

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2022-21-2-33-39>

# Присутствие мРНК раково-тестикулярных генов в опухоли и периферической крови больных раком эндометрия

А. В. Калугин<sup>1</sup>, Д. В. Новиков<sup>1,2</sup>, М. Е. Мамаева<sup>3</sup>, А. В. Алясова<sup>4</sup>, Х. М. Ариуа<sup>1</sup>, В. В. Новиков<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского»; Россия, 603950 Нижний Новгород, пр-кт Гагарина, 23;

<sup>2</sup>ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И. Н. Блохиной»; Россия, 603950 Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71;

<sup>3</sup>ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» Федерального медико-биологического агентства; Россия, 603001 Нижний Новгород, Нижневолжская наб., 2;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России; Россия, 603950 Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

**Контакты:** Виктор Владимирович Новиков [mbre@mail.ru](mailto:mbre@mail.ru)

**Введение.** Раково-тестикулярные (РТ) гены экспрессируются в опухолевых клетках при многих онкологических заболеваниях, в том числе при раке эндометрия (РЭ). мРНК РТ-генов выявлена в крови больных с новообразованиями, что определяет перспективность использования мРНК РТ-генов в качестве опухолеассоциированных биомаркеров. В периферической крови больных РЭ экспрессия РТ-генов ранее не изучалась.

**Цель исследования** – оценка встречаемости мРНК принадлежащих разным семействам РТ-генов (*MAGEA1–MAGEA6* (*MAGEA(1–6)*), *SSX1*, *2*, *4*, *XAGE1*, *MAGEC1*, *NY-ESO1*) в опухолевых очагах и периферической крови больных РЭ.

**Материалы и методы.** В работе использовали 52 образца опухолевых очагов и 54 образца цельной периферической крови пациенток 39–79 лет с диагнозом РЭ, проходивших лечение в клиниках Нижнего Новгорода, а также крови 30 здоровых добровольцев. В крови и опухолях с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией определяли частоту встречаемости мРНК 12 наименований РТ-генов.

**Результаты.** Показано, что мРНК тестированных РТ-генов обнаруживается при РЭ не только в опухолях, но и в цельной периферической крови больных. Чаще всего встречается мРНК *MAGEA(1–6)*. При этом как в опухолях, так и в периферической крови больных обнаруживается высокая гетерогенность экспрессии РТ-генов. Выявлены случаи обнаружения мРНК *MAGEA(1–6)*, *SSX1*, *2*, *4*, *XAGE1*, *NY-ESO1*, *MAGEC1* в опухоли больных РЭ при отсутствии их детекции в периферической крови и наоборот. Суммарная частота встречаемости мРНК *MAGEA(1–6)*, *SSX1*, *2*, *4*, *XAGE1*, *NY-ESO1*, *MAGEC1* в опухолевых очагах составила 75,0 %, а в периферической крови – 44,6 %. Как и в опухолях, в большинстве образцов крови обнаруживалась экспрессия только одного РТ-гена. Лишь в отдельных случаях регистрировалась экспрессия 2 или 3 генов. Заметим, что во всех образцах крови здоровых добровольцев мРНК РТ-генов не обнаруживалась. Смешанная форма роста опухоли (экзофитная + эндофитная), рост по дну и стенкам матки, а также низкая степень дифференцировки опухолевых клеток характеризовались более высокой встречаемостью мРНК РТ-генов в крови и опухолях больных.

**Заключение.** При РЭ мРНК РТ-генов встречается в крови и опухолевых очагах больных. Более тяжелое течение РЭ сопровождается повышением частоты встречаемости мРНК РТ-генов.

**Ключевые слова:** раково-тестикулярные гены, мРНК, рак эндометрия, опухоль, периферическая кровь

**Для цитирования:** Калугин А. В., Новиков Д. В., Мамаева М. Е. и др. Присутствие мРНК раково-тестикулярных генов в опухоли и периферической крови больных раком эндометрия. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(2):33–9. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-2-33-39

## Cancer-testis genes mRNA presence in tumor lesion and peripheral blood of endometrial cancer patients

Alexander V. Kalugin<sup>1</sup>, Dmitriy V. Novikov<sup>1,2</sup>, Marina E. Mamaeva<sup>3</sup>, Anna V. Alyasova<sup>4</sup>, Khalil M. Arioua<sup>1</sup>, Viktor V. Novikov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*N. I. Lobachevsky National Research State University of Nizhny Novgorod; 23 Gagarin Ave., Nizhny Novgorod 603950, Russia;*

<sup>2</sup>*Academician N. I. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 71 Malaya Yamskaya St., Nizhny Novgorod 603950, Russia;*

<sup>3</sup>*Medical Center of Privolzhsky District, Federal Medical Biological Agency; 2 Nizhnevolzhskaya Embankment, Nizhny Novgorod 603001, Russia;*

<sup>4</sup>*Privolzhsky Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 10/1 Minin and Pozharsky Sq., Nizhny Novgorod 603950, Russia*

**Contacts:** Viktor Vladimirovich Novikov *mbre@mail.ru*

**Background.** Cancer-testicular (CT) genes express in tumor cells in many cancers, including endometrial cancer (ER). CT genes mRNA was detected in the blood of patients with neoplasms, which determines the prospects of using CT gene mRNA as tumor-associated biomarkers. In the peripheral blood of patients with ER, the expression of CT genes has not been studied before.

**Objective.** Assessment of occurrence of mRNA of the CT genes *MAGEA1–MAGEA6* (*MAGEA(1–6)*), *SSX1, 2, 4, XAGE1, MAGEC1, NY-ESO1* in the tumors and peripheral blood of patients with ER.

**Materials and methods.** The work used 52 samples of tumor and 54 samples of whole peripheral blood of patients 39–79 years old diagnosed with RE who were treated in clinics in Nizhny Novgorod, as well as the blood of 30 healthy volunteers. In blood and tumors, the frequency of occurrence of mRNA of 12 CT genes was determined using multiplex reverse transcription polymerase chain reaction.

**Results.** It has been shown that the mRNA of the tested CT genes is detected in ER not only in tumors, but also in the peripheral blood of patients. The most common mRNA is *MAGEA(1–6)*. At the same time, both in tumors and in the peripheral blood of patients, high heterogeneity in the expression of CT genes detected. Moreover, cases of *MAGEA(1–6), SSX1, 2, 4, XAGE1, NY-ESO1, MAGEC1* mRNA detection in tumors were revealed in the absence of their detection in the peripheral blood and conversely. The total frequency of *MAGEA(1–6), SSX1, 2, 4, XAGE1, NY-ESO1, MAGEC1* mRNA occurrence in tumors was 75.0 %, and in peripheral blood – 44.6 %. As in tumors, most blood samples showed expression of only one CT gene. Only in some cases the expression of two or three genes was recorded. Note that in all blood samples of healthy volunteers mRNA CT genes was not detected. Additionally, mixed form of macroscopic growth (both exophytic and endophytic), growth along the uterine fundus and walls, as well as low degree of differentiation were followed by a higher mRNA CT genes occurrence in the blood and tumors.

**Conclusion.** In ER mRNA CT genes occur in the blood and tumors of patients. A more severe course of ER is associated with an increase in the incidence of mRNA CT genes.

**Keywords:** cancer-testicular genes, mRNA, endometrial cancer, tumor, peripheral blood

**For citation:** Kalugin A.V., Novikov D.V., Mamaeva M.E. et al. Cancer-testis genes mRNA presence in tumor lesion and peripheral blood of endometrial cancer patients. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2022;21(2):33–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-2-33-39

## Введение

К раково-тестикулярным (РТ, cancer-testis) относят группу генов, общей характеристикой которых является ограниченная экспрессия в гаметогенных и опухолевых клетках. В соматических клетках их экспрессия обычно блокирована эпигенетически [1]. РТ-гены картированы и на аутосомах (X-независимые РТ-гены), и на половых хромосомах (X- и Y-ассоциированные РТ-гены) [2]. В клетках злокачественных опухолей экспрессия РТ-генов ассоциирована с повышением уровня генетической нестабильности и пролиферации, эпителиально-мезенхимальным переходом, иммортализацией, ангиогенезом, способностью к миграции и уклонению от иммунологического надзора [3]. Экспрессия РТ-генов обнаружена во многих опухолях. Кроме того, матричная РНК (мРНК) РТ-генов выявлена в крови больных с новообразованиями, что определяет перспективность использования мРНК РТ-генов в качестве опухоль-ассоциированных биомаркеров [4, 5]. При раке

эндометрия (РЭ) в опухолевых клетках также обнаружена мРНК ряда РТ-генов [6]. Однако в периферической крови больных РЭ экспрессия РТ-генов не изучалась.

**Цель данного исследования** – анализ частоты выявления мРНК X-ассоциированных РТ-генов разных семейств в периферической крови и опухолевых очагах больных РЭ.

## Материалы и методы

В работе использовали 52 образца опухолевых очагов и 54 образца цельной периферической крови пациенток 39–79 лет с диагнозом РЭ, проходивших лечение в ГБУЗ НО «Нижегородская областная клиническая больница им. Н.А. Семашко», ГБУЗ НО «Нижегородский областной клинический онкологический диспансер» и ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, а также кровь 30 клинически здоровых добровольцев. Формирование групп больных осуществлялось после

постановки диагноза на основании клинического, морфологического, эндоскопического, рентгенологического обследований и по результатам оперативного вмешательства. Больные были разделены на группы в соответствии со стадией заболевания, локализацией опухоли, степенью дифференцировки клеток опухоли, формой макроскопического роста опухоли.

Кровь для тестирования брали натощак утром в день операции до резекции опухоли. Работу с кровью и образцами опухолей проводили в соответствии с международными правилами работы с биологическим материалом. Кусочки опухоли размером  $2,0 \times 2,0 \times 2,0$  мм иссекали в ходе плановых операций, промывали в физиологическом растворе и помещали в 500 мкл лизирующего буферного раствора (4 М гуанидин-изотиоцианат, 0,5 % Тритон X-100, 25 мМ ацетат натрия, pH 7,0). Периферическую кровь смешивали с лизирующим буферным раствором в соотношении 1:1. Суммарную РНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции с последующей преципитацией спиртами.

С помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) определяли частоту встречаемости мРНК 12 наименованных X-ассоциированных генов (*MAGEA1–MAGEA6* (*MAGEA(1–6)*), *NY-ESO1*, *XAGE1*, *SSX1*, 2, 4, *MAGEC1*), принадлежащих к разным семействам и не обнаруживаемых в нормальных соматических клетках. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием эквимольной смеси (4 пмоль) обратных праймеров, специфичных к мРНК тестируемых РТ-генов [6, 7], и ревертазы М–MLV (Fermentas, Латвия) согласно рекомендациям производителя.

Для амплификации кДНК РТ-генов выполняли 2 раунда «гнездовой» ПЦР. Амплификацию проводили в объеме 25 мкл. Реакционная смесь для первого раунда ПЦР содержала 70 мМ Трис-НСl, 16,6 мМ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , pH 8,3, 3 мМ  $\text{MgCl}_2$ , по 0,2 мМ каждого из четырех дезоксинуклеозидтрифосфатов («Силекс», Россия), по 20 пмоль прямого и обратного праймеров, 2 мкл кДНК, 2,5 е. а. HotTaq-полимеразы («Силекс», Россия). Реакционная смесь для второго раунда ПЦР содержала 70 мМ Трис-НСl, 16,6 мМ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , pH 8,3, 2 мМ  $\text{MgCl}_2$ , по 0,16 мМ каждого из четырех дезоксинуклеозидтрифосфатов («Силекс», Россия), по 20 пмоль прямого и обратного праймеров, 2 мкл ДНК, 2,5 е. а. HotTaq-полимеразы («Силекс», Россия).

В ОТ-ПЦР использовали праймеры, комплементарные местам соединения экзонов в первичной структуре мРНК РТ-генов, которые были сконструированы ранее. Праймеры синтезированы ООО НПФ «Литех» (Россия). В первом раунде проводили 35 циклов мультиплексной ПЦР при условиях:  $94^\circ\text{C} - 30$  с,  $55^\circ\text{C} - 30$  с,  $72^\circ\text{C} - 40$  с. Во втором раунде проводи-

ли 25 циклов ген-специфической ПЦР для каждой из исследуемых мРНК РТ-генов, кроме мРНК *SSX1*, 2, 4, при следующих условиях:  $94^\circ\text{C} - 30$  с,  $60^\circ\text{C} - 30$  с,  $72^\circ\text{C} - 40$  с. Для детекции мРНК *SSX1*, 2, 4 проводили 25 циклов второй ПЦР при условиях:  $94^\circ\text{C} - 30$  с,  $56^\circ\text{C} - 30$  с,  $72^\circ\text{C} - 40$  с.

В качестве положительного контроля использовали положительные по мРНК РТ-генов образцы опухоли и тест на определение мРНК гена убиквитинлигазы С (*UBC*). Результаты реакции регистрировали методом горизонтального электрофореза в 1,5 % агарозном геле в присутствии 5 мкг/мл бромида этидия при напряжении 170 вольт, мощности 73 Вт и силе тока 250 мА.

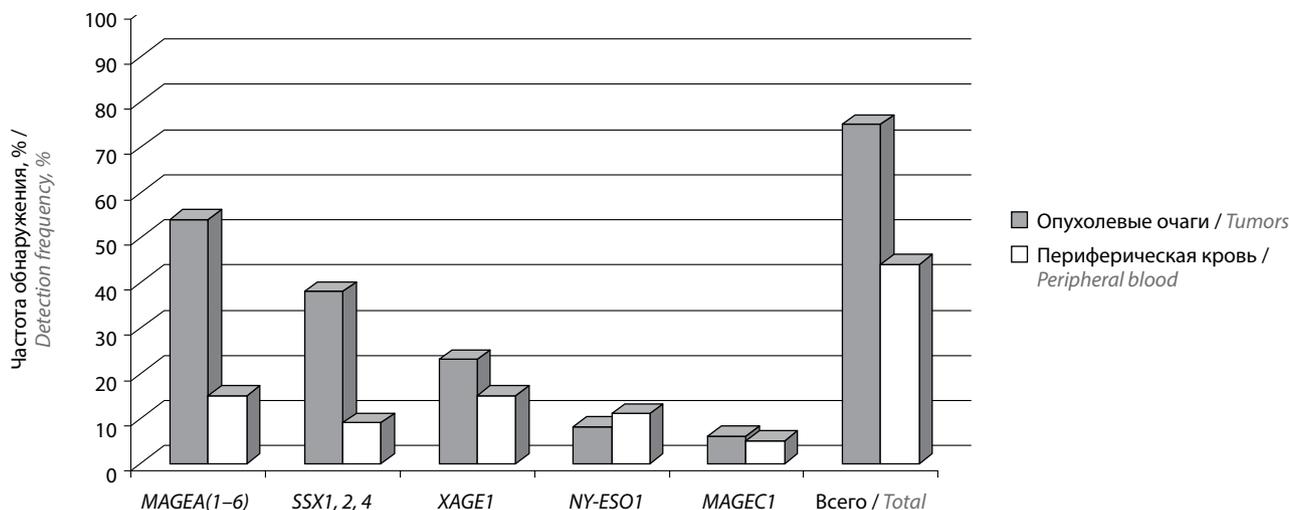
Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ Statistica v. 10.0 и MS Excel 2003. Для оценки встречаемости мРНК исследуемых РТ-генов рассчитывали относительные частоты обнаружения. Для анализа различий относительных частот обнаружения мРНК в группах использовали двусторонний (двухходовый) тест критерия сравнения пропорций. Для анализа различий абсолютных частот детекции мРНК в группах применяли критерий  $\chi^2$  по Пирсону или двусторонний тест точного критерия Фишера. Доверительный интервал выбрали равным 0,95. Различия считали статистически значимыми при уровне статистической значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

В опухолевых очагах чаще всего обнаруживалась общая мРНК генов *MAGEA(1–6)*, выявляемая с помощью разработанного нами ранее теста [8]. Частота обнаружения мРНК генов *MAGEA(1–6)* составила 53,8 % (28 из 52 образцов опухолей). Несколько реже встречались мРНК генов *SSX1*, 2, 4, также детектируемая в одном тесте (38,5 % случаев), и мРНК гена *XAGE1* (23,1 % случаев). мРНК генов *MAGEC1* и *NY-ESO1* обнаруживалась значительно реже (5,7 и 7,7 % случаев соответственно). Суммарная частота обнаружения мРНК тестируемых генов в опухолевых очагах составила 75,0 % (39 из 52 образцов) (рис. 1).

В 51,2 % положительных образцов детектировалась мРНК только одного гена, в 30,8 % положительных образцов обнаруживалась мРНК 2 генов. В остальных случаях выявлялась мРНК 3 или 4 разных генов. Чаще всего совместная экспрессия была свойственна генам *MAGEA(1–6)* и *XAGE1*.

В периферической крови частота встречаемости мРНК тестируемых РТ-генов была, как правило, ниже. Исключение составила мРНК *NY-ESO1*, которая обнаруживалась в 11,1 % случаев, что в 1,4 раза выше частоты экспрессии этого гена в опухоли. Общая частота детекции мРНК РТ-генов составила 44,6 %, что в 1,7 раза меньше, чем в опухолевых очагах (см. рис. 1). При этом чаще всего обнаруживалась



**Рис. 1.** Частота обнаружения мРНК *MAGEA(1-6)*, *NY-ESO1*, *XAGE1*, *SSX1, 2, 4*, *MAGEC1* в опухолевых очагах и периферической крови больных раком эндометрия

**Fig. 1.** Frequency of *MAGEA(1-6)*, *NY-ESO1*, *XAGE1*, *SSX1, 2, 4*, *MAGEC1* mRNA detection in tumors and peripheral blood of patients with endometrial cancer

мРНК генов *MAGEA(1-6)* и *XAGE1*. Частота их детекции в обоих случаях составила 14,8 %. Как и в опухолях, в большинстве образцов крови обнаруживалась экспрессия только одного РТ-гена. Лишь в отдельных случаях регистрировалась экспрессия 2 или 3 генов. Заметим, что во всех образцах крови здоровых добровольцев мРНК РТ-генов не обнаруживалась.

Набор мРНК РТ-генов, выявляемых в опухолевых очагах, далеко не всегда совпадал с набором, обнаруживаемым в периферической крови. У 15 из 39 больных мРНК РТ-генов регистрировалась в опухолях, но не детектировалась в крови, а у 6 больных, наоборот, мРНК РТ-генов присутствовала в крови, но не определялась в опухоли. Причиной отсутствия мРНК в тестируемом образце опухоли, вероятно, является пространственная неоднородность клеточно-состава опухолевых очагов.

Еще у 6 больных РЭ детектируемые наборы мРНК различались в крови и опухоли, и лишь у 12 больных определены одинаковые наборы мРНК РТ-генов в крови и опухоли. Таким образом, полученные данные продемонстрировали достаточно высокую гетерогенность экспрессии разных РТ-генов в опухолях больных РЭ и различия со спектрами мРНК РТ-генов, обнаруживаемыми в периферической крови этих же больных.

Проведено сопоставление частоты детекции мРНК генов *MAGEA(1-6)*, *SSX1, 2, 4*, *XAGE1*, *MAGEC1*, *NY-ESO1* в опухолевых очагах и периферической крови больных с разными формами макроскопического роста, типами (глубиной) инвазивного/инфильтративного роста, степенью дифференцировки и локализацией опухоли в теле матки.

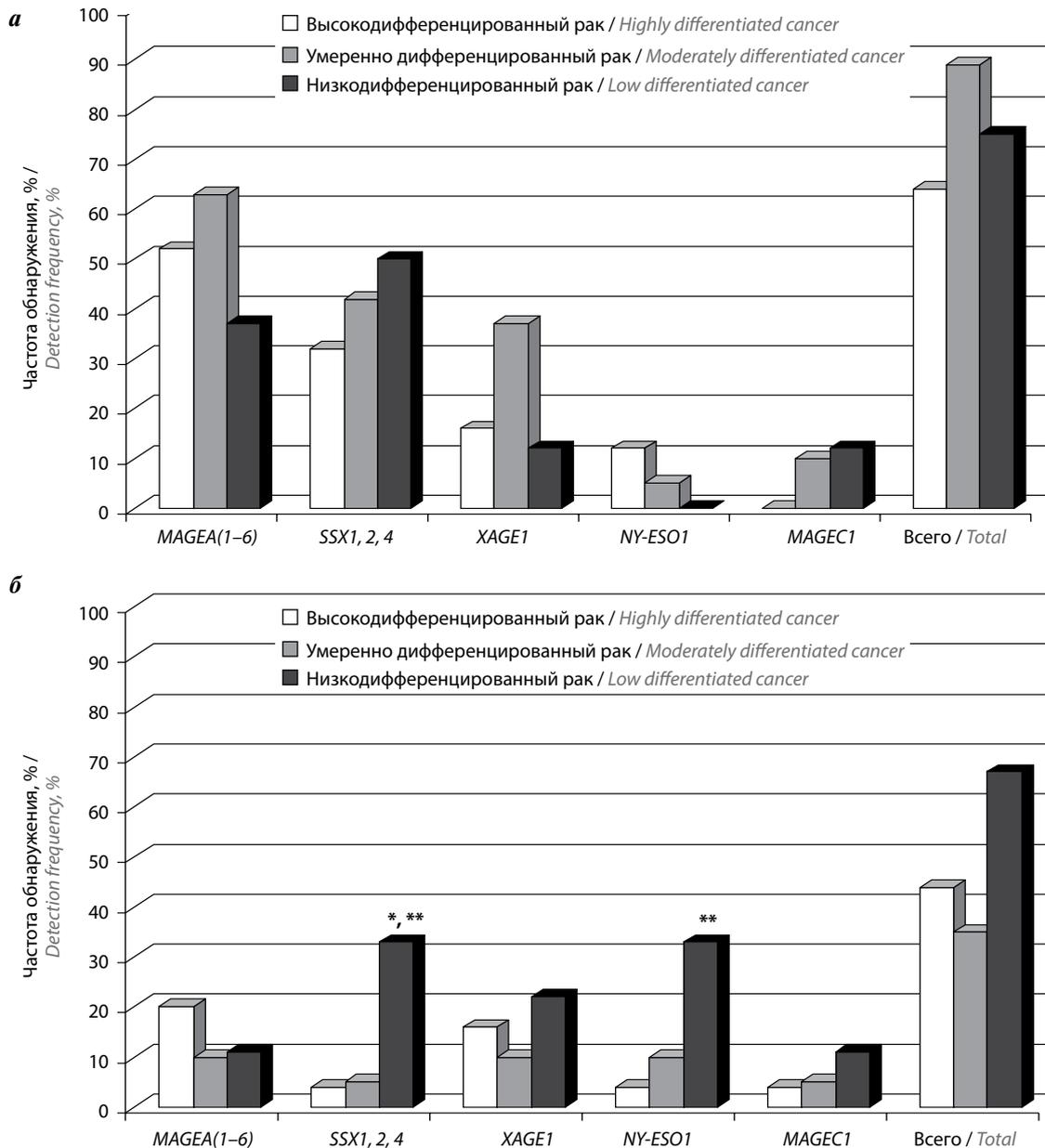
В опухолях со смешанным ростом суммарная частота обнаружения тестируемых мРНК достигала

90 % и была статистически значимо выше, чем в опухолях с эндофитным ростом ( $p = 0,03$ ). Основной вклад вносила мРНК *MAGEA(1-6)*, частота обнаружения которой также была статистически значимо выше, чем у больных с эндофитным ростом опухоли ( $p = 0,005$ ). В периферической крови тех же больных суммарная частота обнаружения мРНК РТ-генов при смешанном росте превышала частоту детекции при экзофитном ( $p = 0,017$ ) и эндофитном росте опухоли ( $p = 0,035$ ). Реже всего мРНК РТ-генов выявляли при экзофитном росте. Так, мРНК *SSX1, 2, 4*, *XAGE1*, *MAGEC1* не была обнаружена ни у одного больного с экзофитным ростом опухоли.

Различия в глубине инвазивного роста не сопровождалось статистически значимыми изменениями в частоте выявления тестируемых мРНК. Максимальная суммарная частота обнаружения мРНК РТ-генов (до 90 %) была характерна для опухолевых очагов больных с ростом опухоли по дну и стенкам матки. Чаще всего определялась мРНК *MAGEA(1-6)*. Эти же больные характеризовались наиболее частым присутствием мРНК РТ-генов в периферической крови.

Степень дифференцировки опухоли не отражалась на частоте детекции мРНК РТ-генов в опухолевых очагах. Однако в крови больных с низкодифференцированным РЭ статистически значимо чаще обнаруживалась мРНК генов *SSX1, 2, 4* и *NY-ESO1*. В обоих случаях мРНК детектировалась у каждой 3-й больной. Суммарная частота обнаружения мРНК РТ-генов имела тенденцию к повышению по мере уменьшения степени дифференцировки опухолевых клеток (рис. 2).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что мРНК РТ-генов *MAGEA(1-6)*,



**Рис. 2.** Частота обнаружения мРНК MAGEA(1-6), SSX1, 2, 4, XAGE1, NY-ESO1 и MAGEC1 у больных раком эндометрия при разной степени дифференцировки опухоли: а – в опухолевых очагах, б – в периферической крови; \*статистически значимые различия по сравнению с умеренно дифференцированным раком ( $p = 0,041$ ), \*\*статистически значимые различия по сравнению с высокодифференцированным раком ( $p < 0,05$ )

**Fig. 2.** Frequency of MAGEA(1-6), SSX1, 2, 4, XAGE1, NY-ESO1 and MAGEC1 mRNA detection in patients with endometrial cancer with different degrees of tumor differentiation: а – tumors, б – peripheral blood; \*statistically significant differences with moderately differentiated cancer ( $p = 0.041$ ), \*\*statistically significant differences with highly differentiated cancer ( $p < 0.05$ )

SSX1, 2, 4, XAGE1, MAGEC1, NY-ESO1 с разной частотой выявляется не только в опухолях больных РЭ, но и в их периферической крови. В целом встречаемость мРНК РТ-генов в опухолях выше, чем в периферической крови. При этом обнаруживаются высокая гетерогенность экспрессии РТ-генов в опухолях больных и различия со спектрами мРНК РТ-генов в периферической крови этих же больных. Выявлены случаи обнаружения мРНК MAGEA(1-6), SSX1, 2, 4,

XAGE1, NY-ESO1 и MAGEC1 в периферической крови больных РЭ при отсутствии их детекции в опухоли и наоборот.

Анализ встречаемости мРНК РТ-генов MAGEA(1-6), SSX1, 2, 4, XAGE1, MAGEC1, NY-ESO1 показал, что глубина инвазивного роста опухоли не отражалась на частоте присутствия мРНК РТ-генов в опухолевых очагах и периферической крови больных РЭ. Однако различия в форме макроскопического роста

и локализации опухоли, а также в степени ее дифференцировки сопровождалась изменениями в частоте обнаружения мРНК РТ-генов в периферической крови. Смешанная форма роста (экзофитная + эндофитная), рост по дну и стенкам матки, а также низкая степень дифференцировки характеризовались более высокой встречаемостью мРНК РТ-генов в крови больных. То есть по мере прогрессирования РЭ увеличивается вероятность присутствия мРНК тестированных РТ-генов в крови больных.

Представленные результаты дополняют полученные другими авторами данные об экспрессии РТ-генов *MAGEA4*, *MAGEA9*, *SSX1*, *2*, *4*, *NY-ESO1* в опухолях больных РЭ [9] и демонстрируют присутствие мРНК РТ-генов также в крови больных. В периферической крови мРНК РТ-генов ранее была обнаружена при ряде других онкологических заболеваний, таких как рак толстой кишки, легких, почки, печени и др. [10–12]. Вероятной причиной появления в крови онкологических больных мРНК РТ-генов, в соответствии с разными источниками литературы, могут быть циркулирующие опухолевые клетки, экзосомы, деградация опухолевых клеток и появление в кровотоке нуклеопротеидных комплексов [13]. Наличие

мРНК РТ-генов в периферической крови можно рассматривать в качестве биомаркера опухолевого процесса, имеющего потенциальное мониторинговое значение и способного привести дополнительную информацию о патогенезе заболевания.

### Заключение

С помощью двухраундовой «гнездовой» ОТ-ПЦР показано, что X-ассоциированные РТ-гены *MAGEA(1–6)*, *SSX1*, *2*, *4*, *XAGE1*, *MAGEC1*, *NY-ESO1* гетерогенно экспрессируются в опухолевых очагах больных РЭ. При этом мРНК данных генов обнаруживается также в периферической крови больных. Частота обнаружения мРНК каждого из тестированных РТ-генов различалась в крови и опухоли онкологических больных. Суммарная встречаемость мРНК *MAGEA(1–6)*, *SSX1*, *2*, *4*, *XAGE1*, *NY-ESO1* и *MAGEC1* в опухолевых очагах составила 75,0 %, а в периферической крови – 44,6 %. Более тяжелое течение РЭ, отражающееся в таких показателях, как смешанный рост опухоли, заполнение опухолью полости матки, низкодифференцированный гистологический тип опухоли, ассоциировано с повышением частоты встречаемости мРНК РТ-генов в крови и опухолевых очагах.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Van Tongelen A., Lorient A., De Smet C. Oncogenic roles of DNA hypomethylation through the activation of cancer-germline genes. *Cancer Lett* 2017;396:130–7. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.03.029
2. Liu W.-S. Mammalian sex chromosome structure, gene content, and function in male fertility. *Annu Rev Anim Biosci* 2019;7:103–24. DOI: 10.1146/annurev-animal-020518-115332
3. Gjerstorff M.F., Andersen M.H., Ditzel H.J. Oncogenic cancer/testis antigens: prime candidates for immunotherapy. *Oncotarget* 2015;6(18):15772–87. DOI: 10.18632/oncotarget.4694
4. Guo L., Xu D., Lu Y. et al. Detection of circulating tumor cells by reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction and magnetic activated cell sorting in the peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma. *Mol Med Rep* 2017;16(5):5894–900. DOI: 10.3892/mmr.2017.7372
5. Gu L., Sang M., Yin D. et al. *MAGE-A* gene expression in peripheral blood serves as a poor prognostic marker for patients with lung cancer. *Thorac Cancer* 2018;9(4):431–8. DOI: 10.1111/1759-7714.12571
6. Vanderstraeten A., Tuyaerts S., Everaert T. et al. *In Vitro* assessment of the expression and T cell immunogenicity of the tumor-associated antigens *BORIS*, *MUC1*, *hTERT*, *MAGE-A3* and Sp17 in uterine cancer. *Int J Mol Sci* 2016;17(9):1525. DOI: 10.3390/ijms17091525
7. Калугин А.В., Новиков Д.В., Конторщикова Е.Ю. и др. Присутствие мРНК раково-тестикулярных генов в клетках опухолевых очагов и периферической крови больных миомой матки. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*. 2012;2(3):196–200. Kalugin A.V., Novikov D.V., Kontorshchikova E.Yu. et al. The presence of mRNA of cancer-testicular genes in the cells of tumor foci and peripheral blood of patients with uterine myoma. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo = Vestnik of Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod* 2012;2(3):196–200. (In Russ.).
8. Новиков Д.В., Белова Т.В., Пегов Р.Г. и др. Частота обнаружения мРНК *MAGE-A1-A6* в крови онкологических больных. *Клиническая лабораторная диагностика* 2009;4:25–7. PMID: 19514330. Novikov D.V., Belova T.V., Pegov R.G. et al. The frequency of detection of *MAGE-A1-A6* mRNA in the blood of cancer patients. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics* 2009;4:25–7. (In Russ.). PMID: 19514330.
9. Novikov D.V., Belova T.V., Plekhanova E.S. et al. [Early detection of cancer/testis mRNAs in tumor cells circulating in the peripheral blood of colorectal cancer patients (In Russ.)]. *Mol Biol (Mosk.)* 2012;46(5):766–72. PMID: 23156676.
10. Гуррам Н., Новиков Д.В., Алясова А.В., Новиков В.В. Экспрессия раково-тестикулярных генов у больных раком почки. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского* 2012;2(3):183–6. Gourram N., Novikov D.V., Aliasova A.A., Novikov V.V. Expression of cancer-testicular genes in patients with kidney cancer. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo = Vestnik of Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod* 2012;2(3):183–6. (In Russ.).
11. Hilal N.R., Novikov D.V., Novikov V.V., Karaulov A.V. [Cancer-testis genes in colon cancer (In Russ.)]. *Ter Arkh* 2017;89(5):113–7. DOI: 10.17116/terarkh2017895113-117
12. Kannan A., Philley J.V., Hertweck K.L. et al. Cancer testis antigen promotes triple negative breast cancer metastasis and is traceable in the circulating extracellular vesicles. *Sci Rep* 2019;9(1):11632. DOI: 10.1038/s41598-019-48064-w
13. Kuldkapp A., Karakai M., Toomsoo E. et al. Cancer-testis antigens *MAGEA* proteins are incorporated into extracellular vesicles released by cells. *Oncotarget* 2019;10(38):3694–708. DOI: 10.18632/oncotarget.26979

**Вклад авторов**

А.В. Калугин: получение данных для анализа;  
Д.В. Новиков: получение данных для анализа, написание текста рукописи;  
М.Е. Мамаева, А.В. Алясова: анализ полученных данных;  
Х.М. Ариуа: обзор публикаций по теме статьи;  
В.В. Новиков: разработка дизайна исследования.

**Authors' contributions**

A.V. Kalugin: obtaining data for analysis;  
D.V. Novikov: obtaining data for analysis, manuscript writing;  
M.E. Mamaeva, A.V. Alyasova: analysis of the obtained data;  
K.M. Arioua: review of publications on the topic of the article;  
V.V. Novikov: research design development.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

А.В. Калугин / A.V. Kalugin: <https://orcid.org/0000-0002-5484-5645>  
Д.В. Новиков / D.V. Novikov: <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>  
М.Е. Мамаева / M.E. Mamaeva: <https://orcid.org/0000-0001-5961-7986>  
А.В. Алясова / A.V. Alyasov: <https://orcid.org/0000-0003-2621-0359>  
Х.М. Ариуа / K.M. Arioua: <https://orcid.org/0000-0003-1179-2552>  
В.В. Новиков / V.V. Novikov: <https://orcid.org/0000-0002-2449-7213>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Funding.** The study was performed without external funding.

**Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики.** Работу с кровью и образцами опухолей проводили в соответствии с международными правилами работы с биологическим материалом. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

**Compliance with patient rights and principles of bioethics.** The work with blood and tumor samples was carried out in accordance with the international rules for working with biological material. All patients signed informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 22.04.2022. Принята к публикации: 16.05.2022.

Article submitted: 22.04.2022. Accepted for publication: 16.05.2022.