например, ген *CYP1A1*, кодирующий фермент из семейства цитохромов P450, регулирует гидроксилирование 17-β-эстрадиола в положении C-2 [31].

Таким образом, проведенный анализ позволил установить, что у больных РШМ чувствительность к ЛТ ассоциирована с особенностями копийности генетических локусов, регулирующих сигнальные пути репарации ДНК, апоптоза, пролиферации клеток и метаболизма эстрадиола.

Заключение

Комбинация математических и молекулярных подходов позволила выявить маркеры – показатели копийности: *H2AFX*, *CHEK1*, *ERBB2*, *BIRC2*, *LINC00400*, *CASP4*, *CASP5* и *CYP1A1* – в тканях и во внДНК, которые могут стать основой для способов (в том числе малоинвазивных) определения чувствительности РШМ к ЛТ.

Список литературы

1. Tsaplina N.N., Porkhanova N.V., Fatkina N.B., Zinkovich M.S., Gusareva M.A., Solntseva A.A., Vasilieva E.O., Kosheleva N.G., Tolmacheva E.A., Martynova K.V., Udalenkova I.A., Rozenko L.Ya., Selezneva O.G., Pustovalova A.V., Chalabova T.G., Shlyakhova O.V., Meshcheryakov P.N., Oskin S.V., Kit O.I., Kutilin D.S. From bioinformatic screening to low-invasive molecular diagnostics of the cervical tumor sensitivity to radiation therapy. *J. Clin Oncol* 40. 2022. Sup. 16. P. e17512. DOI: 10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.e17512.
2. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer*. 2015. vol. 136. P. 359-386.
3. Yang J., Cai H., Xiao Z.X., Wang H., Yang P. Effect of radiotherapy on the survival of cervical cancer patients: An analysis based on SEER database. *Medicine (Baltimore)*. 2019. vol. 98 (30). P. e16421.
4. Uyar D., Rader J. Genomics of cervical cancer and the role of human papillomavirus pathobiology. *Clin. Chem*. 2014. vol. 60. P.144-146.

5. Boon S.S., Luk H.Y., Xiao C., Chen Z., Chan P.K.S. Review of the Standard and Advanced Screening, Staging Systems and Treatment Modalities for Cervical Cancer. *Cancers (Basel)*. 2022. vol. 14 (12). P. 2913. DOI: 10.3390/cancers14122913.
6. Kehoe S., Bhatla N. FIGO Cancer Report 2021. *Int. J. Gynecol Obstet*. 2021. vol. 155. P. 5-6.
7. Marima R., Francies F.Z., Hull R., Molefi T., Oyomno M., Khanyile R., Mbatha S., Mabongo M., Owen Bates D., Dlamini Z. MicroRNA and Alternative mRNA Splicing Events in Cancer Drug Response/Resistance: Potent Therapeutic Targets. *Biomedicines*. 2021. vol. 9 (12). P. 1818.
8. Zhang B., Chen J., Ren Z., Chen Y., Li J., Miao X., Song Y., Zhao T., Li Y., Shi Y. A specific miRNA signature promotes radioresistance of human cervical cancer cells. *Cancer Cell Int*. 2013. vol. 13. P. 118.
9. Corcoran C., Rani S., Breslin S., Gogarty M., Ghobrial I.M., Crown J., O'Driscoll L. MiR-630 targets IGF1R to regulate response to HER-targeting drugs and overall cancer cell progression in HER2 over-expressing breast cancer. *Mol. Cancer*. 2014. vol. 13. P. 71.
10. Kutilin D. Genetic and epigenetic bases of prostate tumor cell radioresistance. *Klin. Onkol*. 2021. vol. 34 (3). P. 1-15.
11. Kutilin D.S., Gusareva M.A., Kosheleva N.G., Kit O.I. Regulatory network of competitively interacting RNAs and effectiveness of rectal tumors radiotherapy. *Klin. Onkol*. 2022. vol. 35 (4). P. 297-306.
12. Gao J., Aksoy B.A., Dogrusoz U., Dresdner G., Gross B., Sumer S.O., Sun Y., Jacobsen A., Sinha R., Larsson E., Cerami E., Sander C., Schultz N. Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Sci. Signal*. 2013. vol. 6 (269). P. 11.
13. Колесников Е.Н., Максимов А.Ю., Кит О.И., Кутилин Д.С., Зависимость общей и без рецидивной выживаемости больных от молекулярно-генетического подтипа плоскоклеточного рака пищевода // Вопросы онкологии. 2019. № 65 (5). С. 691-700.
14. Кутилин Д.С. Регуляция экспрессии генов раково-тестикулярных антигенов у больных колоректальным раком // Молекулярная биология. 2020. Т. 54. № 4. С. 580-595.
15. Димитриади Т.А., Бурцев Д.В., Дженкова Е.А., Кутилин Д.С. Дифференциальная экспрессия микроРНК и их генов-мишеней при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях разной степени тяжести // Успехи молекулярной онкологии. 2020. № 7 (2). С. 30-44.
16. Кутилин Д.С., Кечерюкова М.М. От биоинформационного скрининга генетических маркёров к малоинвазивной диагностике метастазов в лимфатических узлах у пациенток с раком шейки матки // Казанский медицинский журнал. 2022. Т. 103. № 5. С. 725-736.

17. Кутилин Д.С., Айрапетова Т.Г., Анистратов П.А., Пыльцин С.П., Лейман И.А., Чубарян А.В., Туркин И.Н., Водолажский Д.И., Николаева Н.В., Лысенко И.Б. Изменение относительной копийности генетических локусов во внеклеточной ДНК у пациентов с аденокарциномой легкого // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: Естественные науки. 2017. № 3-2 (195-2). С. 74-82.
18. Кутилин Д.С., Айрапетова Т.Г., Анистратов П.А., Пыльцин С.П., Лейман И.А., Карнаузов Н.С., Кит О.И. Изменение копийности генов в опухолевых клетках и внеклеточной ДНК у больных аденокарциномой лёгкого // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2019. № 167 (6). С. 731-738.
19. Кутилин Д.С., Кошелева Н.Г., Гусарева М.А., Харатегзов Д.А., Донцов В.А., Полуэктов С.И., Зема Т.В., Лиман Н.А., Шляхова О.В., Удаленкова И.А. Влияние транскрипционной активности генов, регулирующих репарацию ДНК, на эффективность лучевой терапии опухолей прямой кишки // Современные проблемы науки и образования. 2019. № 6. [Электронный ресурс]. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=29353> (дата обращения: 26.12.2022).
20. Кошелева Н.Г., Гусарева М.А., Удаленкова И.А., Фаткина Н.Б., Легостаев В.М., Шляхова О.В., Лиман Н.А., Карнаухова Е.А., Крохмаль Ю.Н., Кутилин Д.С. Показатель копийности генов во внеклеточной ДНК плазмы крови как маркер для малоинвазивной оценки эффективности лучевой терапии опухолей прямой кишки // Современные проблемы науки и образования. 2020. № 6. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30396> (дата обращения: 26.12.2022).
21. Zhang Y., Hunter T. Roles of Chk1 in cell biology and cancer therapy. *International Journal of Cancer*. 2014. vol. 134 (5). С. 1013-1023.
22. Liang Y., Lin S.Y., Brunicardi F.C., Goss J., Li K. DNA damage response pathways in tumor suppression and cancer treatment. *World Journal of Surgery*. 2009. vol. 33 (4). P. 661-666.
23. Liston P., Roy N., Tamai K., Lefebvre C., Baird S., Cherton-Horvat G., Farahani R., McLean M., Ikeda J.E., MacKenzie A., Korneluk R.G. Suppression of apoptosis in mammalian cells by NAIP and a related family of IAP genes. *Nature*. 1996. vol. 379 (6563). P. 349-353.
24. Martinon F., Tschopp J. Inflammatory caspases and inflammasomes: master switches of inflammation. *Cell Death Differ*. 2007. vol. 14 (1). P. 10-22.
25. Yuan W., Li X., Liu L., Wei C., Sun D., Peng S., Jiang L. Comprehensive analysis of lncRNA-associated ceRNA network in colorectal cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019. vol. 508 (2). P. 374-379.
26. Ménard S., Casalini P., Campiglio M., et al. Role of HER2/neu in tumor progression and therapy. *Cell. Mol. Life Sci. Journal*. 2005. vol. 61. no. 23. P. 2965-2978.

27. Barh D., Gunduz M. Noninvasive Molecular Markers in Gynecologic Cancers. CRC Press. 2015. P. 427.
28. Yonesaka K., Zejnullahu K., Okamoto I., Satoh T., Cappuzzo F., Souglakos J., et al. Activation of ERBB2 signaling causes resistance to the EGFR-directed therapeutic antibody cetuximab. Science Translational Medicine. 2011. vol. 3 (99). P. 99ra86.
29. Кит О.И., Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Моисеенко Т.И., Никитин И.С., Франциянц Е.М. Изменение экспрессии эстроген-регуляторных генов при малигнизации тканей тела матки // Кубанский научный медицинский вестник. 2016. № 2 (157). С. 84-90.
30. Кит О.И., Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Никитин И.С., Моисеенко Т.И., Франциянц Е.М. Транскриптомная активность эстроген-регуляторных генов при малигнизации тканей тела матки // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2016. № 115. С. 294-304.
31. Кит О.И., Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Моисеенко Т.И., Никитин И.С., Франциянц Е.М. Способ прогнозирования рецидивов рака тела матки на основании уровня экспрессии генов PTEN и CYP1B1. Патент на изобретение RU 2605302 С1, 20.12.2016.