

изготовленный по технологии изготовления печатных плат с финишным покрытием иммерсионным золотом, позволяет одновременно использовать набор нескольких ДНК-аптамеров, нанесенных на поверхности отдельных электродов, расположенных на одном чипе. Использовались аптамеры, полученные ранее к послеоперационным тканям рака легких [1].

Для измерений электрохимических характеристик биочипов использовалась электрохимическая станция СН-600 (СН Instruments, США). Применялся метод квадратно-волновой вольтамперометрии. Диагностическими результатами считались измерения пиковых дифференциальных токов на отдельных электродах мультиплексных биочипов, модифицированных соответствующими аптамерами, до и после инкубации с плазмой крови больных раком легких. Величина разницы дифференциального пикового тока принималась за системный отклик присутствия в плазме опухолевых маркеров. Для контрольного сравнения использовались те же показатели, полученные после аналогичных экспериментов с плазмой крови здоровых добровольцев.

Все эксперименты были проделаны в трех повторях с использованием плазмы крови нескольких пациентов и здоровых добровольцев.

Повышение сигнала наблюдалось после инкубации биочипов с плазмой любого типа, но в случае плазмы крови больных раком легких это изменение было систематически более выражено. Все шесть рабочих электродов, покрытые разными аптамерами, показывали в целом сходные результаты, которые варьировали в небольших пределах от образца к образцу. Таким образом, была показана принципиальная пригодность мультиплексной электрохимической тест системы для диагностики рака легких с помощью определения сочетания белков-биомаркеров, находящихся в плазме крови.

Литература

1. Zamay G.S., Kolovskaya O.S., Zamay T.N. et al. Aptamers selected for postoperative lung adenocarcinoma detect circulating tumor cells in human blood // *Molec. Ther.- Nature*. – 2015. – Vol. 23. – P. 1-11.

© ГРИГОРЬЕВА В. Л.

УДК 576.08

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ КАК МАРКЕРЫ ПРОГНОЗА ВЫЖИВАЕМОСТИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКИХ

В. Л. Григорьева^{1,2}

¹ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого;

²ФГАОУ ВО Сибирский федеральный университет, Красноярск.

Резюме. Поздняя диагностика, рецидив опухоли и метастазирование являются основными причинами низкого уровня выживания у больных раком легкого. Основной причиной рецидива и метастазирования является сохранение циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) в кровотоке, которые обладают высокой устойчивостью к химиотерапии. Новый метод для ранней диагностики и терапии рецидивов – это детекция ЦОК. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) являются малоинвазивным источником опухолевого материала, актуальным для ранней диагностики и выявления резистентности к терапии.

Ключевые слова: циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), аптамеры, рак легких, канцерогенез.

CIRCULATING TUMOR CELLS AS MARKERS OF PROGNOSIS IN SURVIVAL OF THE PATIENTS WITH LUNG CANCER

V. L. Grigorieva

Abstract. *Late diagnosis, tumor relapses and metastasis are the main reasons for the low level of survival in lung cancer patients. The main cause of relapses and metastasis is preservation of circulating tumor cells (CTC) in a blood stream, which are highly resistant to chemotherapy. A new method for the early diagnosis and treatment of relapses is the detection of CTCs. Circulating tumor cells (CTCs) are minimally invasive source of tumor material topical for the early diagnosis and detection of resistance to treatment.*

Key words: *circulating tumor cells (CTCs), aptamers, lung cancer, carcinogenesis.*

Жидкостная биопсия является одним из малоинвазивных подходов для выявления циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), которые появляются в кровотоке при онкологических заболеваниях. Циркулирующие опухолевые клетки служат для прогноза формирования метастазирования и выживаемости пациента [5-8]. Большинство анализов ЦОК основываются на обнаружении маркеров на основе эпителиальных антител, таких, как EpCAM, EphA4, EGFR (Ee / ErbB1), HER2, CEA / CEACAM5 [6]. Одного антитела недостаточно, чтобы захватить и обнаружить редкие ЦОК, к тому же многие злокачественные клетки претерпевают эпителиально-мезенхимальный переход, утрачивая эпителиальные антигены, вследствие чего опухолевые клетки не могут быть обнаружены [1-4]. Для этих целей можно использовать ДНК-аптамеры, специфичные к маркерам ЦОК. В работе были выбраны специфические и аффинные ДНК-аптамеры, которые связываются с клетками аденокарциномы легких, выделенных из послеоперационных тканей больных. Было показано, что аптамеры не связываются с нормальными клетками легких и лимфоцитами. ДНК-аптамеры были использованы для обнаружения ЦОК, апоптотических телец и микроэмбол в клинических образцах периферической крови больных раком легких, включая метастатические формы. Для анализа проводился забор 4,5 мл крови

из вены, дальнейший лизис эритроцитов гипотоническим раствором хлорида аммония и белых кровяных клеток гипотоническим раствором хлорида натрия. Осадок окрашивали аптамерами, меченными флуоресцентными метками Cy-5, FAM, Cy-3 и антителами cd45, PE и DAPI. Образцы анализировали с помощью лазерной сканирующей флуоресцентной микроскопии и проточного цитометра CytoFLEX Beckman Coulter. Результаты данного метода подтвердили возможное использование полученных аптамеров для детекции циркулирующих опухолевых клеток наряду с применяемыми для выявления циркулирующих опухолевых клеток антителами к цитокератинам, тем самым открывая возможность для определения прогноза заболевания и выбор режима терапии, так и ее эффективности.

Литература

1. Ковалев А.А., Грудинская Т.В., Кузнецова Т.П., Ковалев К.А. Гетерогенность циркулирующих опухолевых клеток // Онкология. – 2012. – Т. 14, № 2. – С.126-129.
2. Красильников С.Э., Сидоров С.В., Гуляева Л.Ф. Сравнительный анализ экспрессии генов ER и ароматазы в опухолевых тканях молочной железы и эндометрия // Сибирский онкологический журнал. – 2007. – Т. 4 – С. 89-95.
3. Осинский С. П., Глузман Д. Ф. Диссеминированные опухолевые клетки в крови и костном

мозге (Молекулярный прогноз в клинической онкологии) // Онкология. – 2006. – Т. 8 – С. 102-108.

4. Ashworth T. R. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death // Aust. Med. J. – 1869. – Vol. 14. – P. 146-149.

5. Ignatiadis M., Xenidis N., Perraki M., Apostolaki S., Politaki E., Kafousi M., Stathopoulos E. Different prognostic value of cytokeratin-19 mRNA positive circulating tumor cells according to estrogen receptor and HER2 status in early-stage breast cancer // Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology. – 2007. – Vol. 25, № 16. – P. 5194-5202.

6. Siegel R., Naishadham D., Jemal A. Cancer Statistics // Cancer J. – 2012. – P. 10-29.

7. Stathopoulou A., Vlachonikolis I., Mavroudis D., Perraki M., Kouroussis C., Apostolaki S., Malamos N. Molecular detection of cytokeratin-19-positive cells in the peripheral blood of patients with operable breast cancer: evaluation of their prognostic significance // Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology. – 2002. – Vol. 20, № 16. – P. 3404-3412.

8. Xenidis N., Perraki M., Kafousi M., Apostolaki S., Bolonaki I., Stathopoulou A., Kalbakis K. Predictive and prognostic value of peripheral blood cytokeratin-19 mRNA-positive cells detected by real-time polymerase chain reaction in node-negative breast cancer patients // Journal of oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology. – 2006. – Vol. 24, № 23. – P. 3756-3762.

© ДЕНИСОВ И. А., ЯКИМОВ А. С., ЛУКЪЯНЕНКО К. А., ЕСИМБЕКОВА Е. Н., СОРОКИН В. В., БЕЛОБРОВ П. И.
УДК 57.081.22, 57.081.23

ПЛАТФОРМА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ПОРТАТИВНЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ УСТРОЙСТВ НА ПРИМЕРЕ ЛЮЦИФЕРАЗНЫХ ЧИПОВ ДЛЯ БИОТЕСТИРОВАНИЯ

И. А. Денисов¹, А. С. Якимов¹, К. А. Лукьяненко¹, Е. Н. Есимбекова^{1,2}, В. В. Сорокин³, П. И. Белобров^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО Сибирский федеральный университет;

² Институт биофизики СО РАН, Красноярск;

³ Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского.

Резюме. Развитие персональной диагностики требует новых портативных устройств для проведения биомедицинских измерений на дому или в передвижных пунктах медицинской помощи. На сегодняшний день портативные датчики светового излучения (твердотельные лавинные фотоумножители, англ. SiPM) и микрофлюидные технологии (lab-on-a-chip) составляют выгодную комбинацию для создания таких устройств. Мы разработали связанный набор технических решений (платформу) и продемонстрировали её применимость на примере микрофлюидных чипов для биотестирования, которые основаны на биолюминесцентной системе светящихся бактерий. Данная платформа будет интересна всем, кто планирует автоматизировать методики, связанные с регистрацией света в рамках концепции РОСТ (point-of-care testing).

Ключевые слова: биолюминесценция, люцифераза, биотестирование, SiPM, lab-on-a-chip, point-of-care testing.
