

## **Экзосомы как новый инструмент для ранней диагностики и контроля лечения аденокарциномы молочной железы**

Каждый год рак груди диагностируется свыше, чем у миллиона человек. Выживаемость ежегодно улучшается, но все же более 450 000 тысяч человек погибает, несмотря на лечение. Рак груди является высоко варибельным гетерогенным заболеванием благодаря различным молекулярным и морфологическим особенностям, а также клиническим исходом и ответом на терапию. Ранняя диагностика рака значительно повышает уровень выживаемости пациентов с опухолевым процессом. Проект направлен на разработку нового направления в молекулярной биологии и медицине - применения экзосом в качестве инструмента в диагностике и динамическом контроле лечения онкопатологии на примере аденокарциномы молочной железы. Экзосомы представляют собой билипидные везикулы, размерами от 40 до 150 нм, секретируемые опухолью в больших количествах, обуславливая прогрессию и метастазирование опухоли. Везикулы содержат фрагменты ДНК, различные виды РНК (mRNA, miRNA, siRNA), белки опухолевой клетки, которые попадая в реципиентную клетку, являются функционально активными.

Цели проекта:

1. разработать способ изоляции экзосом из крови пациентов с солидными опухолями
2. использовать экзосомальные биомаркеры для контроля динамики лечения пациента
3. сравнить чувствительность и специфичность существующих биомаркеров молекулярно-генетической диагностики аденокарциномы молочной железы и экзосомальных биомаркеров

В основе проекта лежит предположение, что содержимое экзосом является отражением, «молекулярным отпечатком», содержания опухолевой клетки, обуславливая развитие метастатических сайтов с помощью эпителиально-мезенхиальных и мезенхимально-эпителиальных переходов. Появление первичного очага опухолевого роста сопровождается образованием экзосом, которые не только являются межклеточным инструментом общения, обуславливая паракринную и аутокринную секрецию и опухолевую трансформацию нормальных клеток, но и секрецию экзосом в системный кровоток. Данные явления происходят задолго до проявления клинических и лабораторных признаков опухолевого роста, обуславливая высокую специфичность диагностики. Экзосомы, неся специфическое отражение опухолевой клетки донора, служат, не только диагностическим инструментом, но и средством понимания механизмов метастазирования, общения опухолевых клеток, лекарственной резистентности и специфического ответа на терапию, ведя к персонифицированному подходу. В частности, транскриптом из экзосом аденокарциномы молочной железы является уникальным только для этого типа опухоли.

На базе лаборатории биологии опухолей и экзосом Фрайбургского Университета (Германия), под руководством доктора биологических наук И.А Назаренко и при участии сотрудников из лаборатории экспериментальной медицины Амурской ГМА В.А Кушнарева и Ю.С Морозевич, разрабатывается проект по использованию экзосомальных

биомаркеров в диагностике онкопатологии, в частности HER2 позитивных аденокарцином молочной железы.

Группой И.Назаренко и другими было установлено, что белок HER2 может захватываться экзосомами, везикулами эндоцитозного происхождения, которые высвобождаются опухолевыми клетками в больших количествах, перенося белки, ДНК и РНК.

В данной работе мы выдвинули и доказали следующую гипотезу: сплайс варианты мРНК HER2 гена могут быть захвачены экзосомами. Нами было установлено, что экзосомы могут способствовать развитию механизмов резистентности опухолевых клеток на примере позитивных по рецептору эпидермального фактора роста (HER2) клеточных культур аденокарциномы молочной железы. Члены семейства рецепторов тирозиновых киназ эпидермального фактора роста играют важную роль в развитии и прогрессии рака. Гиперэкспрессия и амплификация одного из членов этого семейства HER2 сообщается в 15-30% случаев рака груди и является решающим фактором для выбора терапии. Существует таргетная терапия HER2 позитивных опухолей, в частности, моноклональные антитела Трастузумаб и Пертузумаб и ингибиторы тирозин киназных доменов - Лапатиниб и Апатиниб. Однако в 70% случаев пациенты не отвечают на терапию Трастузумабом и в 66-88% случаев пациенты, которые ответили на лечение, становятся резистентными в течение последующих циклов терапии. Одной из причин являются сплайс варианты мРНК. Недавно были открыты несколько сплайс вариантов мРНК - p100, Herstatin и delta 16 гена HER2, отвечающие за развитие резистентности и прогрессии опухоли. Полученные данные позволяют сделать вывод, что экзосомальный транспорт мРНК HER2 и его сплайс варианта delta16 возможен в клеточных линиях, положительных по HER2 гену и невозможен для негативных клеточных линий по HER2 гену.

Существование сплайс вариантов в экзосомах может служить потенциальным источником биомаркеров для прогноза агрессивности и ответа на терапию

В настоящее время ведется работа по валидированию методов изоляции экзосом из крови пациентов с аденокарциномами молочной железы и апробированию результатов по захвату специфического типа мРНК HER2 с помощью полимеров.

Платформа проекта разделена на два направления, выполняемых на базе Амурской ГМА. Первое направление сосредоточено на сборе клинического материала, испытании методов изоляции, валидации фракций экзосом и прогностических биомаркеров, а второе направление занимается поиском прогностических биомаркеров и валидацией уже существующих на модели клеточных культур аденокарциномы молочной железы. Консультирование по проекту осуществляет И.А Назаренко, руководитель группы биологии опухолей и экзосом Фрайбургского университета.

Финансирование группы планируется при помощи грантовой поддержки, участия в программе РФФИ, У.М.Н.И.К., «Лифт в будущее» и привлечения средств инвесторов.