

На правах рукописи

ИВАНОВА ЭМИЛИЯ ВЛАДИМИРОВНА

**ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ В
ПАТОГЕНЕЗЕ И ПРОГНОЗЕ РАКА ЖЕЛУДКА И ТОЛСТОЙ КИШКИ**

14.01.12 – онкология
14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский научно-исследовательский институт онкологии»

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
Кондакова Ирина Викторовна

доктор медицинских наук
Черемисина Ольга Владимировна

Официальные оппоненты:

Дмитриева Алла Ивановна
доктор медицинских наук,
Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский институт» Минздрава России, профессор кафедры патофизиологии

Фурсов Сергей Александрович
доктор медицинских наук,
Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, профессор кафедры онкологии

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», г. Москва

Защита состоится «__» _____ 2015г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д001.032.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Томский научно-исследовательский институт онкологии» (634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Томского НИИ онкологии, www.oncology.tomsk.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2015г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор



Фролова И.Г.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Заболеваемость злокачественными новообразованиями органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) сохраняет одно из ведущих мест в структуре онкологической патологии. Наиболее распространенными среди них являются рак желудка (РЖ) и колоректальный рак (КРР).

РЖ часто развивается на фоне патологических состояний (атрофический гастрит, полипы желудка) и предраковых изменений слизистой оболочки желудка, которые проявляются в дисплазии различной степени. Для РЖ характерно разнообразие гистологических типов, раннее метастазирование, а также высокая запущенность и смертность [Мартов С.И., 2010]. В структуре заболеваемости онкологической патологией его распространенность составляет 7,0% [Каприн А.Д., 2015].

К другим часто встречающимся злокачественным опухолям ЖКТ относится рак толстой кишки, заболеваемость которым неуклонно растет в последние десятилетия. Рак ободочной и прямой кишки в последнее время принято объединять в понятие КРР. В структуре онкологической патологии распространенность данного заболевания составляет 11,4% [Каприн А.Д., 2015].

Развитие фундаментальных представлений о патогенезе рака желудка и колоректального рака является актуальной проблемой современной онкологии. Решение данной проблемы позволит не только понять закономерности изменения клеточных процессов на молекулярном уровне при развитии опухолей, но и применить полученные знания для поиска новых маркеров прогрессирования заболевания, а также формирования адекватной лекарственной терапии онкологических заболеваний.

Среди протеолитических систем организма, играющих роль в патогенезе онкологических заболеваний, наибольшую значимость приобретают протеасомная и кальпаиновая системы. Роль протеасом в клетке разнообразна и многогранна. Они осуществляют протеолиз около 80% цитозольных, ядерных белков [Шарова Н.П., 2011]. Внушительное число ключевых регуляторных белков клетки элиминируется или процессируется протеасомой. Среди них циклины, ингибиторы циклин-зависимых киназ, фосфатазы, киназы, факторы транскрипции и трансляции. Такая важная биологическая роль протеасомной системы подразумевает, что она неминуемо должна быть вовлечена в патофизиологические процессы, результатом которых является развитие аутоиммунных, воспалительных, вирусных, нейродегенеративных и онкологических заболеваний [Сорокин А.В., 2009; Цимоха А.С., 2010]. Вероятно, протеасомная система играет неотъемлемую роль в механизмах развития злокачественных образований ЖКТ. В этой связи представляется важным изучение внутриклеточных протеиназ. Изменение активности и субъединичного состава протеасом в разные периоды развития опухоли может быть уникальной характеристикой различных стадий заболевания. В настоящее

время проведено лишь частичное исследование протеасом опухолей ЖКТ [Arlt A., 2009; Nakata W., 2011].

Кроме протеасомной системы к внутриклеточным протеолитическим системам относится кальпаиновая система [Немова Н.Н., 2010]. Физиологические функции кальпаиновой системы являются многообразными и до конца не изученными. Кальпаины выполняют функцию «модернизации» цитоскелета, протеолитической модификации молекул передачи сигнала, ферментов, белков клеточного цикла, апоптоза и других. Тот факт, что кальпаины расщепляют полипептиды в небольшом числе сайтов, оставляя большие часто каталитически активные фрагменты, указывает на то, что у кальпаинов есть регулирующая или сигнальная функция в клетках [Goll D.E., 2003]. В этой связи, изучение роли кальпаиновой системы в развитии и прогрессировании рака желудка и колоректального рака является весьма актуальным. Вопрос о значении кальпаиновой системы в развитии и прогрессировании опухолей ЖКТ, а также в прогнозе течения заболевания злокачественными новообразованиями в настоящее время остается открытым.

Однако особенности функционирования внутриклеточных протеолитических систем в ткани РЖ и КРР в зависимости от клинко-морфологических параметров заболевания и его исхода не изучены, что затрудняет оценку роли данных протеолитических систем в опухолевой прогрессии. Изучение состояния протеасомной и кальпаиновой систем представляется актуальным и может послужить основой для разработки маркеров, позволяющих прогнозировать течение РЖ и КРР.

Цель исследования: изучение связи функционирования протеасом и кальпаинов с клинко-морфологическими параметрами заболевания и прогнозом рака желудка и колоректального рака.

Задачи исследования

1. Провести сравнительный анализ активности протеасом, их пулов, субъединичного состава и активности кальпаинов в опухоли желудка, неизменной ткани, слизистой оболочке при атрофическом гастрите.

2. Провести сравнительный анализ активности протеасом, их пулов, субъединичного состава и активности кальпаинов в образцах опухолей толстой кишки в сравнении с соответствующими гистологически неизменными тканями.

3. Сопоставить активность протеасом, их пулов, экспрессию субъединиц протеасом, а также общую кальпаиновую активность со стадией заболевания и дифференцировкой изучаемых опухолей.

4. Оценить прогностическую значимость показателей протеасомной системы и активности кальпаинов в отношении 2-летней общей и безметастатической выживаемости больных раком желудка и колоректальным раком.

5. Разработать способы прогнозирования исхода заболевания при раке желудка и отдаленного метастазирования при раке толстой кишки.

Научная новизна

Впервые при раке желудка показано увеличение химотрипсинподобной активности протеасом при лимфогенном метастазировании и выявлено уменьшение активности 26S и 20S пулов протеасом в низкодифференцированных опухолях по сравнению с умереннодифференцированными новообразованиями. В опухоли желудка показано увеличение экспрессии тотального пула протеасом и экспрессии субъединиц LMP7, LMP2, PA28 β и Rpt6 по сравнению с неизменной тканью. Также впервые показано увеличение общей кальпаиновой активности при раке желудка по сравнению с неизменной тканью, слизистой оболочкой при атрофическом гастрите, а также нормальной слизистой желудка.

При раке ободочной кишки впервые выявлено увеличение активности протеасом и их пулов, а также экспрессии иммунных (LMP7, LMP2) субъединиц протеасом в опухоли по сравнению с неизменной тканью. При локорегионарном метастазировании зарегистрировано увеличение активности 26S и 20S пулов по сравнению с группой больных, не имеющих метастазов в лимфоузлы. При наличии отдаленных метастазов, напротив, увеличивается тотальная активность протеасом, что может служить прогностически неблагоприятным фактором течения рака ободочной кишки. Впервые показано, что при наличии отдаленных метастазов снижена экспрессия LMP2 субъединицы протеасом по сравнению с группой больных без отдаленных метастазов. При раке ободочной кишки зарегистрировано увеличение общей кальпаиновой активности как при развитии метастазов в регионарных лимфоузлах, так и при отдаленных метастазах, что также является важным прогностическим фактором.

В отличие от рака ободочной кишки, в опухоли прямой кишки не установлено увеличения протеасомной активности по сравнению с неизменной тканью. При этом зарегистрировано увеличение общей кальпаиновой активности в опухоли. Кроме того, при раке прямой кишки впервые показано увеличение экспрессии активаторной PA28 β , регуляторной Rpt6 и иммунной LMP2 субъединиц протеасом, по сравнению с неизменной тканью.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные данные фундаментального характера раскрывают роль протеасомной и кальпаиновой систем в прогрессировании рака желудка и толстой кишки и могут служить основой для дальнейшего изучения патогенеза злокачественных новообразований. Полученные результаты, характеризующие значимое увеличение активности протеасом и кальпаинов при раке желудка, по сравнению с неизменной тканью, слизистой оболочкой при атрофическом гастрите показывают важную роль данных протеолитических систем в патогенезе рака желудка. Представленные в работе результаты характеризуют зависимость протеасомной и кальпаиновой систем от клинико-морфологических параметров рака желудка и толстой кишки, что также

свидетельствует об участии изучаемых протеолитических систем в разных этапах патогенеза данных заболеваний.

Результаты исследования могут послужить дополнительными критериями прогноза течения рака желудка и толстой кишки. Выявлено, что тотальная активность протеасом и активность 20S пула протеасом, а также экспрессия LMP7 и PA28 β субъединиц протеасом являются значимыми факторами в отношении 2-летней безметастатической выживаемости больных раком желудка, а содержание Rpt6 субъединицы протеасом – 2-летней общей выживаемости.

При раке ободочной кишки зафиксировано, что тотальная активность протеасом и общая кальпаиновая активность в опухолевой и неизменной ткани ободочной кишки, являются значимыми факторами в отношении 2-летней безметастатической выживаемости больных.

Созданы математические модели прогноза исхода заболевания у больных раком желудка и оценки риска развития отдаленных метастазов у больных раком ободочной кишки.

Положения, выносимые на защиту

1. Активность протеасом и их пулов, а также кальпаиновая активность значительно выше в опухоли желудка по сравнению с неизменной тканью, а также слизистой оболочкой при атрофическом гастрите и нормальной слизистой. Протеасомная и кальпаиновая активность значительно выше в опухоли ободочной кишки по сравнению с неизменной тканью. Напротив, в опухоли прямой кишки значимое увеличение наблюдалось лишь для кальпаиновой активности. Изменение активности протеасом сопровождалось изменением их субъединичного состава.

2. Химотрипсинподобная активность протеасом и их субъединичный состав, а также активность кальпаинов при раке желудка зависит от местной распространенности опухоли, наличия регионарных метастазов, а также степени гистологической дифференцировки опухоли. При раке ободочной кишки активность протеасом зависит от наличия отдаленных метастазов.

3. Активность протеасом, их субъединичный состав и активность кальпаинов могут служить важными прогностическими факторами в отношении 2-летней безметастатической выживаемости больных раком желудка и раком ободочной кишки. Кроме того, активность 20S пула протеасом, а также экспрессия LMP7 и PA28 β субъединиц протеасом служат значимыми факторами в отношении 2-летней безметастатической выживаемости, а содержание Rpt6 субъединицы протеасом – 2-летней общей выживаемости больных раком желудка.

Апробация работы

Основные результаты работы доложены на Всероссийской научной конференции с международным участием «Дни биохимии в СПбГМУ», (Санкт-Петербург, 2011) и на VII – IX Региональных конференциях молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В. Васильева «Актуальные

вопросы экспериментальной и клинической онкологии» (Томск, 2012-2014).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, отражающих основные ее положения, в том числе 3 статьи в рецензируемых отечественных журналах, рекомендованных ВАК.

Внедрение результатов исследования

Основные положения и результаты диссертационной работы нашли практическое применение в работе торакоабдоминального отделения Томского НИИ онкологии. Теоретические и практические положения, развиваемые в диссертационной работе, используются в учебном процессе на кафедре биохимии и молекулярной биологии для студентов медико-биологического факультета, а также на кафедре онкологии, для студентов лечебного и педиатрического факультетов Сибирского государственного медицинского университета.

Личный вклад автора

Анализ литературы по теме диссертации, планирование исследования, определение цели и задач, выбор методов исследования, проведение исследования настоящей работы, статистический анализ результатов и написание диссертации выполнены лично автором.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 156 страницах машинописного текста, содержит 27 таблиц и иллюстрирована 34 рисунками. Библиография включает 152 литературных источника, из которых 49 отечественных и 103 иностранных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего в исследование было включено 70 пациентов с диагнозом РЖ, 72 больных с диагнозом КРР и 23 пациента с диагнозом атрофический гастрит, обратившихся на консультативный прием в эндоскопическое отделение и находившихся на стационарном лечении в торако-абдоминальном отделении Томского НИИ онкологии с 2010 по 2014 г. Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с Федеральным законом «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» № 323-ФЗ от 21 ноября 2011 года, получено разрешение этического комитета института.

Пациентам с патологией желудка проводилась видеогастроскопия, больным с опухолями толстой кишки видеокOLONоскопия с биопсией из слизистой оболочки для верификации диагноза. При подтверждении диагноза рак желудка и толстой кишки, пациентам проводилось радикальное хирургическое вмешательство, с гистологической верификацией полученных образцов опухоли и неизменной ткани. В соответствии с TNM классификацией (2010 г., 7-й пересмотр) сформированы следующие

клинические группы.

I группа: 70 больных с морфологически верифицированным диагнозом РЖ, T1-4N0-3M0, интестинального типа.

IA: 25 больных, T1-4N0-3M0, которым проводилась неoadьювантная химиотерапия (НАХТ) по схеме FolFox.

IB: 45 больных, T1-4N0-3M0, которым проводилось только оперативное лечение.

II группа: 23 больных с диагнозом атрофический гастрит.

III группа: 72 больных с морфологически верифицированным диагнозом КРР, T2-4N0-3M0-1.

IIIA: 46 больных с диагнозом рак ободочной кишки, T1-4N0-3M0-1.

IIIB: 26 больных с диагнозом рак прямой кишки, T1-4N0-3M0, которым проводилась предоперационная химио-лучевая терапия.

Материалом для исследования служили образцы опухолевой и гистологически неизменной ткани, взятой на расстоянии не менее 1 см от границы опухоли, полученные при выполнении радикального оперативного вмешательства. Образцы тканей замораживали и хранили при -80°C .

Для получения осветленных гомогенатов замороженные образцы ткани (100 мг) гомогенизировали в жидком азоте, затем ресуспендировали в 300 мкл 50 mM трис-HCl буфере (pH=7,5), содержащем 2 mM АТФ, 5 mM хлорид магния, 1 mM дитиотреитол, 1mM ЭДТА и 100 mM хлорид натрия. Гомогенат центрифугировали 60 минут при 10000g и 4°C .

Фракционирование протеасом и выделение пулов проводили по методу Е.Б. Абрамовой с соавт. Фракцию, обогащенную 26S-протеасомами, получали добавлением сульфата аммония до 40% насыщения, 20S-протеасом – до 70% насыщения.

Химотрипсинподобную активность протеасом определяли в осветленных гомогенатах опухолевой, гиперплазированной и неизменной ткани эндометрия по гидролизу флуорогенного олигопептида Suc-LLVY-AMC (Sigma). Для оценки активности примесных протеаз применяли специфический ингибитор протеасом – MG132 (Sigma).

Экспрессию тотального пула протеасом и субъединиц протеасом в тканях исследовали методом Вестерн-блоттинг с применением первичных антител к субъединицам протеасом и к β -актину, вторичными антителами goat anti-mouse IgG-horseradish peroxidase (HRP) и goat anti-rabbit IgG-HRP (Santa Cruz Biotechnology, США) в разведениях, рекомендованных производителем. Стандартизация проводилась относительно β -актина. Результаты выражали в процентах от содержания субъединиц протеасом в неизменной ткани.

Определение активности кальпаинов проводили в осветленных гомогенатах по гидролизу Suc-LLVY-AMC с добавлением ингибитора кальпаинов ALLN (Sigma). Удельную активность кальпаинов выражали в единицах активности на 1 мг белка.

При статистической обработке полученных результатов использовались методы описательной статистики, критерии Шапиро-Уилка, Манна-Уитни,

Краскела-Уоллиса с поправкой Бонферрони, рассчитывался коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Прогностическая значимость признаков в отношении общей и безметастатической выживаемости у больных РЖ и КРР оценена с помощью программы Survival Analysis, Statistica 6.0; кривые кумулятивной выживаемости строились по методу Каплана-Майера; для сравнения показателей выживаемости был использован обобщенный критерий Гехана-Вилкоксона.

Для создания модели прогноза исхода заболевания у пациентов с диагнозом РЖ и модели оценки риска развития отдаленных метастазов у пациентов с раком ободочной кишки использовался дискриминантный анализ. Также для оценки риска развития отдаленных метастазов у пациентов с диагнозом рак ободочной и прямой кишки использовали критерий Хи-квадрат Пирсона. Значимость различий считали достоверной при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования выявлено повышение химотрипсинподобной активности протеасом в опухоли желудка по сравнению, как с неизменной тканью, так и со слизистой оболочкой при атрофическом гастрите и нормальной слизистой желудка. Так, обнаружено достоверное увеличение totalной активности протеасом в опухоли желудка по сравнению с неизменной тканью, со слизистой оболочкой при атрофическом гастрите и нормальной слизистой желудка в 2,6; 3,5; 4,9 раза соответственно. Кроме того, зафиксировано значимое повышение активности 26S и 20S пулов протеасом в опухоли желудка по сравнению с неизменной слизистой в 1,7 и 1,7 раза соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Химотрипсинподобная активность протеасом и их пулов в опухолевой и неизменной ткани желудка, слизистой оболочке при атрофическом гастрите и нормальной слизистой желудка, Me (Q₁; Q₃)

Диагноз, (n)		Тотальная активность, ·1000 Ед/мг белка		Активность пула 26S, ·1000 Ед/мг белка		Активность пула 20S, ·1000 Ед/мг белка	
		Медиана	Q1;Q3	Медиана	Q1;Q3	Медиана	Q1;Q3
Атрофический гастрит	Нормальная слизистая желудка, (23)	22,22	5,43; 31,74				
	Атрофический гастрит, (23)	31,41	10,34; 50,42				
Рак желудка	Неизменная ткань, (70)	41,80	18,76	31,25	10,54; 55,13	55,60	33,37; 92,50
	Опухоль, (70)	108,70* , p=0,001	39,87; 161,65	54,00** , p=0,001	24,59; 81,00	95,83** , p=0,003	45,72; 163,60

Примечание: n – число больных;

* - значимость различий по сравнению с неизменной тканью, слизистой оболочкой при атрофическом гастрите, нормальной слизистой желудка, $p < 0,05$;

** - значимость различий по сравнению с неизменной тканью, $p < 0,05$.

При изучении зависимости протеасомной активности при РЖ от распространенности первичной опухоли значимых различий не выявлено. Проанализировав активность протеасом и их пулов в зависимости от прогрессирования патологического процесса, выявлено достоверное увеличение тотальной активности протеасом в группе больных со стадией T2-4N2M0, по сравнению с группами больных со стадиями T1-4N1M0 и T1-4N0M0 на $31,45 \cdot 1000$ Ед/мг белка и $37,25 \cdot 1000$ Ед/мг белка, соответственно. При изучении зависимости активности протеасом и их пулов при РЖ от степени гистологической дифференцировки опухоли, выявлено достоверное увеличение активности 26S и 20S пулов протеасом в группе больных с опухолью низкой степени дифференцировки, по сравнению с больными, с умереннодифференцированным раком в 1,6 и 1,8 раза соответственно.

При изучении субъединичного состава протеасом в опухоли желудка и неизменной ткани показано, что экспрессия тотального пула протеасом была значимо снижена в опухоли до 59,0% по сравнению с неизменной тканью. Также выявлено достоверное увеличение содержания активаторной PA28 β и регуляторной Rpt6 субъединиц протеасом в опухоли на 57,2% и 54,9% соответственно, по сравнению с неизменной тканью. Кроме того, в исследовании зарегистрированы значимые увеличения экспрессии иммунных LMP7 и LMP2 субъединиц протеасом в опухоли желудка на 49,5% и 51,7% по сравнению с неизменной тканью.

При исследовании зависимости субъединичного состава протеасом при РЖ от распространенности первичной опухоли, выявлено значимое снижение экспрессии LMP7 субъединицы протеасом. При проведении сравнительного исследования субъединичного состава протеасом при РЖ в зависимости от прогрессирования патологического процесса, выявлено достоверное увеличение экспрессии иммунной субъединицы протеасом LMP7 в группе больных со стадией T1-4N0M0, по сравнению с группой больных со стадией T2-4N2M0. Кроме того, наблюдалось снижение содержания другой иммунной субъединицы протеасом LMP2 в группе больных со стадией T2-4N2M0, по сравнению с другими стадиями патологического процесса при РЖ. Экспрессия активаторной субъединицы протеасом PA28 β достоверно увеличивалась на 25,1% в группе больных со стадией T1-4N0M0, по сравнению с группой больных со стадией T1-4N2M0. При исследовании зависимости субъединичного состава протеасом при РЖ от степени гистологической дифференцировки опухоли значимых изменений субъединичного состава протеасом не выявлено.

При исследовании общей активности кальпаинов выявлено значимое ее увеличение в опухоли желудка, по сравнению с неизменной тканью, слизистой оболочкой при атрофическом гастрите, а также нормальной слизистой желудка в 2,1; 3,4; 6,0 раз соответственно. Ранее показано, что для оценки прогноза течения гастро-эзофагеальных аденокарцином можно применять значения экспрессии генов CAPN1 и CAPN2 [Storr S.J., 2012].

При исследовании зависимости общей кальпаиновой активности при РЖ

от распространенности первичной опухоли значимых различий не установлено. Показано достоверное увеличение общей кальпаиновой активности в группе больных со стадией T2-4N3M0 ($p=0,02$), по сравнению с группами больных со стадиями T1-4N0M0, T1-4N1M0, T2-4N2M0 в 2,8 раза.

Проведен анализ общей и безметастатической выживаемости при РЖ в зависимости от показателей протеасомной и кальпаиновой систем. Сроки наблюдения за больными составили от 1 до 50 месяцев, среднее время наблюдения – 12 месяцев. Анализ выживаемости показал, что статистически значимыми факторами в отношении 2-летней безметастатической выживаемости у больных РЖ являются тотальная активность протеасом и активность 20S пула протеасом, а также экспрессия LMP7 и PA28 β субъединиц протеасом. В отношении 2-летней общей выживаемости – экспрессия субъединицы протеасом Rpt6.

Кроме того, в исследовании выявлено, что уровень экспрессии LMP7 субъединицы протеасом свыше 135,5% и PA28 β субъединицы протеасом ниже 166%, являются неблагоприятными факторами прогноза в отношении безметастатической выживаемости при РЖ (рис. 1, 2).

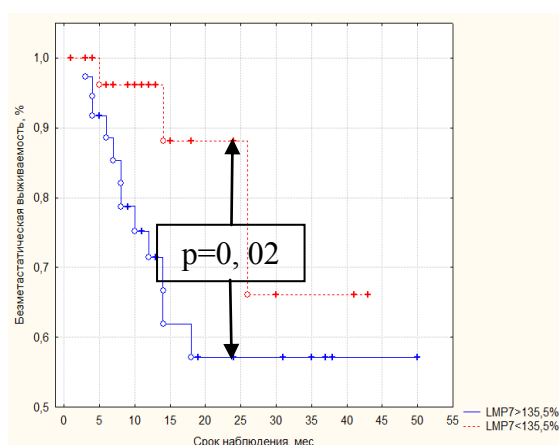


Рис. 1. – Показатели 2-летней безметастатической выживаемости больных раком желудка в зависимости от экспрессии протеасомной субъединицы LMP7.

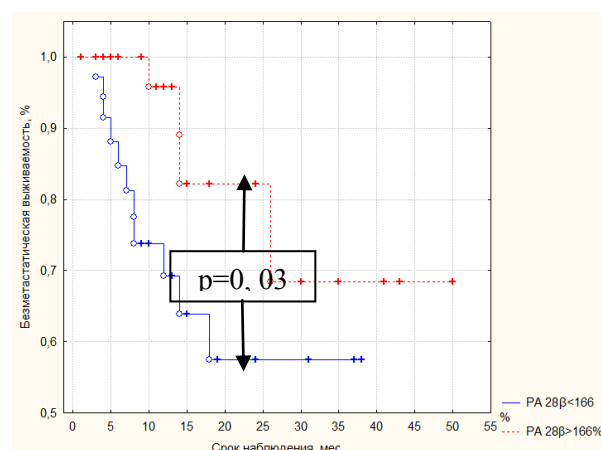


Рис. 2. – Показатели 2-летней безметастатической выживаемости больных раком желудка в зависимости от экспрессии протеасомной субъединицы PA28 β .

Также в исследовании получены результаты о взаимосвязи содержания Rpt6 субъединицы протеасом в опухоли желудка с 2-летней общей выживаемостью больных. Так, показано, что уровень экспрессии Rpt6 субъединицы протеасом свыше 155% является отрицательным прогностическим фактором для 2-летней общей выживаемости больных РЖ (рис. 3).

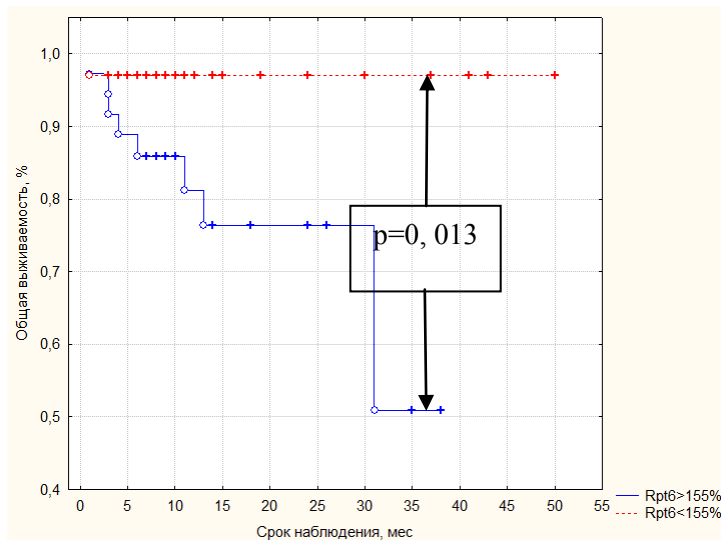


Рис. 3. – Показатели 2-летней общей выживаемости больных раком желудка в зависимости от экспрессии протеасомной субъединицы Rpt6.

По итогам работы разработана модель прогноза исхода заболевания у больных РЖ на основании показателей внутриклеточного протеолиза. В результате были получены следующие линейные дискриминантные функции:

$Y1 = -$

$0,015 \cdot X1 + 0,006 \cdot X2 + 0,085 \cdot X3 + 0,011 \cdot X4 + 0,083 \cdot X5 + 0,006 \cdot X6 + 0,100 \cdot X7 + 0,087 \cdot X8 + 0,066 \cdot X9 + 0,681 \cdot X10 - 45,698;$

$Y2 = - 0,017 \cdot X1 -$

$0,006 \cdot X2 + 0,146 \cdot X3 + 0,004 \cdot X4 + 0,122 \cdot X5 + 0,012 \cdot X6 + 0,123 \cdot X7 + 0,098 \cdot X8 + 0,102 \cdot X9 + 0,831 \cdot X10 - 74,476,$

Процедуру отнесения объекта к классу проводилось в два этапа. На первом этапе рассчитывали значения $Y1$ и $Y2$ с использованием значений показателей у исследуемого объекта. Далее относили объект (больного РЖ) к одному из классов на основании следующих неравенств: если $Y1 > Y2$, то объект относится к первому классу (прогноз неблагоприятного исхода менее 5%); если $Y1 < Y2$, то объект относится ко второму классу (высокий прогноз неблагоприятного исхода). Таким образом, разработанная модель позволяет объективизировать критерии прогноза исхода заболевания у больных РЖ, а также с высокой долей чувствительности и специфичности прогнозировать у них развитие того или иного исхода заболевания, что в свою очередь позволяет планировать адекватный объем лечения в рамках послеоперационной терапии РЖ.

Помимо исследования показателей протеасомной и кальпаиновой систем при РЖ, было проведено аналогичное исследование в опухоли и неизменной ткани больных КРР.

Исследование тотальной химотрипсинподобной активности протеасом, а также активности их пулов 26S и 20S проведено в опухолевой и неизменной ткани 46 больных с морфологически верифицированным диагнозом рак ободочной кишки T1-4N0-3M0-1. В результате проведенного исследования выявлено усиление протеолиза в опухоли ободочной кишки, по сравнению с

неизменной тканью. Так, обнаружено значимое увеличение тотальной активности и активности 26S и 20S пулов протеасом при раке ободочной кишки по сравнению с неизменной тканью в 2,1; 1,9; 1,6 раза соответственно (табл. 2). Выявлено увеличение тотальной активности протеасом, а также активности 26S и 20S пулов протеасом. Обнаруженные изменения состояния протеасомной системы связаны с активацией как специфического (АТФ-зависимого), так и неспецифического протеолиза. Полный специфический протеолиз осуществляется 26S протеасомами [Шарова Н.П., 2006], повышенная активность 26S протеасом в опухоли ободочной кишки является отражением данного процесса. Активация неспецифического, неполного протеолиза также характерна для данной патологии: в ткани опухоли обнаружено значительное повышение химотрипсиноподобной активности 20S протеасом. Полученные результаты согласуются с литературными данными для опухолей других локализаций, среди которых, рак молочной железы и эндометрия, а также плоскоклеточные карциномы головы и шеи [Кондакова И.В., 2012; Шашова Е.Е., 2013].

Таблица 2

Активность протеасом и их пулов в опухолевой и неизменной ткани ободочной кишки

Рак ободочной кишки, (n)	Тотальная активность, ·1000 Ед/мг белка		Активность пула 26S, ·1000 Ед/мг белка		Активность пула 20S, ·1000 Ед/мг белка	
	Медиана	Q ₁ ;Q ₃	Медиана	Q ₁ ;Q ₃	Медиана	Q ₁ ;Q ₃
Неизменная ткань, (46)	34,90	14,59; 68,24	22,60	12,03; 47,77	54,50	31,30; 106,71
Опухоль, (46)	73,15* , p=0,0005	43,00; 114,27	43,22* , p=0,015	25,25; 63,07	85,65* , p=0,048	43,11; 156,76

Примечание: n – число больных; * - значимость различий по сравнению с неизменной тканью.

При изучении зависимости протеасомной активности от распространенности первичной опухоли ободочной кишки значимых отличий не выявлено. Проанализировав активность протеасом и их пулов при раке ободочной кишки в зависимости от метастазирования в регионарные лимфоузлы, выявлено достоверное увеличение активности 26S и 20S пулов протеасом в группе больных со стадиями T2-4N1-3M0, по сравнению с группой больных со стадией T2-4N0M0 в 1,6 и 1,7 раза соответственно. При изучении зависимости активности протеасом и их пулов при раке ободочной кишки от наличия отдаленных метастазов, выявлено значимое увеличение тотальной активности протеасом в группе больных со стадией T2-4N1-3M1, по сравнению с группой больных со стадией T2-4N1-3M0 на 40,16·1000 Ед/мг белка. Выявлено достоверное увеличение активности 20S пула протеасом в 2,5 раза в группе больных с низкодифференцированной аденокарциномой ободочной кишки, по сравнению с группой больных с высокодифференцированной

опухолью ободочной кишки.

При изучении субъединичного состава в опухоли и неизменной ткани ободочной кишки установлено значимое снижение экспрессии тотального пула протеасом в опухоли до 63,5% по сравнению с неизменной тканью. Кроме того, было выявлено достоверное увеличение экспрессии иммунных (LMP7 и LMP2) субъединиц протеасом в опухоли, по сравнению с неизменной тканью на 65,9% и 63,5% соответственно.

При исследовании зависимости субъединичного состава протеасом от распространенности первичной опухоли при раке ободочной кишки, выявлено значимое увеличение экспрессии тотального пула протеасом, определяемого по содержанию $\alpha 1\alpha 2\alpha 3\alpha 5\alpha 6\alpha 7$ субъединиц протеасом и LMP2 субъединиц протеасом в группе больных со стадией T2N0-1M0, по сравнению с группой больных со стадией T4N1-3M0-1 на 11,68% и 19,76% соответственно. Полученные результаты подтверждают снижение количества конститутивных и иммунных форм протеасом, сопоставимое с незначительным увеличением их активности, при увеличении критерия T. При изучении субъединичного состава протеасом при раке ободочной кишки в зависимости от метастазирования в регионарные лимфатические узлы значимых отличий показателей в исследуемых группах не выявлено. В то же время показано достоверное увеличение экспрессии иммунной субъединицы LMP2 на 60,85% в группе больных со стадией T2-4N0-3M0, по сравнению с группой больных со стадией T2-4N0-3M1. При проведении сравнительного анализа экспрессии субъединиц протеасом при раке ободочной кишки от степени гистологической дифференцировки опухоли выявлено достоверное увеличение экспрессии тотального пула протеасом в группе больных с опухолью умеренной степени дифференцировки, по сравнению с группой больных с низкодифференцированной опухолью.

При исследовании протеолиза, осуществляемого в опухоли ободочной кишки с помощью кальпаиновой системы, выявлено значимое увеличение общей кальпаиновой активности в опухоли, по сравнению с неизменной тканью. Так, для опухоли ободочной кишки тотальная активность кальпаинов составила $35,83 \cdot 1000$ Ед/мг белка, для неизменной ткани – $30,80 \cdot 1000$ Ед/мг белка, однако данные отличия не столь значимы как показанные выше при РЖ.

Полученные в исследовании данные согласуются с описанными в литературе, которые свидетельствуют о повышении кальпаиновой активности на культуре клеток при их трансформации, в результате чего можно сделать заключение об участии кальпаинов в протеолитических процессах, как в опухолевых, так и в прилегающих к ним, неизменных тканях [Carragher N.O., 2004].

При анализе общей активности кальпаинов при раке ободочной кишки в зависимости от распространенности первичной опухоли, достоверных отличий не установлено. При раке ободочной кишки выявлено значимое увеличение общей кальпаиновой активности в группах больных со стадиями T2-4N1-3M0 и T2-4N0-3M1, по сравнению с группами больных со стадиями T2-4N0M0 и T2-

4N0-3M0 соответственно (рис. 4).

Активность, ·1000 Ед/мг белка

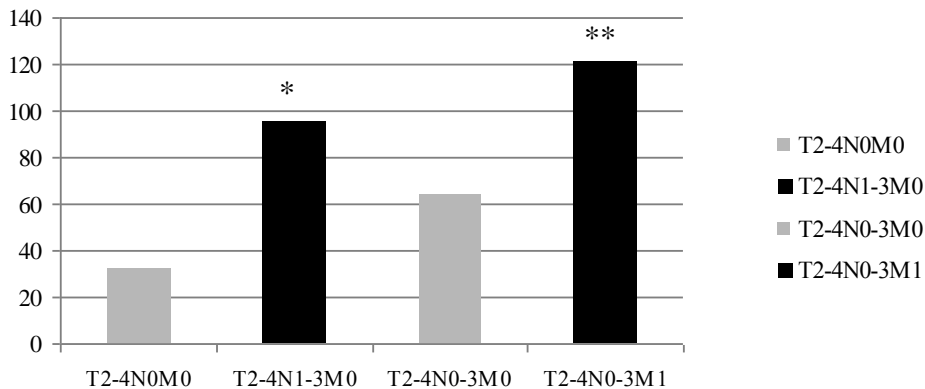


Рис. 4. – Общая кальпаиновая активность в зависимости от наличия регионарных и отдаленных метастазов рака ободочной кишки.

Примечание: * - значимость различий по сравнению с группой больных со стадией T2-4N0M0, ** - значимость различий по сравнению с группой больных со стадией T2-4N0-3M0.

Проведен анализ общей и безметастатической выживаемости при раке ободочной кишки в зависимости от показателей протеасомной и кальпаиновой систем. Сроки наблюдения за больными составили от 1 до 50 месяцев, среднее время наблюдения – 13 месяцев. Анализ выживаемости показал, что статистически значимыми факторами в отношении 2-летней безметастатической выживаемости у больных раком ободочной кишки являются тотальная активность протеасом и общая кальпаиновая активность в опухолевой и неизменной ткани.

В исследовании зафиксировано, что уровни тотальной активности протеасом в опухоли ободочной кишки и неизменной ткани, свыше 72·1000 Ед/мг белка и 35·1000 Ед/мг белка соответственно, являются неблагоприятными факторами прогноза в отношении безметастатической выживаемости при раке ободочной кишки (рис. 5, 6).

Кроме того, в исследовании выявлено, что уровень общей активности кальпаинов в опухоли ободочной кишки и неизменной ткани свыше 100,5·1000 Ед/мг белка и 52·1000 Ед/мг белка, соответственно, является неблагоприятным фактором прогноза в отношении безметастатической выживаемости при данной патологии.

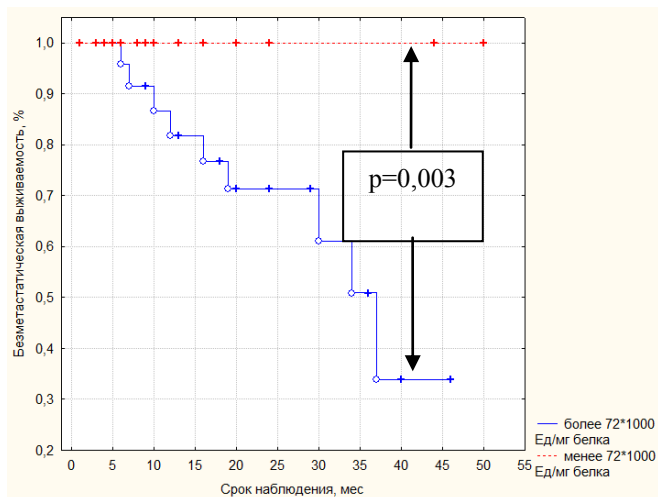


Рис. 5. – Показатели 2-летней безметастатической выживаемости больных раком ободочной кишки в зависимости от тотальной активности протеасом в опухоли.

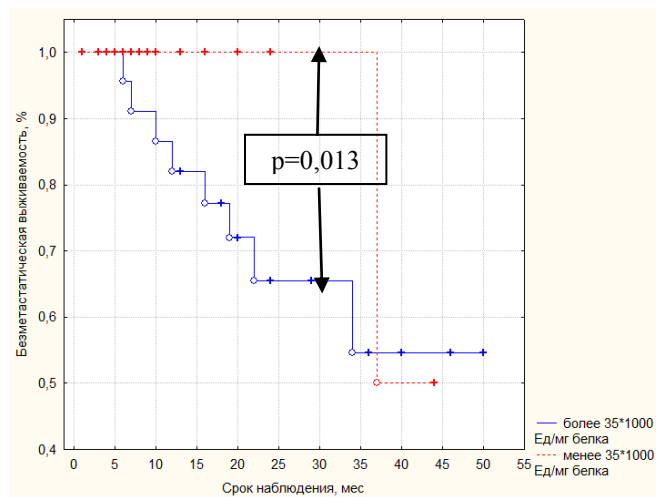


Рис. 6. – Показатели 2-летней безметастатической выживаемости больных раком ободочной кишки в зависимости от тотальной активности протеасом в неизменной ткани.

По итогам работы разработана модель определения риска развития отдаленных метастазов у больных раком ободочной кишки на основании показателей внутриклеточного протеолиза. В результате были получены следующие линейные дискриминантные функции:

$$Y1=0,039*X1+0,126*X2+0,775*X3-0,083*X4-0,040*X5-23,51;$$

$$Y2=0,015*X1+0,115*X2+0,509*X3-0,026*X4-0,026*X5-13,84.$$

Процедуру отнесения объекта к классу проводилось в два этапа. На первом этапе рассчитывали значения $Y1$ и $Y2$ с использованием значений показателей у исследуемого объекта. Далее относили объект (больного раком ободочной кишки) к одному из классов на основании следующих неравенств: если $Y1 > Y2$, то объект относится к первому классу (риск развития отдаленных метастазов менее 5%); если $Y1 < Y2$, то объект относится ко второму классу (высокий риск развития отдаленных метастазов). Таким образом, разработанная модель позволяет объективизировать критерии риска развития отдаленных метастазов у больных раком ободочной кишки, а также с высокой долей чувствительности и специфичности прогнозировать у них развитие отдаленных метастазов, что в свою очередь позволяет планировать адекватный объем наблюдения и лечения в послеоперационном периоде терапии рака ободочной кишки.

Кроме того, исследование тотальной химотрипсинподобной активности протеасом, а также активности их пулов 26S и 20S проведено в опухолевой и неизменной ткани 26 больных с морфологически верифицированным диагнозом рак прямой кишки T1-4N0-3M0. В результате проведенного исследования выявлено незначительное увеличение тотальной активности

протеасом и активности их пулов в опухоли прямой кишки по сравнению с неизменной тканью (табл. 3).

Таблица 3

Активность протеасом и их пулов в опухолевой и неизменной ткани прямой кишки

Рак прямой кишки, (n)	Тотальная активность, ·1000 Ед/мг белка		Активность пула 26S, ·1000 Ед/мг белка		Активность пула 20S, ·1000 Ед/мг белка	
	Медиана	Q ₁ ;Q ₃	Медиана	Q ₁ ;Q ₃	Медиана	Q ₁ ;Q ₃
Неизменная ткань, (26)	35,10	12,31; 89,68	23,81	11,63; 50,56	71,16	43,68; 95,67
Опухоль, (26)	41,45	19,29; 92,07	32,67	15,29; 57,19	79,29	38,83; 136,63

Примечание: n – число больных.

При раке прямой кишки активность протеасом и их пулов, скорее всего, не является фактором развития и прогрессирования данного заболевания. Вероятно, полученные отличия в активности протеолитических систем при раке ободочной и прямой кишки связаны с различным гистологическим типом данных опухолей, в частности, в проведенном исследовании рак ободочной кишки представлен гистологически однородной группой опухолей – аденокарциномами, а при раке прямой кишки в группу исследования были включены пациенты с аденокарциномами и с плоскоклеточным раком. Вероятно, существуют различия в молекулярном патогенезе рака ободочной и прямой кишки, что требует дальнейшего изучения.

При изучении зависимости протеасомной активности при раке прямой кишки от распространенности первичной опухоли, метастазирования в регионарные лимфоузлы, а также от степени гистологической дифференцировки опухоли значимых отличий не выявлено.

При изучении субъединичного состава в опухоли прямой кишки и неизменной ткани выявлено значимое снижение экспрессии тотального пула протеасом в опухоли до 76,0% по сравнению с неизменной тканью. Так же выявлено достоверное увеличение содержания активаторной PA28 β и иммунной LMP2 субъединиц протеасом в опухоли, по сравнению с неизменной тканью, на 56,1% и 64,3% соответственно.

При исследовании зависимости субъединичного состава протеасом при раке прямой кишки от распространенности первичной опухоли, выявлено значимое увеличение экспрессии иммунных субъединиц протеасом LMP7 и LMP2 в группе больных со стадией T2N0-1M0, по сравнению с группой больных со стадией T4N1-3M0 на 69,02% и 62,27%, соответственно. При изучении субъединичного состава протеасом при раке прямой кишки в зависимости от метастазирования в регионарные лимфатические узлы значимых отличий в исследуемых группах не выявлено.

В опухоли прямой кишки выявлено значимое увеличение общей

кальпаиновой активности, по сравнению с неизменной тканью в 2,5 раза (табл. 4).

Таблица 4

Общая кальпаиновая активность в опухолевой и неизменной ткани прямой кишки

Рак прямой кишки	Общая кальпаиновая активность, ·1000 Ед/мг белка	
	Медиана	Q ₁ ;Q ₃
Неизменная ткань, (26)	39,77	16,89; 77,35
Опухоль, (26)	100,50* , p=0,001	27,08; 141,45

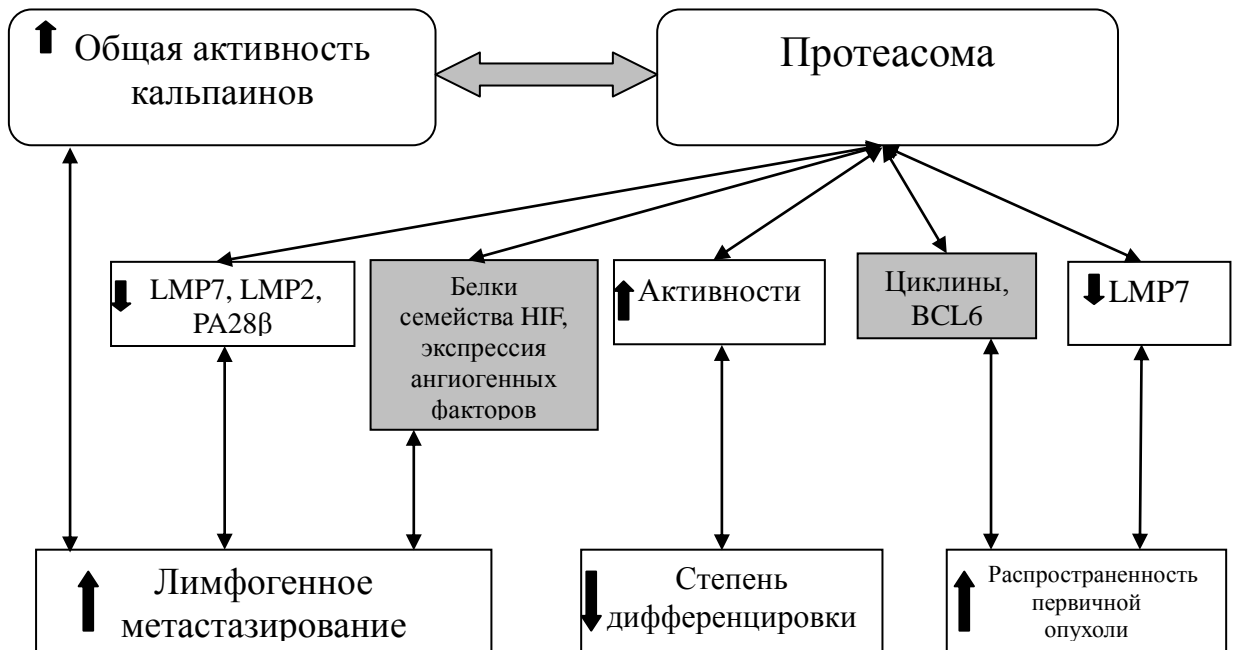
Примечание: n – число больных; * - значимость различий по сравнению с неизменной тканью.

При изучении зависимости общей кальпаиновой активности в зависимости от клинко-морфологических параметров рака прямой кишки значимых различий не выявлено.

Проведен анализ общей и безметастатической выживаемости при раке прямой кишки в зависимости от показателей протеасомной и кальпаиновой систем. Сроки наблюдения за больными составили от 1 до 50 месяцев, среднее время наблюдения – 13 месяцев. По итогам проведенного анализа выявлено, что показателей, значимо влияющих на 2-летнюю безметастатическую выживаемость больных раком прямой кишки не установлено.

Таким образом, было проведено обобщение литературных данных и результатов собственных исследований (рис. 7), которое отражает возможный вклад протеасомной и кальпаиновой систем в патогенез рака желудка и рака ободочной кишки. При раке желудка показано увеличение общей активности кальпаинов и снижение LMP7, LMP2, PA28 β субъединиц протеасом которые связаны с наличием метастазов в регионарные лимфатические узлы (рис. 7А). Кроме того, в литературе показано, что протеасомы участвуют в деградации белков семейства HIF, при нарушении этого процесса наблюдается повышение экспрессии ангиогенных факторов и прогрессирование злокачественных новообразований [Спирина Л.В., 2008; Spirina L.V., 2012]. Также при увеличении протеасомной активности снижается степень дифференцировки опухоли желудка, а при уменьшении содержания LMP7 субъединицы протеасом показано увеличение распространенности первичной опухоли. По литературным данным установлено, что протеасомы участвуют в регуляции клеточного цикла, поскольку осуществляют деградацию циклинов. p27 является негативным регулятором клеточного деления, вследствие чего обладает свойствами супрессора опухолей [Desdouetes C., 2000]. Низкий уровень белка p27 ассоциирован с негативным прогнозом при РЖ [Eguchi S., 2004]. Кроме того, показано, что для функционирования BCL6 при РЖ необходима его деградация с помощью убиквитин-протеасомного пути [Hirata Y., 2009].

А



Б

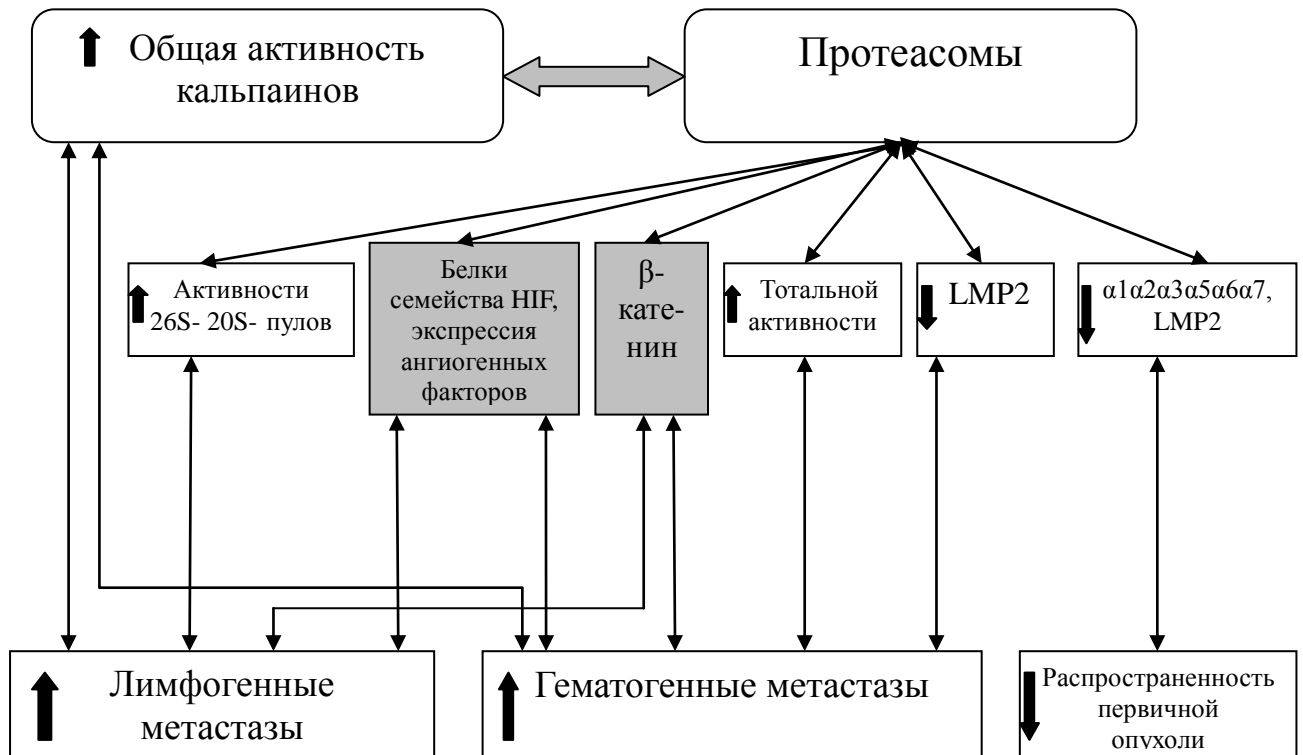


Рис. 7. - Вклад протеасом и кальпаинов в прогрессирование: А - рака желудка, Б - рака ободочной кишки [по данным: Спирина Л.В. и др., 2008; Spirina L.V. et al., 2012; Desdouets C. et al, 2000; Eguchi H. et al, 2004; Kesmir C. et al., 2003; Voutsadakis I.A., 2008 (выделено серым цветом) и собственных результатов (обозначено белым цветом)].

На рисунке 7Б представлено, что при увеличении общей кальпаиновой активности и активности 26S- 20S- пулов протеасом выявлены лимфогенные

метастазы рака ободочной кишки. Кроме того, при увеличении общей активности кальпаинов и тотальной активности протеасом, и при снижении экспрессии LMP2 субъединицы протеасом показано наличие гематогенных метастазов рака ободочной кишки. По литературным данным, протеасомная система участвует в деградации белков семейства NF- κ B. В связи с этим, при нарушении деградации установлено повышение экспрессии ангиогенных факторов, следствием чего является прогрессирование злокачественных новообразований [Спирина Л.В., 2008; Spirina L.V., 2012]. В основе большинства случаев рака толстой кишки при аденоматозном полипозе кишечника ключевую роль играют мутации, которые приводят к неспособности протеасом деградировать β -катенин, что является следствием усиления клеточной пролиферации [Voutsadakis I.A., 2008]. Также, в представленном исследовании установлено, что при снижении содержания α 1 α 2 α 3 α 5 α 6 α 7, LMP2 субъединиц протеасом выявлено снижение распространенности первичной опухоли ободочной кишки.

Таким образом, представленные результаты исследования свидетельствуют о том, что протеасомная и кальпаиновая системы играют значимую роль в патогенезе РЖ и КРР. Протеасомы и кальпаины оказывают влияние на течение и прогноз РЖ, по итогам работы выявлены факторы риска развития метастазов при РЖ, а также показатель, влияющий на общую выживаемость. Также установлено, что протеасомы и кальпаины влияют на течение и прогноз рака ободочной кишки, что позволило выделить объективные информативные критерии прогноза безметастатической выживаемости. Кроме того, показаны различия в функционировании протеасомной системы при раке ободочной и прямой кишки. В результате исследования разработаны математические модели прогноза исхода заболевания у больных раком желудка и оценки риска развития отдаленных метастазов у больных раком ободочной кишки, что позволяет проводить мероприятия по вторичной профилактике и ранней диагностике данных заболеваний.

ВЫВОДЫ

1. В опухоли желудка выявлено значимое повышение тотальной активности протеасом, их пулов, а также общей активности кальпаинов по сравнению, как с неизменной тканью, так и со слизистой оболочкой у больных атрофическим гастритом. На фоне увеличения протеасомной активности зарегистрировано увеличение экспрессии всех изучаемых субъединиц протеасом в опухоли желудка относительно неизменной ткани.

2. При раке желудка выявлена взаимосвязь тотальной активности протеасом и их пулов, общей кальпаиновой активности, экспрессии иммунной LMP7 субъединицы протеасом с распространенностью первичной опухоли и степенью гистологической дифференцировки опухоли, наличием регионарных метастазов, что подтверждает участие данных протеаз в прогрессировании данного новообразования.

3. Показатели протеасомной системы могут быть использованы в качестве дополнительных критериев прогноза течения РЖ. Факторами неблагоприятного исхода заболевания являются высокая тотальная протеасомная активность (более 90,0·1000 Ед/мг), активность 20S пула протеасом (95,0·1000 Ед/мг), высокая экспрессия LMP7 субъединицы протеасом (более 135,5%), низкая экспрессия PA28 β субъединицы протеасом в опухоли (менее 166%), высокий уровень экспрессии Rpt6 субъединицы протеасом (свыше 155%).

4. При раке ободочной кишки зафиксировано значимое увеличение активности протеасом и кальпаинов, при раке прямой кишки – увеличение общей кальпаиновой активности по сравнению с неизменной тканью.

5. На фоне повышения протеасомной активности в злокачественной ткани при раке ободочной кишки выявлено увеличение тотального пула протеасом и иммунных LMP2 и LMP7 субъединиц протеасом по сравнению с неизменной слизистой оболочкой, а также увеличение тотальной активности протеасом при появлении гематогенных метастазов. У больных раком прямой кишки в опухоли установлено увеличение содержания LMP2, PA28 β и Rpt6 субъединиц протеасом по сравнению с неизменной слизистой оболочкой.

6. Показатели протеасомной и кальпаиновой систем могут быть использованы в качестве дополнительных критериев прогноза течения рака ободочной кишки. Высокая тотальная активность протеасом в опухолевой и неизменной ткани ободочной кишки (более 72·1000 Ед/мг белка и 35·1000 Ед/мг белка соответственно), а также высокий уровень общей активности кальпаинов в опухолевой и неизменной ткани ободочной кишки (более 100,5·1000 Ед/мг белка и 52·1000 Ед/мг белка соответственно), являются неблагоприятными прогностическими факторами в отношении безметастатической выживаемости.

7. Разработаны математическая модель оценки прогноза исхода заболевания у больных РЖ, чувствительность и специфичность которой составили 67%, и 96%, соответственно и математическая модель оценки риска развития отдаленных метастазов у больных раком ободочной кишки, чувствительность и специфичность 83% и 96%, соответственно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При формировании групп повышенного риска неблагоприятного исхода заболевания у больных с диагнозом РЖ необходимо учитывать показатели внутриклеточных протеолитических систем. Оценка прогноза исхода заболевания у больных с РЖ рассчитывается с помощью линейных дискриминантных функций:

$$Y1=-$$

$$0,015 \cdot X1 + 0,006 \cdot X2 + 0,085 \cdot X3 + 0,011 \cdot X4 + 0,083 \cdot X5 + 0,006 \cdot X6 + 0,100 \cdot X7 + 0,087 \cdot X8 + 0,066 \cdot X9 + 0,681 \cdot X10 - 45,698;$$

$$Y2=-0,017 \cdot X1-$$

$$0,006 \cdot X2 + 0,146 \cdot X3 + 0,004 \cdot X4 + 0,122 \cdot X5 + 0,012 \cdot X6 + 0,123 \cdot X7 + 0,098 \cdot X8 + 0,102$$

$$*X9+0,831*X10-74,476,$$

где X1 - активность кальпаинов,
 X2 - тотальная активность протеасом,
 X3 - активность 26S пула протеасом,
 X4 - активность 20S пула протеасом,
 X5 - содержание субъединиц $\alpha 1\alpha 2\alpha 3\alpha 5\alpha 6\alpha 7$,
 X6 - содержание субъединицы LMP7,
 X7 - содержание субъединицы LMP2,
 X8 - содержание субъединицы PA28 β ,
 X9 - содержание субъединицы Rpt6,
 X10 - возраст пациентов.

Если $Y1 > Y2$, то объект относится к первому классу (прогноз развития неблагоприятного исхода менее 5%); если $Y1 < Y2$, то объект относится ко второму классу (высокий прогноз развития неблагоприятного исхода).

2. У больных РЖ, для оценки прогноза течения заболевания, наряду с клинико-морфологическими факторами необходимо определять тотальную активность протеасом и активность 20S-пула протеасом, а также экспрессии LMP7, PA28 β и Rpt6 субъединиц протеасом.

3. При формировании групп повышенного риска развития отдаленных метастазов у больных раком ободочной кишки необходимо учитывать показатели внутриклеточного протеолиза. Оценка риска развития отдаленных метастазов у больных с диагнозом рак ободочной кишки рассчитывается с помощью линейных дискриминантных функций:

$$Y1 = 0,039 * X1 + 0,126 * X2 + 0,775 * X3 - 0,083 * X4 - 0,040 * X5 - 23,51;$$

$$Y2 = 0,015 * X1 + 0,115 * X2 + 0,509 * X3 - 0,026 * X4 - 0,026 * X5 - 13,84,$$

где X1 - тотальная активность протеасом в опухоли,
 X2 - тотальная активность протеасом в неизменной ткани,
 X3 - общая кальпаиновая активность в опухоли,
 X4 - общая кальпаиновая активность в неизменной ткани,
 X5 - возраст пациентов.

Если $Y1 > Y2$, то объект относится к первому классу (риск развития отдаленных метастазов менее 5%); если $Y1 < Y2$, то объект относится ко второму классу (высокий риск развития отдаленных метастазов).

4. У больных раком ободочной кишки, для оценки прогноза течения заболевания, наряду с клинико-морфологическими факторами необходимо определять тотальную активность протеасом и общую кальпаиновую активность в опухолевой и неизменной ткани.

ПЕРЕЧЕНЬ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Иванова Э.В. Активность протеасом и их субъединичный состав при раке желудка [Текст] / Э.В. Иванова, К.В. Хворилова // Сборник статей Всероссийской 70-й юбилейной итоговой научной студенческой конференции им. Н.И.Пирогова. – 2011. – С. 156-157.

2. Иванова Э.В. Активность протеасом и их субъединичный состав при колоректальном раке [Текст] / К.В. Хворилова, Э.В. Иванова // Сборник статей

Всероссийской 70-й юбилейной итоговой научной студенческой конференции им. Н.И.Пирогова. – 2011. – С. 330-331.

3. Иванова Э.В. Активность протеасом и их пулов при колоректальном раке [Текст] / Э.В. Иванова, К.В. Хворилова // Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием «Дни биохимии в СПбГМУ», Санкт-Петербург: СПбГМУ, 2011. – С. 64.

4. Иванова Э.В. Активность протеасом и их субъединичный состав при опухолевых заболеваниях желудочно-кишечного тракта [Текст] / К.В. Хворилова, Э.В. Иванова, Л.В. Спирина, А.В. Августинович // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – Прил. № 1. – С. 118.

5. Иванова Э.В. Активность протеасом и кальпаинов в ткани рака желудка и кишечника [Текст] / Э.В. Иванова // Сборник статей Всероссийской 71-й итоговой студенческой научной конференции им. Н.И.Пирогова.- 2012. – С. 179-180.

6. Иванова Э.В. Активность протеасом и их субъединичный состав в опухолях желудочно-кишечного тракта: связь с клинико-морфологическими параметрами [Текст] / Э.В. Иванова, Л.В. Спирина., А.В. Августинович // Сибирский онкологический журнал – 2012. – Прил. № 1. – С. 73-74.

7. Иванова Э.В. Активность протеасом и их субъединичный состав при раке желудка [Текст] / Л.В. Спирина, А.В. Августинович, Э.В. Иванова, К.В. Хворилова, И.В. Кондакова, С.Г. Афанасьев // Седьмой съезд онкологов и радиологов стран СНГ / Казахский НИИ онкологии и радиологии. – 2012. – С. 160-161.

8. Иванова Э.В. Протеасомная и кальпаиновая системы при раке желудка и кишечника [Текст] / Л.В. Спирина, И. В. Кондакова, Э.В. Иванова, А.В. Августинович, С.Г. Афанасьев // Высокие технологии в онкологии: материалы Российской научно-практической конференции с международным участием 26-27 июня 2012 г. – 2012. – С. 64-65.

9. Иванова Э.В. Активность протеасом и кальпаинов в ткани рака желудка и толстой кишки [Текст] / Э.В. Иванова, Л.В. Спирина, А.В. Августинович // Сибирский онкологический журнал. – 2013. – Прил. № 1. – С. 42-43.

10. Иванова Э.В. Активность протеасом и их субъединичный состав при раке желудка // Э.В. Иванова // Сибирский онкологический журнал – 2014. – Прил. № 1. – С. 57.

11. **Иванова Э.В. Химотрипсинподобная активность и субъединичный состав протеасом в злокачественных опухолях человека [Текст] / И.В. Кондакова, Л.В. Спирина, В.Д. Коваль, Е.Е. Шашова, Е.Л. Чойнзонов, Э.В. Иванова, Л.А. Коломиец, А.Л. Чернышова, Е.М. Слонимская, Е.А. Усынин, С.Г. Афанасьев // Молекулярная биология. – 2014. – Том № 48, № 3. – С. 444 – 451.**

12. **Иванова Э.В. Химотрипсинподобная активность протеасом и общая активность кальпаинов при раке желудка и толстой кишки [Текст] / Э.В. Иванова, И.В. Кондакова, Л.В. Спирина, С.Г. Афанасьев, А.В.**

Августинович, О.В. Черемисина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Том 157, № 6. – С. 753 – 756.

13. Иванова Э.В. Роль убиквитин-протеасомной системы в патогенезе рака желудка [Текст] / Э.В. Иванова, И.В. Кондакова, О.В. Черемисина, С.Г. Афанасьев // Сибирский онкологический журнал. – 2014. – № 5. – С. 64 – 71.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

НАХТ – неoadьвантная химиотерапия

РЖ — рак желудка

КРР – колоректальный рак

ALLN – N-ацетил-лейцин-лейцин-норлейцинал, ингибитор кальпаиновой активности

LMP - low molecular mass polypeptide, иммунные субъединицы протеасом

РА28 – proteasome activator, активаторная частица протеасом

Rpt6 – regulatory particle аТрасе 6, регуляторная субъединица протеасом

Suc-LLVY-AMC — N-сукцинил-лейцин-лейцин-валин-тирозин-7-амино-4-метилкумарин

Тираж 100 экз. Заказ 834.

Томский государственный университет
систем управления и радиоэлектроники.

634050, г. Томск, пр. Ленина, 40.

Тел. (3822) 533018.