

специфичности показал, что процент связывания аптамеров с клетками негативных мишеней выше по сравнению с негативными мишенями и библиотекой, но ниже по сравнению со связыванием аптамеров с клетками глиомы. Таким образом, полученные синтетические аптамеры к глиоме имеют слабое сродство к клеткам менингиомы и метастазов в мозг опухолей различной локализации и высокое сродство к клеткам глиобластомы. Анализ специфичности аптамеров к глиобластоме с помощью конфокальной микроскопии подтвердил данные проточной цитометрии о наличии сродства полученных синтетических аптамеров к своей мишени.

Таким образом, полученные к глиобластоме ДНК-аптамеры, обладающие высокой специфичностью к опухолевой ткани, в дальнейшей

работе будут использованы для создания средств диагностики и терапии.

Литература

1. Олюшин В.Е. Глиальные опухоли головного мозга: краткий обзор литературы и протокол лечения больных // Нейрохирургия. – 2005. – № 4. – С. 41-47.
2. Chiou S.M. Survival of brain metastasis patients treated with gamma knife surgery alone // Clin. neurolneurosurg. – 2013. – Vol. 115, № 3. – P. 260-265.
3. Schrand B. Targeting 4-1BB costimulation to the tumor stroma with bispecific aptamer conjugates enhances the therapeutic index of tumor immunotherapy // Cancer Immunology Research. – 2014. – Vol. 2, № 9. – P. 867-877.

© КРАТ А. В., ЗАМАЙ Т. Н., ЗАМАЙ Г. С., КОЛОВСКАЯ О. С., ГРИГОРЬЕВА В. Л., КИЧКАЙЛО А. С., ЗУКОВ Р. А.
УДК 616-006.6

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК-АПТАМЕРОВ В ОЦЕНКЕ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ОПУХОЛЕВОГО ПРОЦЕССА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

А. В. Крат², Т. Н. Замай¹, Г. С. Замай¹, О. С. Коловская¹, В. Л. Григорьева¹, А. С. Кичкайло¹, Р. А. Зуков^{1,2}

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

²КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского».

Резюме. Разработан метод окрашивания гистологических срезов рака легких с помощью аптамеров. Разработан метод выявления циркулирующих опухолевых клеток, циркулирующих опухолевых микроэмболов и апоптотических телец в крови больных. Показано, что чувствительность, специфичность и диагностическая точность выявления рака легкого с помощью аптамеров LC-17, LC-2114, LC-224, LC-29, LC-2107, LC-2108 с использованием флуоресцентной микроскопии легких составили 78,95%, 82,35% и 80,56%, соответственно. Содержание циркулирующих опухолевых клеток и их производных в крови больных раком легкого зависит от распространенности опухолевого процесса. Разработан метод визуализации злокачественных очагов в макропрепарате легкого после оперативного вмешательства с использованием хирургического флуоресцентного микроскопа.

Ключевые слова: рак легких, аптамеры, диагностика, циркулирующие опухолевые клетки, гистологические срезы, хирургия.

THE USE OF DNA APTAMERS IN THE ESTIMATION OF THE PREVALENCE THE TUMOR PROCESS IN LUNG CANCER PATIENTS

A. V. Krat, T. N. Zamay, G. S. Zamay, O. S. Kolovskaya,
V. L. Grigorieva, A. S. Kichkaylo, R. A. Zukov

Abstract. *It has been developed a method of staining the histological sections of lung cancer using aptamers. Was designed a method for detection of CSC, CSC and apoptotic cells in the blood of patients. It has been shown that the sensitivity, specificity and diagnostic accuracy of detecting lung cancer using aptamers LC-17, LC-2114, LC-224, LC-29, LC-2107, LC-2108 with fluorescence microscopy of lungs reached 78,95% 82,35% and 80.56%, respectively. Contents of circulating tumor cells and their derivatives in the blood of patients with lung cancer depends on the extent of tumor. It has been developed a method for visualization of malignant lesions in the lung macropreparations after surgery using the surgical fluorescent microscope.*

Key words: *lung cancer, aptamers, diagnostics, circulating tumor cells, histological samples, surgery.*

Сегодня разработка новых технологий диагностики онкологических заболеваний является одним из наиболее актуальных и востребованных направлений развития современной медицины. Аптамеры – одонитевые ДНК- или РНК-олигонуклеотиды, специфичные к заданным мишеням [1] могут стать основой для разработки эффективных средств диагностики, скрининга и мониторинга терапии рака. Применение различных методов идентификации биомаркеров в опухолевой ткани и крови пациентов с помощью аптамеров обуславливает создание новых средств диагностики рака легких.

С использованием аптамеров, выбранных к послеоперационным тканям рака легкого были разработаны методы выявления циркулирующих биомаркеров рака легкого, таких как циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), циркулирующие опухолевые микроэмболы (ЦОМ) и апоптотические тельца (АТ) в крови больных, а также

идентификация биомаркеров в гистологических срезах и макропрепарате опухоли. Эффективность использования аптамеров доказана на реальных клинических образцах.

Показано, что аптамеры LC-17, LC-18, LC-29, LC-224 и LC-2108 связываются с соединительными тканями, волокнами, кровеносными сосудами, альвеолами, железистыми структурами, опухолевыми клетками и ядрами в ткани рака легкого и при этом не имеют специфичности к здоровым тканям легкого. Возможно, что данные аптамеры имеют сродство к молекулярным маркерам, вовлеченным в процессы перехода между различными опухолевыми элементами.

Специфичность аптамеров к циркулирующим опухолевым элементам крови больных раком легкого была доказана с помощью конфокальной микроскопии. Также был разработан метод выявления ЦОК, ЦОМ и апоптотических телец в крови больных, подходящий для внедрения

в клиническую практику с использованием флуоресцентной микроскопии. Показано, что аптамеры могут быть использованы для выявления циркулирующих опухолевых элементов крови наряду со стандартными, широко применяемыми маркерами, такими как цитокератины. Эффективность разработанного метода подтверждалась с помощью исследования содержания циркулирующих опухолевых клеток в крови больных раком легкого, других онкологических заболеваний и неопухолевых заболеваниях легких, в ходе которого проводился подсчет ЦОК, ЦОМ и АТ в крови больных, после чего количество найденных опухолевых элементов сопоставлялось с диагнозами пациентов. Установлено, что среднее количество опухолевых клеток и их производных в группе больных аденокарциномой, плоскоклеточным раком и другими типами рака легкого примерно одинаково и составляет в среднем 4-5 клеток, а с мелкоклеточным раком легкого — 14,5 клеток. У больных неопухолевыми заболеваниями легких содержание циркулирующих опухолевых клеток и их производных статистически значимо ниже — в среднем 1,4 клетки. Исследование содержания ЦОК от стадии рака легкого выявило зависимость, характеризующуюся повышением содержания циркулирующих опухолевых клеток на начальных стадиях опухолевого процесса — Т1 и Т2, что составило 3 и 4 клетки, а на распространенных стадиях (Т3 и Т4) — 7 и 9 клеток, соответственно. При этом содержание ЦОК в крови больных раком легкого с отдаленными

метастазами было более чем в 3 раза выше, чем в крови пациентов без диссеминации опухолевого процесса.

Чувствительность, специфичность и диагностическая точность выявления рака легкого с помощью аптамеров LC-17, LC-2114, LC-224, LC-29, LC-2107, LC-2108 с использованием флуоресцентной микроскопии легких составили 78,95%, 82,35% и 80,56%, соответственно.

Кроме того, на основе аптамеров был разработан метод визуализации злокачественных очагов в макропрепарате легкого после оперативного вмешательства с использованием хирургического флуоресцентного микроскопа. Было показано, что аптамеры LC-17 и LC-18, меченные флуоресцентной меткой, локализовались в опухолевых очагах ткани и визуализировались в течение 5 минут после инкубации, проникая на 3-5 мм вглубь ткани. Разработанный метод прост в применении и может быть использован для определения радикальности хирургического лечения при оценке макропрепарата у больных раком легкого после оперативного вмешательства, а также в перспективе — для интраоперационного определения истинных границ опухолевого роста, что позволит уменьшить риск рецидива заболевания.

Литература

1. Ellington A.D., J.W. Szostak. In vitro selection of RNA molecules that bind specific ligands // Nature. — 1990. — № 346. — P. 818-822.