

cancer. Most in the community have felt that this would not be possible because tumors are so variant a single vaccine could not be produced. Cancer is too personal. At the genomic level this is true, but we have found that at the RNA processing level this is not the case. Tumors recurrently make the same splicing errors and these errors result in frameshift variants. These frameshift (FS) variants mark the tumor as 'foreign' and open to immunological attack. However, to be effective as a vaccine these antigens must be presented to the immune system (the vaccine) before the tumor starts to develop.

We put in place a process involving 1) bioinformatics screens of tumor cDNA libraries to find FS, 2) screening for the presence of the FS in the RNA of a tumor panel, 3) testing the FS as vaccines in mouse tumor models, and 4) screening human sera from cancer patients for reactivity to the FS. Based on this process we have gathered a collection of FS candidates for a human vaccine. We currently estimate that less than 20 elements will be needed to provide coverage for most cancers.

When we initiated this project ~9 years ago, most in the field doubted such a vaccine could be made. More recently the opinion has shifted to that it may be possible to create such a vaccine but how would it ever be tested for efficacy. Many think the time and cost involved in Phase II/III trials would be insurmountable. However, we have developed a plan based on another invention, immunosignature diagnostics, which may overcome this problem. This technology is based on profiling the antibodies in an individual. It can detect disease, including cancer, early. Our proposal for a Phase II efficacy trial is that potential participants be prescreened for latent cancers. 1000 cancer free people would be entered into the control and vaccine arms of the trial. Individuals would be frequently monitored by immunosignatures for early signs of cancer. The endpoint would be fewer early events in the vaccine versus control arm after 2 years.

Though a clear challenge, it seems feasible that such a vaccine could be developed. Because it could be inexpensive, all the world would benefit from such a vaccine.

S.A. Johnston

A SIMPLE, ONE CHIP DIAGNOSTIC TECHNOLOGY WITH BROAD APPLICATIONS

Center for Innovations in Medicine, Biodesign Institute, Arizona State University

In the US 85% of the healthcare costs (~\$2.5T/yr) are devoted to taking care of sick people. To change this situation, healthcare must convert from post-symptomatic treatment to prevention and early detection/treatment of disease. We have invented a technology that may facilitate early detection of any disease.

Immunosignaturing diagnostic technology is premised on the idea that the antibody profile of an individual at a given time is a reflection of their health status and that people with common illnesses will present similar profiles. With ~109 different antibodies in a person at a given time the challenge is to splay out enough of them to diagnose. We found that we can do this effectively with chips with ~3×10⁵ random sequence peptides on them. The peptides

are synthesized using computer chip lithography technology so it is scalable.

In the current practice a drop of blood is sent through the standard mail on a filter paper. The drop is diluted ~5000 fold in buffer and applied to the chip. Unbound material is washed off and the antibodies detected with a secondary antibody. It is a very simple, robust process. No processing of the sample is required. The signature algorithm for each disease is produced by comparing a sufficient number of affected and not affected people. The same chip is used for every type of disease diagnosis.

We have applied this technology to distinguish cancers, Alzheimer's disease, diabetes and numerous infectious diseases. The technology has also been used for early detection of disease and evaluation of vaccine candidates.

Our vision is that all people will regularly send in a drop of blood to be monitored for any indication of disease. This will be done for little cost and be highly specific. Eventually the system could be in the home. In this way we could transition to a truly presymptomatic health system.

Б.Ж. Атантаева, З.А. Манамбаева, К.Т. Жабагин, Б.К. Куанова, Л.А. Пак

BRAF-ОНКОГЕН ПРИ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Региональный онкологический диспансер, Государственный медицинский университет, г. Семей, Республика Казахстан

Папиллярный рак щитовидной железы (ПРЩЖ) составляет от 65 до 85% всех злокачественных опухолей этого органа. Новообразование характеризуется благоприятным прогнозом для жизни. Однако от 10 до 15% ПРЩЖ отличаются агрессивным поведением, дают ранние метастазы и имеют высокий показатель смертности. Соматическая мутация в гене *BRAFV600E* считается наиболее распространенным молекулярным дефектом при спорадическом папиллярном раке (39—83%), характерна для более агрессивного течения заболевания и определяется уже при I стадии.

Нами была выполнена работа по определению BRAF-мутаций при новообразованиях щитовидной железы. Всего обследован 131 человек с узловыми образованиями щитовидной железы, выявленными при ультразвуковом исследовании. Женщин было 123, мужчин – 8, средний возраст обследованных составил 51,9 года. Всем пациентам выполнена тонкоигольная биопсия под контролем УЗИ. Все цитологические мазки окрашивались по методике Папаниколау. Исследования по выявлению мутаций гена *BRAF* выполнялись в отделе молекулярной медицины Института радиационно-индуцированных заболеваний Университета Нагасаки, Японии.

Были получены следующие данные: папиллярные карциномы составили 77 (56,2%) случаев, доброкачественные опухоли — 18 (13,1%), фолликулярный неоплазм – 15 (10,9%), подозрение на рак – 15 (10,9%), фолликулярная карцинома – 8 (5,8%), низкодифференцированная карцинома – 2 (1,5%), злокачественная лимфома – 1 (0,72%). Из 77 пациентов с ПРЩЖ мутации *BRAF*-гена обнаружены в 19 (24,6%) случаях. При

других формах доброкачественных и злокачественных поражений данного органа у больных, вошедших в исследование, *BRAF*-мутации не установлены.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что мутации в гене *BRAF* происходят только при злокачественных новообразованиях щитовидной железы, при доброкачественных опухолях данные мутации не встречаются. Среди всех форм РЩЖ мутации в гене *BRAF* наблюдались только при папиллярных карциномах.

Наличие мутации в гене *BRAF* можно использовать в качестве диагностического критерия РЩЖ, в частности его папиллярной формы. Выявление мутации в гене *BRAF* можно использовать при дифференциальной диагностике опухолей щитовидной железы и в качестве диагностического маркера при папиллярном раке.

И.П. Бобров, Т.М. Черданцева, В.В. Климачев, В.М. Брюханов, А.Ф. Лазарев, А.М. Авдалян

ЭКСПРЕССИЯ АРГЕНТОФИЛЬНЫХ БЕЛКОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ОБЛАСТЬЮ ЯДРЫШКОВОГО ОРГАНИЗАТОРА (AGNOR) ПРИ РАКЕ ПОЧКИ

ГБОУ ВПО "Алтайский государственный медицинский университет" Минздрава России, Алтайский филиал ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» РАМН, 656049, г. Барнаул, Россия

Аргентофильные белки С23 и В23 (нуклеолин и нуклеофозмин), ассоциированные с областью ядрышкового организатора, ответственны за активизацию и контроль транскрипции рибосомных генов в клетке. Отличительным свойством этих белков является их способность выявляться нитратом серебра и поэтому количественные параметры аргентофилии ядрышка могут отражать пролиферативный потенциал клетки. В последние годы также показано, что белок С23 в опухолевых клетках взаимодействует с молекулами адгезии, что приводит к ослаблению межклеточных связей, кроме того нуклеолин может усиливать экспрессию матриксной металлопротеиназы-9, что в целом способствует росту миграционной активности опухолевых клеток, их инвазии и метастазированию (Райхлин Н.Т. и соавт., 2010).

Цель исследования — изучить активность AgNOR при почечно-клеточном раке (ПКР), выявить взаимосвязи с наиболее важными клинико-морфологическими факторами прогноза и послеоперационной выживаемостью больных.

Материал и методы. Изучен операционный материал от 82 больных ПКР. Средний возраст пациентов составил $57,4 \pm 1,1$ года. Мужчин было 42 (51,2%), женщин — 40 (48,8%). Для определения активности ядрышковых организаторов гистологические срезы окрашивали нитратом серебра по двухступенчатому методу Y. Daskal и соавт. (1980) в нашей модификации (Бобров И.П. и соавт., 2010). В каждом случае подсчитывали среднее число гранул серебра (AgNORs) на 1 ядро в 25–30 клетках. Степень ядерной атипии клеток опухоли определяли по S. Fuhrman и соавт. (1982). Статистическая обработка материала проводилась с помощью статистического пакета Statistica 6.0. Построение кривых выживаемости

проводили по методу Каплана – Мейера, достоверность различий показателей выживаемости оценивали с помощью log-rank-теста.

Результаты и обсуждение. Разброс значений AgNORs среди всех больных составил от 1,9 до 34,5, среднее значение числа AgNORs на 1 ядро опухолевой клетки составило $8,7 \pm 0,8$ и медиана 5. При сопоставлении с важными клинико-анатомическими прогностическими параметрами ПКР были получены следующие корреляции количества AgNORs на 1 ядро: со степенью анаплазии (G) опухоли ($r = 0,69$; $p = 0,0001$); размером опухолевого узла ($r = 0,60$; $p = 0,0001$); наличием метастазов ($r = 0,68$; $p = 0,0001$) и стадией по TNM ($r = 0,69$; $p = 0,0001$). При анализе активности AgNORs в зависимости от стадии заболевания по TNM получены следующие результаты: у пациентов с I клинической стадией среднее значение AgNORs составило $4,8 \pm 0,4$; во II стадии число AgNORs возрастало до $8,2 \pm 2,8$ ($p = 0,04$); в III стадии количество AgNORs увеличивалось до $12,5 \pm 1,9$ ($p = 0,36$) и в IV стадии оно равнялось $17,3 \pm 1,7$ ($p = 0,05$). Таким образом, в III и IV стадиях отмечали достоверное увеличение AgNORs по сравнению с I стадией, а в IV стадии число AgNORs значимо возросло по сравнению с III стадией патологического процесса. При размере опухолевого узла < 7 см число AgNORs равнялось $5,3 \pm 0,6$, а при размере ≥ 7 см количество AgNORs в опухоли достоверно увеличивалось до $13,5 \pm 1,4$ ($p = 0,0000001$). В опухолях больных без регионарных и отдаленных метастазов содержание AgNORs составило $5,1 \pm 0,4$, а при наличии метастазов оно достоверно возросло до $17,1 \pm 1,2$ ($p = 0,0000001$). При анализе активности AgNORs в зависимости от стадии заболевания по TNM получены следующие результаты: у пациентов с I стадией среднее значение AgNORs составило $4,8 \pm 0,4$; во II стадии число AgNORs возрастало до $8,2 \pm 2,8$ ($p = 0,04$); в III стадии количество AgNORs увеличивалось до $12,5 \pm 1,9$ ($p = 0,36$) и в IV стадии оно равнялось $17,3 \pm 1,7$ ($p = 0,05$). Таким образом, в III и IV стадиях отмечали достоверное увеличение AgNORs по сравнению с I стадией, а в IV стадии число AgNORs значимо возросло по сравнению с III стадией патологического процесса.

Нами проанализированы отдаленные результаты хирургического лечения у пациентов в зависимости от числа AgNORs в клетках опухоли. Поскольку при исследовании активности AgNORs медиана числа AgNORs в опухолевых клетках составила 5 AgNORs на 1 ядро, данное значение нами было взято за «критическую прогностическую точку», позволяющую разделить больных на 2 группы. В зависимости от числа AgNORs 1-ю группу составили опухоли с малым числом AgNORs на 1 ядро (< 5 AgNORs); 2-ю группу — опухоли с большим числом AgNORs на 1 ядро (≥ 5 AgNORs). В 1-й группе через год были живы 100% больных, через 2 года — 100% больных, через 3 года — 97,8%, через 4 года — 97,8%, через 5 лет — 97,8%. Во 2-й группе через год были живы 92,3% пациентов, через 2 года — 92,3%, через 3 года — 79,5%, через 4 года — 59%, через 5 лет — 56,4%.

При анализе выживаемости по методу Каплана – Мейера обнаружено, что если число AgNORs в ядрышках клеток опухоли было < 5 , то кумулятивная доля выживших к 1800-му дню составила 0,96, а когда число AgNORs было ≥ 5 , то кумулятивная доля выживших к 1800-му дню была равна 0,45. При проверке достоверности кривых выживания с помощью логарифмического рангового критерия было показано, что данные достоверны (log-rank-test; $p = 0,0002$).