

Е.А. ШЛЯХТУНОВ, В.М. СЕМЕНОВ

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

НЕКОТОРЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Ключевые слова: молекулярно-генетическая диагностика, злокачественная опухоль.

MOLECULAR GENETIC DIAGNOSIS CERTAIN MALIGNANT

SOLID TUMORS

E.A. Shlyakhtunov, V.M. Semenov

Keywords: molecular genetic diagnosis, malignant tumor.

The article presents an overview of current literature on the molecular genetic diagnosis of some malignant solid tumors. Possibilities polymerase chain reaction (PCR) to identify the various tumor – associated genes. The characteristics, localization, function of several genes, such as tyrosinase gene (TYR), survivin (BIRC5), epidermal growth factor (ErbB-2/HER2-Neu), as well as genes "household" (GAPDH, 18S rRNA). Defined their clinical importance, prognostic significance in different types of malignant tumors such as melanoma, breast cancer, lung cancer, ovarian cancer, colon cancer, etc. Using PCR identification of the genes may directly in tumor tissue obtained at biopsy and in treated tumor cells. For a number of possible identification of tumor -associated tumor genes in peripheral blood. Research aimed at studying the expression of tumor-associated genes are promising and relevant in order to customize treatment (surgery, neo- and adjuvant drug) tactics of patients suffering from malignant tumors.

Современный уровень развития науки в последние десятилетие и исследования в области молекулярной биологии, медицинской генетики, биохимии, биофизики, тесно связанные с иммунологией, онкологией, микробиологией, эпидемиологией, способствовали созданию и активному внедрению в практику диагностических лабораторных молекулярно-генетических методов исследования генома и протеома человека [1].

Методы молекулярной диагностики в онкологии применяются для выявления причин патологического процесса, установления диагноза и контроля эффективности лечения на уровне геномной ДНК, РНК и белков. ДНК-диагностика с использованием полимеразной цепной реакцией является

самой востребованной и динамично развивающейся технологией лабораторной диагностики. Практическим применением ДНК/РНК-диагностики с помощью PCR является ее использование в целях ранней диагностики заболеваний, выявления предрасположенности к ним, определения патогенетически обоснованной тактики лечения, оценки ее эффективности, прогноза.

При применении PCR в различных ее вариациях возможно определение различных генов, участвующих в процессах канцерогенеза, прогрессии и метастазирования опухоли. В настоящее время основное внимание приковано к исследованию ряда генов таких как ген тирозиназы (TYR), ген сурвивина (BIRC5), ген рецептора эпидермального фактора роста (ErbB-2/HER2-Neu), а также гены «домашнего хозяйства» («housekeeping genes») GAPDH и 18S rRNA.

Тирозиназа

Тирозиназа относится к ферменту оксидазе, принимающим участие в синтезе меланина – пигмента, содержащегося в меланоцитах. В человеческом геноме данный фермент закодирован геном TYR [2]. Ген тирозиназы локализован в длинном плече 11 хромосомы (рис. 1). Человеческий фермент тирозиназа – единственный охватывающий мембрану трансмембранный белок [3]. Основная масса фермента сконцентрирована в меланосомах [4].

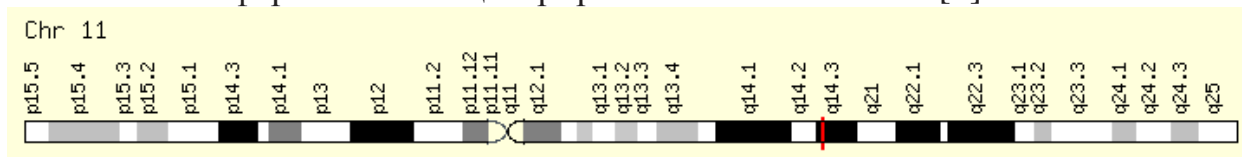


Рисунок 1. Локализация гена тирозиназы TYR 11q14.3

Пигментная меланома, злокачественная опухоль берущая свое начало из меланоцитов, характеризуется повышенной активностью тирозиназы, вследствие активации гена TYR, что приводит к увеличенному синтезу меланина.

Исследования различных авторов в последние десятилетие подтверждают диагностическую ценность определения гена TYR у пациентов, страдающих меланомой кожи [5]. Доказано, что в зависимости от скорости и интенсивности роста опухоли, зависит количественное значение экспрессии гена TYR. Установлено, что быстро прогрессирующие опухоли несут в 34–400 раз выше генную нагрузку, чем медленно и не прогрессирующие опухоли. При гистологическом исследовании было зафиксировано уменьшение активности фермента, которое коррелировано с уменьшением опухолевых клеток. Результаты проведенных последовательных биопсий в течении развития опухоли, показали положительную корреляцию между объемом опухоли и тирозиназной активностью для ранних и поздних стадий роста опухоли и ее регресса [5]. Последовательное проведение проб крови на тирозиназу является полезным методом для оценки раннего ответа на лечение, а также для

обнаружения и своевременного назначения лечения при развитии метастазов у пациентов с меланомой [5].

Определение через мРНК ген TYR циркулирующих опухолевых клеток, в том числе и в костном мозге (микрочастицы), позволяет предсказать рецидив и выживание при злокачественной меланоме. Количественное определение гена TYR в периферической крови с применением RT-PCR мРНК является важным показателем для оценки общей и безрецидивной выживаемости, а также оказывает помощь в идентификации подгруппы пациентов с высоким риском ранних рецидивов, что в конечном итоге обуславливает назначение более агрессивной адъювантной таргетной терапии.

Сурвивин

Сурвивин - белк, кодированный у людей геном BIRC5, получивший название бакуловирусный протеин [6, 7]. Сурвивин – член семейства белков ингибиторов апоптоза (IAP). Основная функция белка сурвивина заключается в том, чтобы запретить каспазную активацию апоптоза. Экспрессия генов BIRC5 высока в период внутриутробного развития и при развитии большинства опухолей, при этом содержание его ничтожно мало в дифференцированной ткани [8]. Экспрессия гена сурвивина четко отрегулирована клеточным циклом. Установлено, что экспрессия гена BIRC5 и синтез сурвивина связано с p53 белком [9]. Ген сурвивина BIRC5 локализован в длинном плече 17 хромосомы (рис. 2).

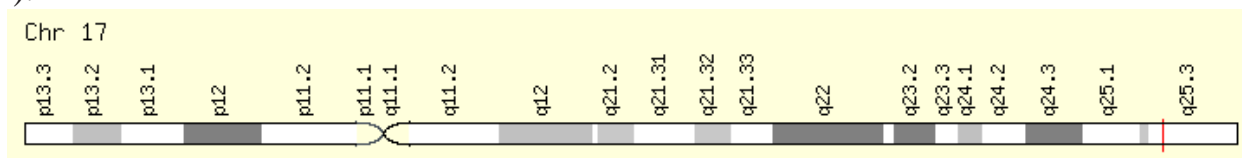


Рисунок 2. Локализация гена сурвивина BIRC5 17q25.3

Процесс апоптоза, или запрограммированной клеточной смерти, включает сложные сигнальные пути и каскады молекулярных событий. Известно, что внутриклеточные протеазы, названные каспазами, приводят к гибели клетки после активации смертельного пути [10]. У клеток млекопитающих есть два главных пути, которые приводят к апоптозу: внешний лиганд-зависимый путь и внутренний путь опосредованный через внутриклеточные стимулы. Экспериментальные исследования показали, что сурвивин ингибирует апоптоз путем остановки как внешнего так и внутреннего пути путем связывания и ингибирования эффекторных каспаз 3 и 7 [10].

Экспрессия гена сурвивина особенно выражена во время эмбрионального развития, а также в большинстве типов клеток опухоли, и редко присутствует в нормальных, доброкачественных взрослых дифференцированных клетках [11].

Д. Тамм с соавторами показал, что уровень сурвивина был повышен во всех 60 различных человеческих линиях опухоли. Наивысший уровень экспрессии гена сурвивина был обнаружен при раке молочной железы, а самый

низкий при почечно-клеточном раке [10]. Белок сурвивин может быть расценен как онкоген, поскольку его сверхэкспрессия в большинстве раковых клетках способствует их сопротивлению апоптотическим стимулам и химиотерапевтическим методам лечения, таким образом способствуя их продолжающемуся выживанию и прогрессированию.

В литературе имеются сведения, что инноктивация сурвивина в раковых клетках позволяет остановить формирование микроканалцев, что приводит к полиплоидии, а также крупному апоптозу [12]. Еще одной из важных функций сурвивина является регулирование уровня p53. Известно, что особенностью большинства опухолей с сверхэкспрессией сурвивина имеет место полная потеря дикого типа p53 [13]. В то же время исследования Mirza и др., доказывают, что существует связь между уровнями сурвивина и p53. Дикий тип p53 подавлял экспрессию сурвивина на мРНК уровне [13] как в клетках рака легкого так и в клетках рака молочной железы.

При исследовании образцов крови от пациентов, страдающих раком, ученые нашли антитела, которые являются специфическими для сурвивина, и отсутствующие у здоровых людей. Измерение уровня сурвивин-определенных антител в крови пациента является мониторингом развития опухоли, а определение экспрессии сурвивина при всех наиболее распространенных злокачественных опухолях (рак легкого, толстой кишки, поджелудочной железы, простаты, молочной железы, сарком мягких тканей, Т-клеточного лейкоза) позволяют прогнозировать риск смерти [14]. Кроме того, исследования показали, что клетки рака молочной железы гиперэкспрессирующие ген эпидермального фактора роста ErbB2 имели более высокие уровни сурвивина, которое коррелировало с увеличенным сопротивлением Таксан-вызванному апоптозу. В то же время, комбинации Таксанов с ингибитором сурвивина привела к увеличенному апоптозу в ErbB2-гиперэкспрессирующих клетках рака молочной железы, по сравнению с монотерапией [15].

ErbB-2 / HER2-Neu

ErbB-2 / HER2-Neu ген рецепторной тирозин-протеинкиназы ErbB-2, также известный как CD340, или протоонкоген Neu является белком, который в организме человека кодируется геном ERBB2. В свою очередь ген ERBB2 называется HER2 (человеческий рецептор эпидермального фактора роста 2). HER2 является членом семейства рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR / ERBB) [16]. ERBB2, известный протоонкоген, расположен на длинном плече хромосомы человека 17 (рис. 3).

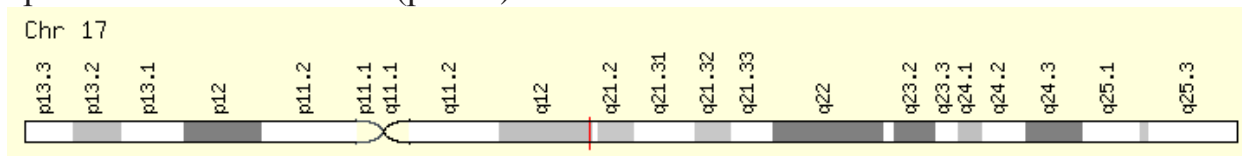


Рисунок 3. Локализация гена ErbB- 2 /HER2-Neu 17q11.2-q12

Семья белков ErbB состоит из четырех рецепторов тирозинкиназ. Все четыре содержат внеклеточный лиганд связывающий домен, трансмембранный домен и внутриклеточный домен, который может взаимодействовать с множеством сигнальных молекул и проявлять как лиганд-зависимую, так и лиганд-независимую активность. HER2-Neu может вступать в взаимодействие в виде гетордимеров с любым из трех других рецепторов [17]. Результаты димеризации и автофосфорилированием остатков тирозина в цитоплазматическом домене рецепторов инициирует различные сигнальные пути, являясь рецептором эпидермального фактора роста. Таким образом, передача сигналов через семейства ErbB рецепторов способствует пролиферации клеток и противостоит апоптозу.

Основное клиническое значение заключается в том, что приблизительно у 15–30 % пациентов с раком молочной железы определяется гиперэкспрессией гена ErbB2/HER2-Neu [16, 18]. При этом гиперэкспрессия гена ErbB2/HER2-Neu может в значительной степени указывать на повышенный риск развития рецидива заболевания и соответственно плохой прогноз [19]. Избыточная экспрессия также определяется при раке яичников, желудка, агрессивных форм рака тела матки [20]. HER2-Neu может совместно локализоваться с геном GRB7, который является протоонкогеном и также связан с развитием рака молочной железы, желудка и пищевода. Таким образом, HER2-Neu белки образуют кластеры в клеточных мембранах, которые могут играть роль в канцерогенезе [21].

В настоящее время разработаны и широко применяются лекарственные средства (моноклональные антитела), действия которых основано на ингибировании сигнального пути запускаемого HER2-Neu рецептором (Трастузумаб, Пертузумаб) [22]. Новый препарат NeuVax (Галена Биофарма) представляет собой пептид, который направляет Т-клетки киллеры для выявления и уничтожения раковых клеток, гиперэкспрессирующих HER2. В ряде исследований показано, что амплификация и/или гиперэкспрессия HER2-Neu имеет ключевое значение в онкотрансформации и туморогенезе рака молочной железы. Гиперэкспрессия HER2-Neu в опухолевой клетке коррелирует с рядом неблагоприятных факторов прогноза, а именно: размером опухоли, высокой степенью злокачественности, уменьшением рецепторов эстрогена и прогестерона в опухоли [16, 23]. В результате проведения большого количества исследований показано, что гиперэкспрессия HER2-Neu является независимым прогностическим фактором для рака молочной железы с N+ и N– [18, 19]. В настоящее время HER2-Neu тестирование проводится у пациентов с раком молочной железы для оценки прогноза и целесообразности назначения терапии с применением трастузумабом [24]. Тестирование, как правило, осуществляется при исследовании биоптатов опухоли с применением иммуногистохимического исследования, а при необходимости флуоресцентаной гибридизация *in situ* (FISH). Внеклеточный домен HER2 может быть «смыт» с поверхности опухолевых клеток и попасть в

кровообращение. Измерение сывороточного HER2-Neu ИФА методом (ELISA) предполагает является менее инвазивным способом, чем биопсия. Результаты исследований ряда авторов подтверждают, что изменения в сыворотке крови концентрации HER2-Neu может быть полезна для прогнозирования ответа на терапию трастузумабом [25]. Альтернативным методом является количественное определение real-time PCR ДНК, РНК или мРНК HER2-neu в образцах опухоли а также периферической крови.

GAPDH

Ген GAPDH кодирует синтез ключевого фермента гликолиза глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы. Этот фермент (сокращенно GAPDH, или реже, как G3PDH) представляет собой белок 37kDa, который катализирует шестой этап гликолиза и, таким образом, служит для расщепления глюкозы и высвобождения энергии для жизнедеятельности клетки [26].

Ген GAPDH расположен в коротком плече 12 хромосомы (рис. 4). Данный ген относится к так называемым генам «домашнего хозяйства» (housekeeping genes). Это гены, необходимые для поддержания важнейших жизненных функций организма, которые экспрессируются практически во всех тканях и клетках на относительно постоянном уровне.

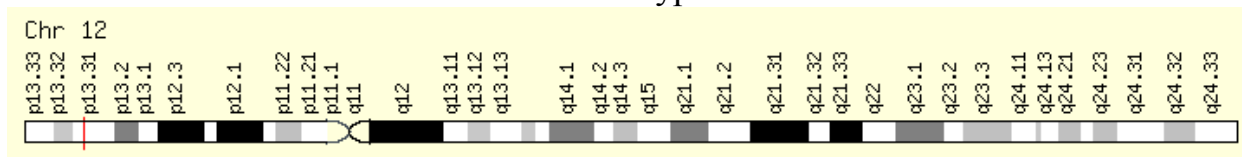


Рисунок 4. Локализация гена GAPDH 12p13.31

GAPDH, как и многие другие ферменты, имеет несколько функций. В дополнение к активизации 6-го этапа гликолиза, GAPDH участвует в других клеточных процессах, таких как активация транскрипции и инициация апоптоза [27, 28]. GAPDH действует как переключатель метаболизма клетки во время окислительного стресса. [29], а также участвуют в транспорте от пузырьков эндоплазматического ретикулума к аппарату Гольджи [30].

Клинические и экспериментальные исследования показывают, что повышенная экспрессия GAPDH и его ферментативная активность связана с клеточной пролиферацией и онкогенезом. Данный процесс обнаружен при раке легких, раке почек, раке молочной железы, раке желудка, глиоме, раке печени, раке прямой кишки, меланоме, раке предстательной железы, раке поджелудочной железы и раке мочевого пузыря. В экспериментальных моделях на животных, инъекции GAPDH антагонистов индуцировали апоптоз и блоки Her3В опухолевой прогрессии [31]. Французские ученые в 2013 году исследовали экспрессию GAPDH в большой серии первичных карцином молочной железы и в MCF7 эпителиальных клетках рака молочной железы, обработанных эстрадиолом. Экспрессия GAPDH имеет обратную корреляцию

с возрастом пациенток, рецепторами эстрадиола (ER) и рецепторами прогестерона (RP). Кроме того, установлено, что общая выживаемость и безрецидивная выживаемость значительно ниже у пациенток, у которых в опухоли регистрировался повышенный уровень экспрессии GAPDH. Экспрессия GAPDH связана с пролиферацией клеток рака молочной железы и с агрессивностью опухоли. [32]. Идентификация и определение количества GAPDH можно проводить путем real time PCR в образцах непосредственной опухолевой ткани или очищенных опухолевых клетках человека.

18S rRNA (18S рРНК)

18S рРНК – один из трёх основных типов рРНК, образующих основу рибосом эукариот, находится в их малой (40S) субъединице. Количество данной РНК постоянно во всех клетках организма и обеспечивает нормальную функцию клеток, путем осуществления процесса синтеза белковых молекул в рибосомах на основе считывания информации с мРНК. рРНК находится повсеместно в клеточных структурах [33].

Ген, кодирующий 18S рРНК, локализуется в коротком плече 22 хромосомы (рис. 5). Этот ген относится как и ген GAPDH к так называемым генам «домашнего хозяйства» («housekeeping genes»).

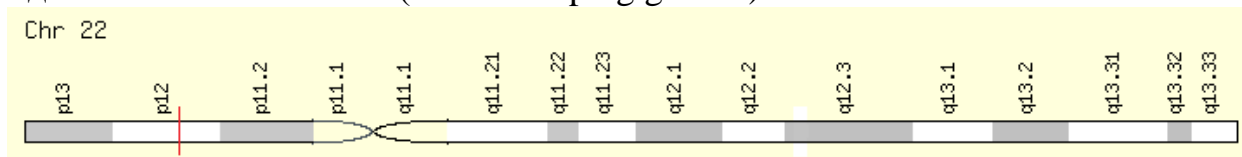


Рисунок 5. Локализация гена 18S рРНК.

К настоящему времени известно несколько типов клеток, в том числе и опухолевых, которые в процессе своей жизнедеятельности выделяют наружу особые пузырьки-везикулы, которые получили название экзосомы. Выделяемые микровезикулы были названы на основе их происхождения, например онкосомы и т.д. [34]. Исследования в области экзосом вновь активировались после открытия факта, что эти микровезикулы переносят большое количество мРНК и микроРНК [35], и что экзосомальная мРНК может быть транслирована на белки клеток-реципиентов, а экзосомальные микроРНК способны модулировать экспрессию генов в клетки-реципиенты [36], тем самым экзосомы могут быть вовлечены в патогенез опухолевого процесса. Факт, что опухолевые клетки выделяют большое количество экзосом первоначально был установлен у пациентов с раком яичников [37]. В последующем было установлено, что огромное количество экзосом и РНК выделяются различными опухолевыми клетками, в том числе при раке молочной железы [38], колоректальном раке [39], опухолях мозга [40], опухолях яичников [41], раке предстательной железы [42], раке легких [43] и раке мочевого пузыря [44]. Рядом исследователей установлено, что экзосомы, которые выделяются из опухолевых клеток, способны передавать различные

молекулы, воздействуя на другие клетки [45], изменяя их среду, делая более ее благоприятной для роста опухоли и инвазии. Так например, экзосомы меланомы играют важную роль в распространении клеток меланомы с помощью изменений ангиогенной микросреды. При этом метастатические факторы, способствующие поражению лимфатических узлов, активируется при помощи экзосом меланомы [46]. Экзосомы, выделенные из карциномы молочной железы были способны преобразовывать и придавать характеристики раковых клеток нормальным фибробластам и эпителиальным клеткам [47]. Из-за их небольшого размера экзосомы обладают способностью проникать в межклеточные контакты. Высокая стабильность экзосомальной РНК, в частности 18S рРНК [48] и легкость обнаружения РНК в PCR делает обнаружение экзосомальной РНК привлекательным подход для открытия биомаркеров опухолевой прогрессии. В последние годы данные различных авторов подтверждают, что определение 18S рРНК может служить диагностическим маркером при раке молочной железы, желудка, легкого. 18S рРНК может обнаруживаться при применении real time PCR in vitro в образцах непосредственно опухолевой ткани, либо в очищенных опухолевых клетках человека. Обнаружение 18S рРНК является более надежным методом, чем определение других генов домашнего хозяйства в идентификации опухолевых клеток. Однако, есть два недостатка его использования: рРНК не может быть использована для нормального количественного контроля, материалов, которые были обогащены мРНК; рРНК реплицируется в гораздо более высоких уровнях, чем подавляющее большинство мРНК мишеней.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение высокотехнологичных молекулярно-генетических методов на основе ДНК-технологий в фундаментальной и клинической онкологии открывает новые возможности по изучению и определению пусковых механизмов инициации канцерогенеза, установлению причин развития определенных нозологических форм злокачественных опухолей солидного строения, патогенетически обоснованному выбору тактики лечения и оценке его эффективности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Смолякова Р.М. Молекулярно-генетические методы исследования в онкологии. Онкологический журнал. 2011. – Т. 5, №4. – С.37–41.
2. Barton D.E., Kwon B.S., Francke U. Human tyrosinase gene, mapped to chromosome 11 (q14-q21), defines second region of homology with mouse chromosome 7. Genomics. 1998. - 1988. – Vol. 3, №1. – P.17–24.
3. Kwon B.S., Haq A.K., Pomerantz S.H., Halaban R. Isolation and sequence of a cDNA clone for human tyrosinase that maps at the mouse c-albino locus. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1987. – Vol. 84, №21. – P.7473–77.

4. Theos A.C., Tenza D., Martina J.A. et al. Functions of adaptor protein (AP)-3 and AP-1 in tyrosinase sorting from endosomes to melanosomes. *Mol. Biol. Cell.* 2005. – Vol. 16, №11. – P.5356–72.
5. Vandesompele J., Preter K.D., Pattyn F. et al. Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol.* [serial on the internet]. 2002. – Vol. 3, №7. [about 11 p.]. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC126239/>– P.1–11.
6. Altieri D.C. Molecular cloning of effector cell protease receptor-1, a novel cell surface receptor for the protease factor Xa. *J. Biol. Chem.* 1994. – Vol. 269, №5. – P.3139–42.
7. Altieri D.C. Splicing of effector cell protease receptor-1 mRNA is modulated by an unusual retained intron. *Biochemistry.* 1994 – Vol. 33. №46. – P.13848–55.
8. Sah N.K., Khan Z., Khan G.J., Bisen P.S. Structural, functional and therapeutic biology of surviving. *Cancer Lett.* 2006. – Vol. 244. №2. P.164–71.
9. Olie R.A., Simoes-Wust A.P., Baumann B. et al. A novel antisense oligonucleotide targeting survivin expression induces apoptosis and sensitizes lung cancer cells to chemotherapy. *Cancer Res.* 2006. – Vol. 60. №11. – P.2805–9.
10. Tamm I., Wang Y., Sausville E. et al. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res.* 1998. – Vol. 58. №23. – P.5315–20.
11. Ambrosini G., Adida C., Altieri D.C. A novel anti-apoptotic gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat. Med.* 1997. – Vol. 3, №8. – P.917–21.
12. Castedo M., Perfettini J.L., Roumier T., Andreau K., Medema R., Kroemer G. Cell death by mitotic catastrophe: a molecular definition. *Oncogene.* 2004. – Vol. 23, №16. – P.2825–37.
13. Mirza A., McGuirk M., Hockenberry T.N. et al. Human survivin is negatively regulated by wild-type p53 and participates in p53-dependent apoptotic pathway. *Oncogene.* 2002. – Vol. 21, №17. – P.2613–22.
14. Friedrichs B., Siegel S., Andersen M.H., Schmitz N., Zeis M. Survivin-derived peptide epitopes and their role for induction of antitumor immunity in hematological malignancies. *Leuk. Lymphoma.* 2006 – Vol. 47, №6. – P.978–85.
15. Lu J., Tan M., Huang W.C. et al. Mitotic deregulation by survivin in ErbB2-overexpressing breast cancer cells contributes to Taxol resistance. *Clin. Cancer Res.* 2009. – Vol. 15, №4. – P.1326-34.
16. Mitri Z., Constantine T, O'Regan R. The HER2 Receptor in Breast Cancer: Pathophysiology, Clinical Use, and New Advances in Therapy. *Chemother Res. Pract.* [serial on the internet]. 2012 [about 7 p.]. Available from <http://www.hindawi.com/journals/cherp/2012/743193/>
17. Olayioye M.A. Update on HER-2 as a target for cancer therapy: Intracellular signaling pathways of ErbB2/HER-2 and family members. *Breast Cancer Res.* 2001. – Vol. 3, №6. – P.385–389.

18. Burstein H.J. The distinctive nature of HER2-positive breast cancers". *N. Engl. J. Med.* 2005. – Vol. 353, №16. – P.1652–4.
19. Tan M., Yu D. Molecular mechanisms of erbB2-mediated breast cancer chemoresistance". *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007. – Vol. 608. – P.119–29.
20. Santin A.D., Bellone S., Roman J.J., McKenney J.K., Pecorelli S. Trastuzumab treatment in patients with advanced or recurrent endometrial carcinoma overexpressing HER2/neu. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2008. – Vol. 102, №2. – P.128–31.
21. Nagy P., Jenei A., Kirsch A.K., Szollosi J., Damjanovich S., Jovin T.M. Activation-dependent clustering of the erbB2 receptor tyrosine kinase detected by scanning near-field optical microscopy. *J. Cell. Sci.* 1999. – Vol. 112, №11. – P.1733–41.
22. Le X.F., Pruefer F., Bast R. HER2-targeting antibodies modulate the cyclin-dependent kinase inhibitor p27Kip1 via multiple signaling pathways. *Cell Cycle.* 2005. – Vol. 4, №1. – P.87–95.
23. Roy V., Perez E.A. Beyond trastuzumab: small molecule tyrosine kinase inhibitors in HER-2-positive breast cancer. *Oncologist.* 2009. – Vol. 14, №11. – P.1061–9.
24. Telli M.L., Hunt S.A., Carlson R.W., Guardino A.E. Trastuzumab-related cardiotoxicity: calling into question the concept of reversibility. *J. Clin. Oncol.* 2007. – Vol. 25, №23. – P.3525–33.
25. Ali S.M., Carney W.P., Esteva F.J. et al. Serum HER-2/neu and relative resistance to trastuzumab-based therapy in patients with metastatic breast cancer. *Cancer.* 2008. – Vol. 113, №6. – P.1294–301.
26. Tarze A., Deniaud A., Le Bras M. et al. GAPDH, a novel regulator of the pro-apoptotic mitochondrial membrane permeabilization. *Oncogene.* 2007. – Vol. 26, №18. – P.2606–20.
27. Zheng L., Roeder R.G., Luo Y. S phase activation of the histone H2B promoter by OCA-S, a coactivator complex that contains GAPDH as a key component. *Cell.* 2003. – Vol. 114, №2. – P.255–66.
28. Hara M.R., Agrawal N., Kim S.F. et al. S-nitrosylated GAPDH initiates apoptotic cell death by nuclear translocation following Siah1 binding. *Nat. Cell Biol.* 2005. – Vol. 7, №7. – P.665–74.
29. Agarwal A.R., Zhao L., Sancheti H., Sundar I.K., Rahman I., Cadenas E. Short-term cigarette smoke exposure induces reversible changes in energy metabolism and cellular redox status independent of inflammatory responses in mouse lungs. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2012. – Vol. 10. – P.889-98.
30. Tisdale E.J., Artalejo C.R. A GAPDH mutant defective in Src-dependent tyrosine phosphorylation impedes Rab2-mediated events. *Traffic.* 2008. – Vol. 8, №6. – P.733–41.
31. Colell A., Ricci J.E., Tait S. et al. GAPDH and autophagy preserve survival after apoptotic cytochrome c release in the absence of caspase activation. *Cell.* 2007. – Vol. 129. – P.983–997.

32. Huang T.C., Chang H.Y., Hsu C.H., Kuo W.H., Chang K.J., Juan H.F: Targeting Therapy for Breast Carcinoma by ATP Synthase Inhibitor Aurovertin B.J. *Proteome Res.* 2008. – Vol. 7, №4. – P.1433–1444.
33. Chen G., Wang C., Shi T. Overview of available methods for diverse RNA-Seq data analyses. *Sci. China Life Sci.* 2011. – Vol. 54. – P.1121–8.
34. Raposo G., Stoorvogel W. Extracellular vesicles: exosomes, microvesicles, and friends. *J. Cell Biol.* 2013. – Vol. 200. – P.373–83.
35. Valadi H., Ekstrom K., Bossios A., Sjostrand M., Lee J.J., Lotvall J.O. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat. Cell. Biol.* 2007. – Vol. 9. – P.654–9.
36. Mittelbrunn M., Gutierrez-Vazquez C., Villarroya-Beltri C. et al. Unidirectional transfer of microRNA-loaded exosomes from T cells to antigen-presenting cells. *Nat. Commun.* 2011. – Vol. 2. – P.282.
37. Taylor D.D., Homesley H.D., Doellgast G.J. Membrane-associated immunoglobulins in cyst and ascites fluids of ovarian cancer patients. *Am. J. Reprod. Immunol.* 1983. – Vol. 3. – P.7–11.
38. King H.W., Michael M.Z., Gleadle J. Hypoxic enhancement of exosome release by breast cancer cells. *BMC Cancer.* 2012. – Vol. 12. – P.421.
39. Silva J., Garcia V., Rodriguez M. et al. Analysis of exosome release and its prognostic value in human colorectal cancer. *Genes Chromosomes Cancer.* 2012. – Vol. 51. – P.409–18.
40. Graner M.W., Alzate O., Dechkovskaia A.M. et al. Proteomic and immunologic analyses of brain tumor exosomes. *FASEB J.* 2009. – Vol. 23. – P.1541–57.
41. Escrevente C., Keller S., Altevogt P., Costa J. Interaction and uptake of exosomes by ovarian cancer cells. *BMC Cancer.* 2011. – Vol. 11. – P.108.
42. Mitchell P.J., Welton J., Staffurth J. et al. Can urinary exosomes act as treatment response markers in prostate cancer? *J. Transl. Med.* 2009. – Vol. 7. – P.4.
43. Rabinowits G., Gercel-Taylor C., Day J.M., Taylor D.D., Kloecker G.H. Exosomal microRNA: a diagnostic marker for lung cancer. *Clin Lung Cancer.* 2009. – Vol. 10. – P.42–46.
44. Welton J.L., Khanna S., Giles P.J. et al. Proteomics analysis of bladder cancer exosomes. *Mol. Cell. Proteomics.* 2010. – Vol. 9. – P.1324–38.
45. Al-Nedawi K., Meehan B., Rak J. Microvesicles: messengers and mediators of tumor progression. *Cell. Cycle.* 2009. – Vol. 8. – P.2014–18.
46. Muralidharan-Chari V., Clancy J., Plou C. et al. ARF6-regulated shedding of tumor cell-derived plasma membrane microvesicles. *Curr. Biol.* 2009. – Vol. 19. – P.1875–85.
47. Hood J.L., San R.S., Wickline S.A. Exosomes released by melanoma cells prepare sentinel lymph nodes for tumor metastasis. *Cancer Res.* 2011. – Vol. 71. – P.3792–801.

48. Skog J., Wurdinger T., Van Rijn S. et al. Glioblastoma microvesicles transport RNA and proteins that promote tumour growth and provide diagnostic biomarkers. *Nat. Cell. Biol.* 2008. – Vol. 10. – P.1470–76.