

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии
наук (УФИЦ РАН)
Институт биохимии и генетики - обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии
наук
(ИБГ УФИЦ РАН)**

На правах рукописи

АСАДУЛЛИНА ДИЛАРА ДИНАРОВНА

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК
ИММУНИТЕТА У ПАЦИЕНТОВ СО СВЕТЛОКЛЕТОЧНЫМ ПОЧЕЧНО-
КЛЕТОЧНЫМ РАКОМ**

1.5.7. Генетика (биологические науки)

**Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

**Научный руководитель:
кандидат биологических наук
Гилязова Ирина Ришатовна**

Уфа – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Гистология и классификация рака почки.....	12
1. 2. Терапия скПКК.....	13
1. 2.1. Ограничения стандартных методов лечения.....	14
1. 2.2. Иммунотерапия ИКТИ в лечении скПКК.....	18
1.2.3. Проблема неоднородности ответа на терапию.....	23
1.2.3.1. Развитие резистентности.....	23
1.2.3.2. Развитие иммуноопосредованных нежелательных явлений.....	25
1.2.4. Необходимость поиска предиктивных маркеров для персонализированного подхода.....	30
1.3. Потенциальные предикторы эффективности иммунотерапии.....	31
1. 3.1. Генетические маркеры эффективности терапии.....	31
1.3.1.1. Герминальные мутации, полиморфизмы.....	32
1.3.1.2. Экспрессия PD-L1	34
1.3.2. Эпигенетические маркеры эффективности.....	35
1.3.2.1. Экзосомальные микроРНК.....	36
1.3.2.2. Метилирование ДНК.....	41
1.3.2.3. Модификация гистонов.....	42
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	45
2.1. Материалы исследования.....	45
2.2. Молекулярно-генетические методы исследования.....	47
2.2.1. Забор образцов периферической крови до и после терапии.....	47
2.2.2. Выделение экзосомальных микроРНК и геномной ДНК.....	48
2.2.3. Получение кДНК.....	49
2.2.4. Анализ экспрессии экзосомальных микроРНК.....	50
2.2.5. Подготовка библиотек ДНК.....	50
2.2.6. Полногеномное бисульфидное секвенирование.....	51

2.2.7. Метод дискриминации аллелей ТаqMan.....	52
2.2.8. Статистическая обработка данных.....	52
2.2.9. Бионформатическая обработка данных.....	53
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	58
3.1. Профиль экспрессии экзосомальных микроРНК до и после терапии.....	58
3.2. Анализ ассоциации генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов микроРНК с развитием иммуноопосредованных нежелательных явлений на фоне терапии ИКТИ.....	67
3.3 Анализ обогащения биологических путей, ассоциированных с ответом на иммунотерапию.....	69
3.4. Метиломный анализ.....	76
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	88
ВЫВОДЫ.....	91
Список сокращений и условных обозначений.....	93
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	95
Приложение А— Анализ путей обогащения статистически значимых микроРНК согласно KEGG.....	126
Приложение Б— Дифференциально метилированные регионы ДНК пациентов, демонстрирующих ответ на терапию против пациентов, не демонстрирующих ответ на терапию.....	132

Актуальность

Почечно-клеточный рак (ПКР) представляет собой гетерогенную группу злокачественных карцином с различными гистологическими подтипами и относится к числу распространённых и высоколетальных онкологических заболеваний мочевыводящей системы.

Наиболее распространённым гистологическим подтипом является светлоклеточный почечно-клеточный рак (скПКР), также называемый светлоклеточной почечно-клеточной карциномой (скПКК). В 2022 году наибольшее количество случаев ПКР было зафиксировано в Китае, США и России (Kidney cancer statistics | World Cancer Research Fund: [сайт]. URL: <https://www.wcrf.org/>). В 2024 году на территории Российской Федерации было выявлено более 22 000 новых случаев ПКР (Каприн и др., 2025).

В последние годы иммунотерапия с применением ингибиторов контрольных точек иммунитета (ИКТИ) продемонстрировала значительный клинический потенциал в лечении ряда онкологических заболеваний, в том числе ПКР, обеспечивая существенное улучшение исходов у части пациентов. Вместе с тем лишь незначительная доля больных достигает устойчивой эффективности и продолжительной выживаемости при лечении ИКТИ, что подчёркивает важность поиска надёжных биомаркеров для скрининга потенциальных реципиентов и снижения риска чрезмерного лечения.

Для ряда опухолевых нозологий клинически валидированным биомаркером ответа на ИКТИ служат уровни экспрессии PD-L1, иммунная инфильтрация и опухолевая мутационная нагрузка. Однако при ПКР данные маркеры не обеспечивают надёжной стратификации пациентов по ответу на терапию и не являются клинически актуальными.

В настоящее время особый интерес в связи с иммунотерапией онкологических заболеваний привлекают микроРНК, в частности сети микроРНК, прямо и косвенно контролирующие экспрессию рецепторов иммунных

контрольных точек. МикроРНК могут служить важнейшим компонентом биомаркерного ряда для прогнозирования эффективности ИКТИ; оценка их уровней в образцах плазмы до и после лечения представляет собой удобный и неинвазивный метод мониторинга терапевтического ответа. Экзосомальные микроРНК демонстрируют высокую стабильность и воспроизводимость, участвуют в межклеточной коммуникации, транспорте биомолекул и метастазировании, что делает их перспективными предикторами как чувствительности, так и резистентности к иммунотерапии ИКТИ.

Степень разработанности исследования

В последние годы некодирующие РНК приобрели статус центральных элементов эпигенетической регуляции генной экспрессии, а микроРНК (miRNAs) активно изучаются как ключевые регуляторы различных клеточных процессов в физиологических и патологических условиях. МикроРНК представляют собой короткие некодирующие РНК протяженностью приблизительно 22 нуклеотида, функционирующие как посттранскрипционные модуляторы генной экспрессии. Их способность подавлять трансляцию онкогенов и генов-супрессоров опухолей указывает на важную роль в процессах злокачественной трансформации. Ранее проведенные исследования продемонстрировали, что микроРНК характеризуются стабильностью в плазме и сыворотке крови, тканевой специфичностью и значительным прогностическим потенциалом в качестве клинических биомаркеров (He et al., 2020). Растущий объем данных свидетельствует о том, что экзосомальные микроРНК выступают важными регуляторами опухолевых сигнальных путей и определяющими факторами опухолевого микроокружения. Дисрегуляция микроРНК способна воздействовать на иммуногенность злокачественных новообразований и терапевтический ответ на ИКТИ, что обуславливает их перспективность в качестве прогностических молекулярно-генетических маркеров.

Цель исследования

Поиск генетических маркеров эффективности терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета при светлоклеточном почечно-клеточном раке.

Задачи

1. Провести анализ уровня экспрессии экзосомальных микроРНК (miR-126-3p, miR-144-3p, miR-885-5p, miR-625-3p, miR-28-5p, miR-508-3p, miR-149-3p, miR-424-5p, miR-92a-1-5p, miR-210-3p, miR-146a-5p, miR-218-1-3p, miR-155-3p, miR-503, miR-410, miR-200a, miR-200b, miR-200c, miR-34a-5p, miR-106-5p, miR-17-5p, miR-let-7d-5p, miR-20b-5p, miR-485-3p, miR-425-5p, miR-23b-3p, miR-122-5p, miR-93-5p, miR-652-3p, miR-191-5p, miR-20a-5p), вовлеченных в регуляцию сигнальных путей иммунного ответа, у пациентов со светлоклеточным почечно-клеточным раком до и после терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета.

2. Провести анализ взаимосвязи уровней относительной экспрессии микроРНК с ответом на терапию согласно международным критериям оценки ответа на терапию солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST 1.1.).

3. Провести анализ частот аллелей и генотипов полиморфных локусов rs2910164 и rs57095329, локализованных в регуляторной области гена *miR-146a-5p*, у пациентов с разной степенью иммуноопосредованных нежелательных явлений при терапии препаратами ИКТИ.

4. Провести функциональный анализ сигнальных путей, в регуляцию которых вовлечены выявленные дифференциально экспрессированные микроРНК.

5. Провести полногеномное бисульфитное секвенирование 8 образцов ДНК, выделенных из крови пациентов со светлоклеточным почечно-клеточным раком, демонстрирующих эффективный и не эффективный ответ на терапию препаратами ИКТИ с целью выявления дифференциально метилированных регионов генов, ассоциированных с ответом на терапию ИКТИ.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное молекулярно-генетическое исследование пациентов со светлоклеточным почечно-клеточным раком из Республики Башкортостан, которым назначена терапия ИКТИ. Собрана уникальная коллекция

86 образцов ДНК пациентов с скПКР, получавших терапию ИКТИ, а также уникальная коллекция 50 образцов плазмы пациентов до и после терапии ИКТИ. Впервые проведён анализ экспрессии экзосомальных микроРНК у пациентов до и после терапии ИКТИ. Впервые выявлены 5 микроРНК (miR-126-3p, miR-146a-5p, miR-424-5p, miR-34a-5p, miR-210-3p), демонстрирующие статистически значимые различия в уровнях экспрессии до и после терапии ИКТИ у пациентов, отвечающих на терапию согласно критериям оценки ответа на терапию солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST 1.1.). Выполнен анализ ассоциации полиморфных вариантов в регуляторной области микроРНК с риском развития тяжелых иммуноопосредованных нежелательных явлений на фоне терапии ИКТИ. Выявлено, что микроРНК с достоверно изменёнными уровнями экспрессии формируют единую регуляторную сеть, модулирующую эффективность иммунотерапии через критически важные сигнальные пути NF-κB и PI3K/AKT у пациентов с скПКР, получающих терапию ИКТИ. Также впервые было проведено полногеномное бисульфитное секвенирование образцов ДНК пациентов, отвечающих и не отвечающих на терапию ИКТИ, в ходе которого выявлены дифференциально метилированные регионы генов микроРНК, коррелирующие с результатами анализа уровней экспрессии экзосомальных микроРНК, идентифицированы ключевые сигнальные пути.

Теоретическая и практическая значимость работы

Изучена взаимосвязь между уровнем экспрессии экзосомальных микроРНК и эффективностью терапии ИКТИ, идентифицированы микроРНК, демонстрирующие статистические значимые различия в уровнях экспрессии до и после терапии ИКТИ у пациентов с скПКР, демонстрирующих ответ на терапию согласно критериям оценки ответа на терапию солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST 1.1.).

Результаты данного исследования существенно углубляют понимание генетических основ эффективности терапии ИКТИ при скПКР. Изучена взаимосвязь между профилированием экзосомальных микроРНК и наблюдаемой

эффективностью терапии ИКТИ, идентифицированы микроРНК, демонстрирующие статистические значимые различия в уровнях экспрессии до и после терапии ИКТИ у пациентов с скПКР, демонстрирующих ответ на терапию согласно критериям оценки ответа на терапию солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST 1.1.). Идентифицированы предиктивные биомаркеры, которые могут быть использованы для оценки эффективности терапии ИКТИ при скПКР в клинической практике.

Методология и методы исследования

Исследование проведено с использованием передовых методик и современного аналитического оборудования. В основе методологии лежит комплексный подход, предусматривающий интеграцию генетических, клинических и статистических данных, а также обобщение результатов ключевых отечественных и зарубежных публикаций в области онкогенетики. В работе использован широкий ассортимент современных приёмов молекулярной биологии, биохимии и вычислительных инструментов биоинформатики.

Положения, выносимые на защиту

1. Экзосомальные микроРНК miR-146a-5p, miR-34a-5p, miR-424-5p, miR-210-3p и miR-126-3p демонстрируют статистически значимые различия в уровнях экспрессии до и после терапии ИКТИ у пациентов с скПКР.
2. Повышение уровня экспрессии экзосомальных микроРНК miR-146a-5p, miR-34a-5p, miR-424-5p, miR-210-3p и понижение уровня экспрессии miR-126-3p после терапии ИКТИ достоверно коррелируют с полным ответом на терапию ИКТИ у пациентов с скПКР согласно международным критериям оценки ответа на терапию солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST 1.1.).
3. Аллель rs2910164*С полиморфного варианта гена *miR-146a-5p* ассоциирован с повышением риска развития тяжелых иммуноопосредованных нежелательных явлений на фоне терапии ИКТИ.
4. Дифференциально экспрессированные экзосомальные микроРНК miR-146a-5p, miR-34a-5p, miR-424-5p, miR-210-3p и miR-126-3p регулируют

воспалительный ответ через модуляцию ключевых звеньев NF-кВ и Р13К/АКТ-сигнальных путей, обеспечивая последующую иммуномодуляцию и усиливая эффективность иммунотерапии препаратами ИКТИ.

5. Полногеномное бисульфитное секвенирование генома выявило 1297 дифференциально метилированных регионов у пациентов, демонстрирующих полный ответ на терапию ИКТИ; 640 регионов были гиперметилированы, а 657 — гипометилированы по сравнению с пациентами, у которых отмечалось отсутствие ответа на терапию ИКТИ.

6. У пациентов с полным ответом на терапию ИКТИ наблюдается гипометилирование промоторных регионов генов *miR-146a-5p*, *miR-424-5p*, *miR-34a-5p* и *miR-210-3p* и коррелирует с повышением их уровня экспрессии, тогда как гиперметилирование промоторной области гена *miR-126-3p*, наоборот, с понижением уровня экспрессии.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность результатов подтверждается проведением исследования на репрезентативных выборках с использованием современного высокотехнологичного оборудования, применением адекватных методов и подходов молекулярно-генетического анализа и статистической обработки данных.

По результатам диссертации опубликовано 5 экспериментальных статей в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК. Основные результаты научной работы представлены в виде стеновых и устных докладов на Петербургском международном онкологическом форуме «Белые ночи» (Санкт-Петербург, 2023); 77-ой научно-практической конференции «Достижения фундаментальной, прикладной медицины и фармации» (Самарканд, 2023); Международной конференции «Генетические технологии в трансляционной биомедицине» (Томск, 2023); I Всероссийской конференции с международным участием «Персонализированная медицина и современные генетические технологии» (Уфа, 2023); 76-й Всероссийской школе-конференции молодых ученых с международным участием (Нижний Новгород, 2023); II Евразийском

конгрессе урологов (Уфа, 2023); Международном конгрессе по фундаментальной и клинической урологии и онкоурологии (Уфа, 2024); 13th Emirates International Urological Conference (Дубай, 2024).

Личный вклад автора в проведенные исследования

Формирование научной концепции диссертационного исследования, включая выбор направления работы и постановку исследовательских целей, осуществлялось автором в тесном сотрудничестве с научным руководителем к.б.н., доцентом Гилязовой Ириной Ришатовной. Автором проведено детальное изучение российских и международных научных источников по проблематике диссертации, выполнено самостоятельное написание полного текста работы и обеспечено непосредственное участие в создании материалов для научных публикаций и их подготовке к печати. Весь спектр экспериментальных исследований реализован автором лично без привлечения сторонних исполнителей. Автор проявил активную роль в процессе подготовки научных статей на основе полученных результатов исследования. В ходе выполнения диссертационной работы автор убедительно показал свою компетентность в самостоятельном планировании и проведении экспериментов, получении достоверных экспериментальных данных, их последующем анализе и грамотной научной интерпретации полученных результатов.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 11 работ, в том числе 7 в изданиях, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации, 5 из которых опубликованы в изданиях, индексируемых в международных базах Web of Science и/или Scopus.

Соответствие диссертации паспорту научной деятельности

Диссертационное исследование отвечает требованиям научной специальности 1.5.7. Генетика. Области исследования: «Персонализированный подход в терапии», «Молекулярная диагностика», «Фармакогенетика», «Онкогенетика урологических новообразований».

Структура и объем работы

Структура диссертационной работы соответствует общепринятым стандартам и содержит введение, основную часть и заключение. Основная часть представлена рядом разделов, охватывающих литературный обзор с анализом значимости исследуемой проблематики, а также описание материалов и методологии исследования, представление полученных данных и их детальный анализ. Библиографический список насчитывает 263 литературных источника. Работа представлена на 163 страницах печатного текста и включает 14 таблиц и 13 иллюстраций.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Гистология и классификация рака почки

Почечно-клеточная карцинома (ПКК) считается сложным заболеванием, характеризующимся как гетерогенная группа опухолей с различными геномными, гистологическими и клиническими характеристиками. Кроме того, другие факторы, такие как степень заболевания, проявление различных клинических фенотипов и различные реакции на лечение, делают его еще более сложным (Smith et al., 2020).

Это распространенная форма рака почки (РП), которая возникает из клеток, выстилающих маленькие трубы в почке. Он является преобладающим типом рака почки среди взрослых, составляя примерно 95% всех случаев (Bray et al., 2018). ПКК является широко распространенным раком во всем мире, является третьим по распространенности раком мочевыделительной системы и одним из наиболее часто диагностируемых и смертельно опасных видов рака во всем мире (Aweys et al., 2023; Boussios et al., 2024).

Ежегодная заболеваемость достигает более 350 000 случаев во всем мире (Padala et al., 2020). По данным Глобальной онкологической обсерватории, ПКК занимает 14-е место среди наиболее распространенных злокачественных новообразований в мире, по оценкам, в 2020 году было зарегистрировано 431 288 новых случаев (Sung et al., 2021). Из-за полового диморфизма по заболеваемости ПКК является девятым по распространенности раком среди мужчин и 14-м по распространенности среди женщин (Sung et al., 2021).

В РФ по данным 2024 года РП занимает 7-е место по распространенности, за 2024 год зарегистрированы 22105 новых случая, в частности в Республике Башкортостан диагностировано 484 новых клинических случая РП (Каприн и др., 2025).

ПКК включает в себя различные типы, которые классифицируются на основе их микроскопических характеристик. Наиболее распространенной формой ПКК

является светлоклеточная почечно-клеточная карцинома (скПКК), которая составляет примерно 75% случаев (Aweys et al., 2023; Lommen et al., 2021).

Несмотря на то, что из-за увеличения числа случаев визуализации было диагностировано на ранней стадии, ПКК по-прежнему представляет собой серьезную проблему для общественного здравоохранения, учитывая, что она характеризуется как опухоль, часто протекающая бессимптомно и с меньшими клиническими проявлениями, по сравнению с другими типами рака (Апанович и др., 2020; Huang et al., 2020). Несмотря на достижения в области визуализации и ранней диагностики, до 25–30% пациентов по-прежнему имеют прогрессирующее или метастатическое заболевание, что по-прежнему связано с плохими долгосрочными исходами выживаемости (Choueiri et al., 2018).

ПКК является высоковаскуляризованным раком, при котором примерно у 30% пациентов наблюдаются метастазы при постановке диагноза, и такой же процент пациентов демонстрирует рецидив после операции, хотя изначально у них было диагностировано клинически локализованное заболевание (Yu et al., 2014). По данным Dabestani et al., время повторения варьирует от 12,5 месяцев до 43,6 месяцев в зависимости от различных категорий риска (Dabestani et al., 2019).

1.2. Терапия скПКК

Для пациентов с локализованным заболеванием стандартом лечения остается хирургическое иссечение путем радикальной или частичной нефрэктомии, поскольку эти опухоли отличаются высокой резистентностью как к лучевой, так и к химиотерапии (Chen et al., 2023; Ljungberg et al., 2019).

Активное наблюдение с биопсией опухоли или абляцией опухоли или без нее также является вариантом для правильно отобранных пациентов. Несмотря на окончательную местную терапию, у части пациентов развивается рецидив или прогрессирующий тип ПКК с оценочной 5-летней безрецидивной выживаемостью в диапазоне от 42 до 98% (Speed et al., 2017).

1.2.1. Ограничения стандартных методов лечения

Радикальная нефрэктомия исторически служила стандартом для лечения всех локализованных почечных образований. Частичная нефрэктомия, использующая как открытый, так и роботизированный подходы, в настоящее время признана хирургическим стандартом для лечения почечных образований Т1 по системе TNM (≤ 7 см). При почечных образованиях Т2 (> 7 см и ограниченных почкой) частичная нефрэктомия является приемлемым подходом у отдельных пациентов с потенциалом сохранения функции почек (Dhanji et al., 2023). В условиях заболевания Т3, характеризующегося инвазией опухолевого процесса за пределы коркового вещества почки, частичная нефрэктомия рассматривается как стандарт для окончательного хирургического лечения. Тем не менее, в современной литературе изучалась роль частичной нефрэктомии в этих условиях, что показало приемлемые исходы у отдельных пациентов, которым была бы показана операция, сохраняющая нефрон (Dhanji et al., 2023; Yim et al., 2021).

Также доступны альтернативные варианты лечения, такие как стереотаксическая лучевая терапия тела, микроволновая абляция, криоабляция, радиочастотная абляция и активное наблюдение (Prins et al., 2017). К сожалению, адъюvantного лечения ПКК не существует. Тем не менее, исследования в этой области очень важны в связи с тем, что 5-летняя частота рецидивов для ранних стадий ПКК среднего и высокого риска составляет от 30% до 40% (Gerlinger et al., 2015).

Примерно у 40% пациентов с ПКК после хирургической резекции возникает рецидив опухоли. Пациенты с метастатической ПКК (мПКК) или те, у кого наблюдается рецидив после местной терапии, нуждаются в системном лечении (Boussios et al., 2024).

Современные системные методы лечения включают низкомолекулярные ингибиторы тирозинкиназы, цитокины и моноклональные антитела, включая

ингибиторы контрольных точек иммунитета (ИКТИ), используемые в качестве вариантов лечения первой и второй линии (Brown et al., 2023).

По данным онкологического общества, у пациентов с локализованным заболеванием пятилетняя выживаемость превышает 75%, тогда как у пациентов с мПКК она снижается до менее 15%. Плохой прогноз при прогрессирующем ПКК можно объяснить множеством факторов, главным из которых является приобретенная резистентность к целевым терапиям (Rini et al., 2008).

Несмотря на существенный прогресс в терапии прогрессирующей почечно-клеточной карциномы за последнее десятилетие, большинству пациентов не удается достичь устойчивого клинического эффекта. Исторически сложилось так, что лечение прогрессирующей ПКК основывалось на цитокиновой терапии, которая обеспечивала ограниченную эффективность и значительную токсичность (Ma et al., 2024; McDermott et al., 2013). В ряде рандомизированных исследований не выявлено преимуществ от применения адьювантных системных подходов, включая интерферон-альфа и интерлейкин-2 (Atzpodien et al., 2005), а также радиотерапии и гормональной терапии у пациентов с этим новообразованием (Rini et al., 2009).

В современных рекомендациях по лечению мПКК используется сочетание хирургического вмешательства и системной терапии (National Comprehensive Cancer Network Kidney Cancer Guidelines: [сайт]. URL: <https://www.nccn.org/home>). Актуальные протоколы лечения базируются на многолетних клинических исследованиях, в которых оценивалась эффективность различных классов терапевтических средств. Современные режимы первой линии чаще всего включают комбинации ингибиторов контрольных точек иммунитета и целенаправленных препаратов. Эти сочетания продемонстрировали преимущества по показателям общей выживаемости (ОВ) выживаемости без прогрессирования (ВБП), частоте объективного ответа (ЧОО) и частоте полного ответа (ЧПО) по сравнению с предыдущим стандартом таргетной монотерапии.

Опухоли ПКК характеризуются выраженной инфильтрацией иммунных клеток, прежде всего Т-лимфоцитов. Опираясь на эти особенности микросреды, иммунотерапия существенно продвинулась за последнее десятилетие.

Иммуногенная природа ПКК, обусловленная частой инактивацией супрессора опухолей фон Гиппеля–Линдау (*VHL*), которая приводит к патологической стабилизации фактора, индуцируемого гипоксией 2α (HIF-2α), и избыточному синтезу проангиогенных факторов, таких как фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и тромбоцитарный фактор роста (PDGF), обеспечила прочную биологическую основу для развития иммунотерапии. Молекулярные изменения, включая делеции плеча хромосомы 3р с вовлечением генов *PBRM1* и *BAP1*, не только усиливают ангиогенный потенциал и способствуют прогрессированию опухоли, но и формируют иммуносупрессивное микроокружение, обеспечивая уклонение от иммунного надзора (Hsieh et al., 2018; Tronik-Le Roux et al., 2020).

Середина 2000-х годов ознаменовалась поворотным моментом с внедрением таргетной терапии, в частности ингибиторов тирозинкиназ, ингибиторов VEGF и ингибиторов рапамицина (mTOR) у млекопитающих (D.S. Prade et al., 2023). Хотя эти препараты продлевали выживаемость без прогрессирования, наличие дополнительных мишеней обуславливает их токсичность и потенциально усиливающие противоопухолевые эффекты (Singer et al., 2013), что в итоге привело к развитию резистентности.

Внедрение ингибиторов контрольных точек иммунитета кардинально изменило терапевтические стратегии лечения различных онкологических заболеваний, включая почечно-клеточную карциному, и стало ключевым этапом в адъювантной терапии метастазирующей формы. Агенты, нацеленные на белок запрограммированной клеточной смерти-1 (PD-1), лиганд запрограммированной смерти 1 (PD-L1) и цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок 4 (CTLA-4) пересмотрели подходы к лечению пациентов (Fitzgerald et al., 2022; Rini et al., 2019).

Иммунные контрольные точки являются ключевыми регуляторами иммунной системы, предотвращающими аутоиммунные реакции. Существует множество стимулирующих или ингибирующих молекул контрольных точек, которые экспрессируются на Т-клетках, макрофагах и натуральных киллерах. Молекулы контрольных точек иммунного ответа также могут экспрессироваться опухолевыми клетками, способствуя созданию иммуносупрессивного микроокружения, которое в итоге приводит к росту опухоли (Dutta et al., 2023), а их блокада позволяет иммунной системе восстановить способность уничтожать опухолевые клетки.

Знаковые клинические исследования, такие как CheckMate 025 и CheckMate 214, продемонстрировали, что ИКТИ, применяемые как в монорежиме, так и в комбинации с другими иммунотерапевтическими или антиангиогенными агентами, значительно улучшают результаты выживаемости по сравнению с традиционными методами таргетной терапии VEGF (Motzer et al., 2018, 2020). Однако не все пациенты получают пользу от терапии. Клинические ответы на терапию ИКТИ остаются неоднородными: у значительного числа пациентов отмечается первичная резистентность или последующее прогрессирование болезни после начального ответа. Сложное переплетение опухолевой геномики, процессов ангиогенеза, иммунной сигнализации и особенностей опухолевого микроокружения (TME) отражает биологическую многогранность ПКК и подчёркивает насущную необходимость разработки прогностических биомаркеров и новых комбинированных подходов к терапии (Masson et al., 2023; Rysz et al., 2025).

В настоящее время не разработаны эффективные методы скрининга и ранней диагностики ПКК, а прогноз строится преимущественно на основании клинической стадии и метастатического статуса при низкой общей эффективности терапии. Применение опухолево-ассоциированных генетических и/или эпигенетических маркеров, может повысить выживаемость и качество жизни пациентов, а также сократить расходы здравоохранения за счёт предотвращения неэффективных терапевтических вмешательств (Outeiro-Pinho et al., 2020).

Международные критерии оценки ответа на терапию солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST) применяются для оценки эффективности противоопухолевой терапии. Резистентность расценивается при увеличении суммарного размера измеримых очагов на $\geq 20\%$, появлении новых опухолевых образований или явном прогрессировании неоценимых поражений (например, мелких узелков в легких или очагов в костях) (Therasse et al., 2000).

Разработка прогностических биомаркеров для оценки эффективности и токсичности терапии ИКТИ представляет собой приоритетное направление исследований и является критически важной задачей для совершенствования терапевтических стратегий в эру иммунотерапии. Выявление таких маркеров позволит ответить на ключевые вопросы, связанные с оптимальной продолжительностью лечения, последовательностью применения препаратов и ролью хирургической резекции остаточной опухоли.

Устойчивость к лекарственной терапии при ПКК остаётся серьёзной проблемой, внося значительный вклад в высокую смертность (Aweys et al., 2023). Существует острая необходимость в специфических биомаркерах и прогностических моделях для метастазирующей и прогрессирующей форм болезни с целью улучшения диагностики и разработки персонализированных лечебных подходов.

Хотя эти инновационные методы терапии повысили общую выживаемость и ориентированы на конкретные характеристики опухоли, метастатическая форма заболевания по-прежнему в большинстве случаев считается неизлечимой и требует непрерывного клинического наблюдения (Singer et al., 2013).

1. 2.2. Иммунотерапия ИКТИ в лечении скПКК

Понимание роли Т-клеток и ТМЕ имеет важное значение для расшифровки иммунного ответа при раке, в частности при скПКК. В нормальных физиологических условиях иммунные реакции жестко регулируются для достижения баланса между выведением патогенов и предотвращением

повреждения тканей (Wang et al., 2024). Это обеспечивается через внутренние механизмы — ингибирующие рецепторы на Т-клетках — и внешние — секрецию иммunoупрессивных цитокинов иммунными и неиммунными клетками.

ПКК характеризуется выраженной иммуногенностью и сложным ТМЕ, что критически влияет на прогрессирование заболевания и терапевтический ответ (Monjaras-Avila et al., 2023). В этом микроокружении иммунные и стромальные клетки взаимодействуют, модулируя противоопухолевый иммунитет. Способность иммунной системы распознавать и элиминировать злокачественные клетки при скПКК часто нарушается иммunoупрессивными сигналами ТМЕ (Liu et al., 2021) (Angulo et al., 2019). Отличительной чертой скПКК является инфильтрация опухоль-инфилтрирующими лимфоцитами, миелоидными супрессорными клетками, макрофагами, и различными субпопуляциями Т-клеток (Liu et al., 2021; Xu et al., 2021). Противоопухолевую защиту преимущественно осуществляют цитотоксические CD8⁺ Т-лимфоциты и макрофаги со M1-фенотипом. Стимуляция CD8⁺ Т-клеток запускается дендритными клетками, представляющими опухолевые антигены через молекулы главного комплекса гистосовместимости (МНС) наивным Т-клеткам (Chen et al., 2017). После распознавания антигена Т-клетки пролиферируют и дифференцируются в эффекторные клетки, высвобождающие перфорин и гранзимы для индукции апоптоза опухолевых клеток. Иммunoупрессивные факторы ТМЕ подавляют функцию этих эффекторных Т-клеток. Регуляторные Т-клетки тормозят их активацию и пролиферацию, а цитокины, в частности трансформирующий фактор роста бета и интерлейкин-10 способствуют уклонению от иммунитета (Cervantes-Villagrana et al., 2020).

Кроме того, метаболические стрессоры ТМЕ — гипоксия, кислый pH и дефицит питательных веществ — нарушают метаболизм и выживаемость Т-клеток (Lim et al., 2020). M2-подобные опухолеассоциированные макрофаги стимулируют ангиогенез и ремоделирование внеклеточного матрикса, а плотный матрикс и аномальная сосудистая сеть ограничивают инфильтрацию иммунных клеток. Потеря функции *VHL* приводит к накоплению факторов, индуцируемых гипоксией

(HIF), которые стимулируют экспрессию проангиогенных и иммуносупрессивных медиаторов, способствуя уклонению от иммунитета. Ключевым механизмом подавления иммунного ответа при скПКК является активация молекул иммунных контрольных точек PD-1, PD-L1 и CTLA-4, которые подавляют Т-клеточную функцию и способствуют истощению лимфоцитов (McBride et al., 2021). В то время как эти пути помогают поддерживать иммунный гомеостаз в нормальных условиях, при раке они способствуют подавлению иммунитета, ограничивая активацию и функцию Т-клеток в опухолевом участке. Взаимодействие между иммунными контрольными точками и факторами, присущими опухоли, такими как инактивация гена *VHL* и ангиогенез, подчеркивает сложность ТМЕ и ее критическую роль в формировании иммунных реакций (Fridman et al., 2017).

Способность индуцировать иммунный ответ, подтверждаемая присутствием опухоле-ассоциированных антигенов и выраженной иммунной инфильтрацией, делает скПКК перспективным объектом для терапии ИКТИ, прежде всего через блокирование оси PD-1/PD-L1 и пути CTLA-4 (Rysz et al., 2025).

PD-1 представляет собой трансмембранный гликопротеин I типа, принадлежащий к семейству CD28/CTLA-4, экспрессируемый на активированных Т-клетках, В-клетках и естественных киллерах(Angulo, 2019; Rezayi et al., 2023)и транскрибуемый геном *PDCD1*, расположенным на хромосоме 2 (Dai et al., 2014; Patsoukis et al., 2020).

Сигнальный путь PD-1/PD-L1 является ключевым регулятором иммунных реакций, в условиях воспаления он подавляет активность Т-клеток в периферических тканях, предотвращая повреждение здоровых структур. Тем не менее в ТМЕ этот процесс вызывает дисфункцию Т-лимфоцитов и ослабление противоопухолевого ответа, снижая эффективность цитотоксических Т-клеток в уничтожении раковых клеток(Angulo et al., 2019).

PD-L1 перманентно экспрессируется на минимальном уровне в миелоидных клетках (дendритных клетках, макрофагах и миелоидных супрессорных клетках), а

его выработка может усиливаться в других клеточных популяциях под действием провоспалительных стимулов. В физиологических условиях эти белки семейства контрольных точек B7 практически не обнаруживаются на эпителиальных клетках почек (Angulo et al., 2019; Zabeti et al., 2024).

Связывание PD-1 с PD-L1 инициирует каскад тормозных сигналов внутри Т-клетки, что приводит к подавлению активности рецепторов Т-клеток. Это приводит к уменьшению пролиферации Т-клеток, снижению секреции цитокинов и, в итоге, к индукции истощения Т-клеток, состояния, при котором Т-клетки теряют свою способность эффективно уничтожать опухолевые клетки (Pardoll, 2012).

Поскольку сигнальный путь PD-L1/PD-1 играет важную роль в уклонении опухоли от иммунного ответа, регуляция экспрессии PD-L1 открывает возможности для модуляции TME. Подавляя PD-L1, можно восстановить активацию Т-клеток и усилить противоопухолевый иммунитет (Tang et al., 2017).

При связывании лиганда с PD-1 фосфорилируется внутриклеточный тирозин рецептора, что привлекает SHP1 и SHP2 и ведет к дефосфорилированию CD3 ζ и ZAP70 — ключевых молекул TCR-сигнального каскада. Это подавляет PI3K/AKT-путь, активирует PTEN и тормозит RAS-ERK1/2, что вместе уменьшает пролиферацию Т-клеток и секрецию интерлейкина-2, способствуя их апоптозу (Wartewig et al., 2017).

При ПКК опухоли с PD-1-положительными опухоль-инфилтратирующими лимфоцитами коррелирует с более злокачественными характеристиками: увеличенным размером опухоли, выраженной ядерной атипиею, прогрессом метастазирования по системе TNM, наличием коагуляционного некроза и саркоматоидной дифференцировкой по сравнению с опухолями без PD-1-положительными опухоль-инфилтратирующими лимфоцитами (Thompson et al., 2007).

CTLA-4 является ингибирующим рецептором, который преимущественно экспрессируется на активированных и регуляторных Т-клетках (Makhov и др.

2018). В лимфоидных тканях он действует на начальном этапе иммунного ответа, регулируя запуск активации Т-клеток. Конкурируя с CD28 за связывание с иммунорегуляторными лигандами B7 (CD80 и CD86) на антигенпрезентирующих клетках, CTLA-4 снижает костимулирующие сигналы, необходимые для полной активации Т-клеток. Таким образом, он уравновешивает стимуляцию CD28, поддерживает иммунную толерантность и предотвращает развитие аутоиммунных реакций (Walunas, 1994). Опухоли используют этот механизм, усиливая экспрессию CTLA-4 или привлекая Т-регуляторные клетки, экспрессирующие CTLA-4 для подавления противоопухолевого иммунитета.

Ингибиторы PD-1, которые являются моноклональными антителами, блокируют receptor PD-1 на Т-клетках. Взаимодействие PD-1 со своими лигандами PD-L1 или PD-L2 на опухолевых или иммунных клетках опосредует подавление активности Т-клеток и приводит к их истощению. Блокада этого взаимодействия восстанавливает пролиферацию Т-клеток, секрецию цитокинов и цитотоксическую способность, тем самым увеличивая элиминацию опухоли (Topalian et al., 2012).

Ингибиторы PD-L1, наоборот, препятствуют взаимодействию PD-L1 с receptorом PD-1 на Т-лимфоцитах. Блокируя этот контакт, они предотвращают угнетение и истощение Т-клеток, что в итоге усиливает их противоопухолевую активность (Duan et l., 2020).

Ингибиторы CTLA-4, напротив, усиливают иммунный ответ на начальных этапах, блокируя конкуренцию CTLA-4 с костимулятором CD28 за связывание с лигандами B7 (CD80 и CD86) на антигенпрезентирующих клетках (Gaynor et al., 2022). Блокада CTLA-4 усиливает прайминг и расширение клонов Т-клеток в лимфоидных органах, что увеличивает число эффекторных лимфоцитов, способных инфильтрировать опухоль и осуществлять противоопухолевые действия (Gaynor et al., 2022).

Механизмы уклонения от иммунитета и мишени ИКТИ представлены на рисунке 1.

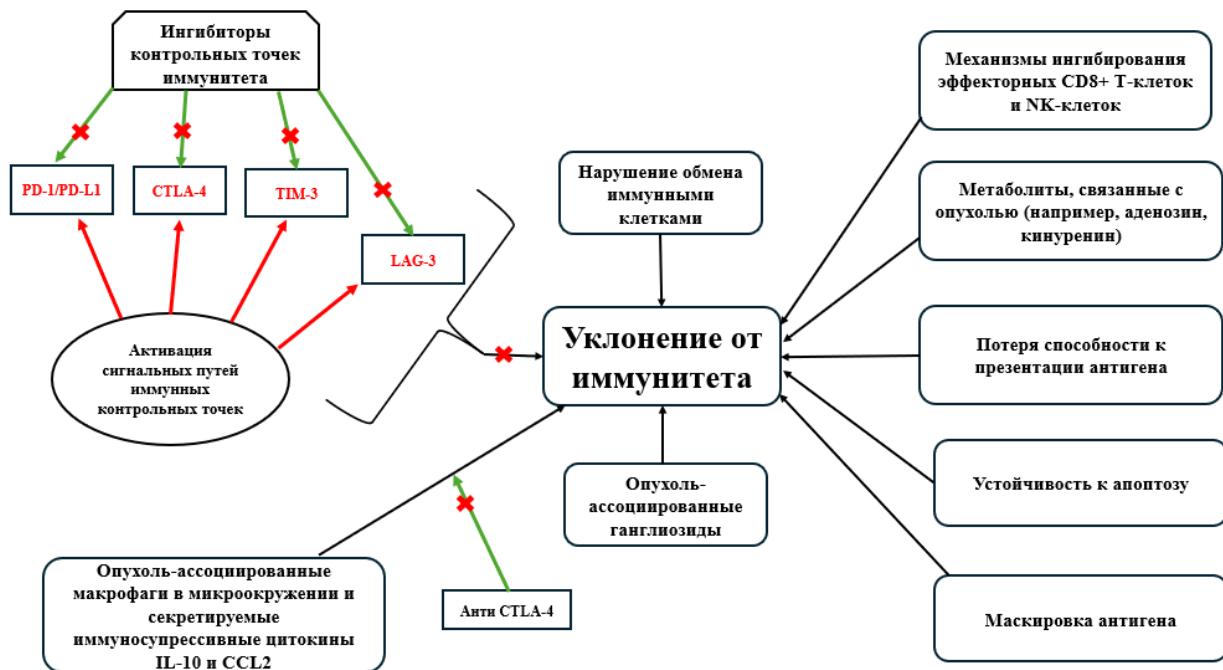


Рисунок 1 – Механизмы уклонения от иммунитета и мишень ИКТИ

1.2.3. Проблема неоднородности ответа на терапию

1.2.3.1. Развитие резистентности

Резистентность к ингибиторам контрольных точек возникает из-за сложных и динамических взаимодействий иммунной системы с раковыми клетками. В ее формировании участвуют разнообразные пациент-специфичные факторы, особенности ТМЕ и активация онкогенных сигнальных путей. По механизму развития резистентность к иммунотерапии разделяют на две основные категории:

1. Первичная резистентность, при которой пациенты не демонстрируют клинического ответа на иммунотерапию и сразу отмечают прогрессирование заболевания;
2. Приобретенная резистентность, при которой пациенты первоначально отвечают на лечение, однако впоследствии развивается прогрессирование заболевания.

Если лечение оказывается безрезультатным с первой попытки, опухоль классифицируется как первично резистентная из-за наличия нечувствительных клеток до начала лечения вследствие генетически обусловленной устойчивости или эволюционного клonalного отбора (Makhov et al., 2018).

Когда после первоначальной регрессии опухолевые клетки возобновляют пролиферацию во время терапии, речь идёт о приобретённой резистентности. Она может развиваться либо во время приёма препарата, либо проявляться в виде прогрессирования заболевания после длительного перерыва в лечении, вызванного иммуноопосредованными побочными эффектами («потеря ответа»). Приобретённая резистентность обусловлена активацией альтернативных проангиогенных путей, факторами TME, усилением инвазивности и метастазирования, лизосомальной секвестрацией, однонуклеотидными полиморфизмами и регуляторными микроРНК (Ishibashi et al., 2017). Сроки её развития остаются неустановленными (Fares и др. 2019). Высокая мутационная нагрузка опухоли и обилие неоантителен ассоциированы с более устойчивым ответом на ИКТИ (Rizvi et al., 2018). Резистентность может возникать на любом этапе действия ИКТИ: от недостатка продукции или нарушения функции противоопухолевых Т-клеток до отсутствия формирования Т-клеточной памяти. В её развитии участвуют как пациент-специфичные факторы, так и компоненты опухолевого микроокружения (TME), онкогенные сигнальные пути и молекулы иммунного контроля.

Известно, что нарушение презентации антигена способствует резистентности к терапии ИКТИ. Утрата молекул МНС приводит к иммунному уклонению и считается механизмом приобретённой устойчивости. Дефект B2-микроглобулина нарушает транспорт МНС-I на поверхность клетки, а селективное подавление МНС-I ассоциируется с резистентностью к ИКТИ (Rooney et al., 2015).

Было показано, что сигнальный путь МАРК играет ключевую роль в уклонении от иммунного ответа. Гиперактивация МАРК нарушает рекрутование и функцию Т-клеток, способствуя росту опухоли за счёт усиления пролиферации,

снижения апоптоза и повышения подвижности клеток (Dhillon et al., 2007). Было показано, что ингибиторы МАРК усиливают цитотоксичность через активацию интерферон-гамма-опосредованных сигналов, повышение экспрессии МНС-I, инфильтрацию лимфоцитов в опухоль и повышение уровня PD-L1 (Loi et al., 2016).

Путь Wnt/β-катенина сверхэкспрессируется при различных опухолях. Он обеспечивает поддержание раковых стволовых клеток, а также способствует метастазированию и модулирует иммунный ответ (Zhan et al., 2017). Spranger et al. продемонстрировали, что его активация ассоциируется с резистентностью к анти-PD-L1 и анти-CTLA-4-терапии за счёт исключения Т-клеток из опухолевого микроокружения и утраты Т-клеточной геномной сигнатуры (Spranger, et al., 2015). Утрата функции PTEN приводит к повышению уровня VEGF и активации PI3K сигнального пути, стимулируя онкогенез. Кроме того, дефицит PTEN вызывает увеличение секреции иммуносупрессивных цитокинов, уменьшение инфильтрации цитотоксических Т-лимфоцитов и ухудшение ответа на ингибиторы PD-1 (Peng et al., 2016).

Поскольку ПКК характеризуется высокой васкуляризацией, повышенная потребность в питательных веществах при недостаточном их поступлении вызывает гипоксию, которая способствует формированию иммуносупрессивного микроокружения и прогрессированию опухоли. Гипоксия активирует гены, ответственные за ангиогенез и пролиферацию клеток, привлекает регуляторные Т-лимфоциты и миелоидные супрессорные клетки, а также усиливает поляризацию макрофагов в фенотип M2, что подавляет выработку и функцию CD8⁺ Т-клеток (Sormendi et al., 2018). Кроме того, индуцированные гипоксией HIF-1 и HIF-2 усиливают экспрессию ингибирующих контрольных точек через стимуляцию продукции VEGF, усложняя TME и способствуя резистентности к иммунотерапии (Khan et al., 2018).

1.2.3.2. Развитие иммуноопосредованных нежелательных явлений

Доказанная противораковая эффективность ИКТИ привела к их широкому применению в онкологии, что сопровождается всё большим числом побочных эффектов. Эти явления по характеру токсичности отличаются от тех, что наблюдаются при классической химиотерапии или таргетной терапии (Helissey et al., 2016). Поскольку ИКТИ активируют иммунитет, они вызывают широкий спектр иммунных нежелательных реакций — от локальных воспалений до аутоиммунных осложнений (Esfahani et al., 2020; Postow et al., 2018).

Иммуноопосредованные нежелательные явления (иоНЯ) представляют собой класс специфических для ИКТИ побочных эффектов, обусловленные активацией Т-клеток (Postow et al., 2018). Эпидемиология нежелательных явлений на фоне терапии ИКТИ у пациентов с скПКК четко не определена.

ИоНЯ могут быть результатом изменений в механизмах иммунной системы, в частности, потери аутоиммунной толерантности или повышения чувствительности к антигену, что в итоге приводит к аутоиммальным реакциям. Повреждение здоровых тканей происходит из-за неспецифической реакции гиперактивации Т-клеток, вызывающей перекрестную реакцию с нормальными тканями. Это приводит к гиперактивации цитокинов CD4 Т-хелперов и аномальной миграции цитолитических CD8 Т-клеток. ИКТИ расширяют разнообразие Т-клеточного репертуара для борьбы с опухолью, но при этом снижают собственную толерантность, повреждая здоровые органы. Побочные эффекты на фоне терапии оказывают значительное влияние на многие органы и системы органов, включая желудочно-кишечную систему, кожу, печень, железы внутренней секреции и миокард (Postow et al., 2018; Rajha et al., 2020).

В одном исследовании частота развития иоНЯ при ИКТИ у пациентов с мПКК оценивалась в диапазоне от 15% до 90%. При этом лишь у 0,5–13% больных осложнения требовали прекращения терапии, поскольку большинство реакций носили несерьёзный характер (Abou-Alaiwi et al., 2020).

Частота и тяжесть нежелательных явлений зависят от класса ИКТИ. Побочные эффекты, наблюдаемые при использовании анти-PD-1 и PD-L1 препаратов, протекают в более лёгкой форме и встречаются реже, чем у анти-CTLA-4

препаратов. По сравнению с монотерапией, комбинированная терапия анти-CTLA-4 и анти-PD-1 увеличивает риск развития иоНЯ (Perazella et al., 2020; Rambhia et al., 2021; Sprangers et al., 2022), например, комбинированная терапия ипилимумабом и ниволумабом имеет самую высокую частоту иоНЯ любой степени (93,6%) и степени 3 или 4 (50%) (Rambhia et al., 2021). При монотерапии ниволумабом иоНЯ, такие как сыпь и диарея, развиваются у 10% и 12% больных с прогрессирующим ПКК, соответственно; в исследовании CheckMate 214 эти показатели составили 22% и 27% (Motzer et al., 2015, 2018).

Метаанализ данных 23 761 пациента с онкопатологией, получавших ИКТИ, связанные с лечением иоНЯ любой степени регистрировались у 45–83% больных, в то время как тяжёлые осложнения (3–4 степени) возникали у 28% пациентов (Song et al., 2020).

Обзор Ornstein и соавт. показал, что у пациентов с метастатическим ПКК иоНЯ встречаются в 79,9% случаев любой степени и в 20,9% случаев тяжёлых реакций (3–4 степени). Наибольшую частоту иоНЯ любой тяжести (93,6%) и 3–4 степени (50%) отмечали при комбинированной терапии ИКТИ. Среди всех ИКТИ дерматологические побочные эффекты (30,9%) и печёночные нарушения (8,2%) были самыми распространёнными реакциями любой степени и тяжёлой степени соответственно (Ornstein et al., 2017). В другом систематическом обзоре у пациентов с мПКК чаще всего регистрировали дерматологические (15,6%), желудочно-кишечные (14,%) и эндокринные (11%) нежелательные явления (Das , 2019; Nigro et al., 2020).

ИоНЯ обычно развиваются в течение первых трёх и четырёх месяцев после начала терапии, но в тоже время описаны случаи более позднего начала после продолжительного лечения и более раннего манифестиования при комбинированном использовании ИКТИ (Nigro et al., 2020).

Обобщенные иоНЯ, ассоциированные с использованием ИКТИ, и их частота представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Иммуноопосредованные нежелательные явления, возникающие при терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета

Тип иммуноопосредованных нежелательных явлений	Токсичность любой степени (% пациентов)	Токсичность 3-4 степени (% пациентов)
Дermатологические (сыпь, зуд, псориаз, витилиго, синдром Стивенса-Джонсона)	13-50	< 3
Желудочно-кишечный (диарея, колит, илеит, панкреатит)	16-54	1-11
Печень (гепатит)	5-10	1-2
Почечные (гломерулонефрит, канальцевый ацидоз, изменения электролитов)	1-29	2
Эндокринные (гипер- или гипотиреоз, гипофизит, надпочечниковая недостаточность, сахарный диабет)	5-21	0
Респираторные (пневмонит, плеврит, саркоидоподобные гранулематозы)	20-30	1-9
Сердечно-сосудистые (миокардит, перикардит, васкулит)	< 1	0
Неврологические (невропатия, миелопатия, менингит, энцефалит, миастения)	1-4	0
Глаз (конъюктивит, склерит, эписклерит, блефарит, ретинит)	< 1	0
Кровь (гемолитическая анемия, тромбоцитопения, нейтропения)	< 1	0

Ревматические полимиалгия, псориатический артрит, дерматомиозит, миозит)	(ревматическая	2-12	< 1
--	----------------	------	-----

Наиболее распространенным иоНЯ, затрагивающими почечную систему и зарегистрированным в отчетах Управления по контролю за продуктами и лекарствами США, является острое повреждение почек, ассоциированное с применением ИКТИ (Ma et al., 2024; Seethapathy et al., 2020; Sorah et al., 2021). Вероятно, это объясняется тем, что при ПКК в почках наблюдается выраженная инфильтрация иммунных клеток, которую ИКТИ способны усилить, усугубляя неблагоприятное иммунное воздействие на орган. Хотя острое повреждение почек на фоне ИКТИ встречается редко, его риск возрастает при комбинированных схемах (Wanchoo et al., 2017; Wang et al., 2017).

Несмотря на дискомфорт, вызванный иоНЯ, ряд исследований показал связь их развития с улучшением клинического прогноза при мПКК. Elias et al. и Verzoni et al. (Verzoni et al., 2019) выявили, что возникновение иоНЯ ассоциируется с увеличением ОВ. Более высокая частота и степень тяжести иоНЯ также коррелируют со значительно лучшей ВБП заболевания (Ma et al., 2021).

На основании клинической оценки ИКТИ могут быть повторно введены пациентам, продемонстрировавшим иоНЯ на фоне терапии (Simonaggio et al., 2019). Для изучения безопасности и эффективности повторного введения ИКТИ у пациентов с мПКК Alaiwi et al. провели ретроспективное многоцентровое исследование. Результаты продемонстрировали, что при повторном применении ИКТИ пациентам требовалось меньше кортикоидов для лечения вторичных иоНЯ. Частота возникновения новых или рецидивирующих иоНЯ составила 50%. Кроме того, у пациентов с более длительным промежутком до появления первых иоНЯ вторичные реакции протекали в более легкой форме(Alaiwi et al., 2020).

1.2.4. Необходимость поиска предиктивных маркеров для персонализированного подхода

Чтобы наилучшим образом использовать новые лекарства и ассоциации, а также предложить новые терапевтические последовательности, требуется более глубокое знание не только данных, полученных в ходе крупных клинических испытаний, но и фундаментальной биологии, сложности вовлеченных молекулярных путей, иммунологии опухолей и методологических проблем, связанных как с новыми критериями ответа, так и с новыми конечными точками.

Биомаркеры могут невероятно изменить подход к диагностике скПКК и обеспечить экономически эффективный скрининг пациентов с высоким риском. Они также играют потенциальную роль в выявлении агрессивных видов рака, определении возможности рецидива после операции с минимальной визуализацией и, таким образом, обеспечении целевой терапии для пациентов с метастатическим скПКК (Gupta et al., 2023).

Стратификация риска и персонализированный выбор лечения приобретают все большее значение по мере развития терапевтического ландшафта (Rysz et al., 2025).

Для оценки эффективности терапии ИКТИ были предложены различные биомаркеры, включая экспрессию PD-L1 в опухолевых клетках, микросателлитную нестабильность и опухолевую нагрузку, которая учитывает количество соматических мутаций, таких как однонуклеотидные полиморфизмы и вариации числа копий на миллион оснований. Дополнительно изучаются и другие биомаркеры, например, оценка пропорций опухолевых клеток (Tumor Proportion Score, TPS), отражающий уровень экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках (Ulas и др. 2023), сигнатура TIDE, оценивающая иммунную дисфункцию и исключение опухоли на основе количества цитотоксических Т-лимфоцитов, и Immunoscore, основанный на плотности общего и цитотоксического Т-клеточного инфильтрата (Jiang et al., 2018) . Однако применимость этих биомаркеров для

персонализированного подбора терапии ограничена. Некоторые пациенты с низкой экспрессией PD-L1 всё же демонстрировали положительный ответ на ИКТИ (Grenda et al., 2019). Большинство описанных выше моделей инфильтрации иммунных клеток первоначально основывались на обнаружении иммунных клеток в инвазивном крае или внутри опухоли. Однако, в некоторых случаях биопсия опухоли невозможна. Более того, в некоторых видах рака, в частности в опухолях и их метастазах, корреляция этих биомаркеров с ответом на ИКТИ не была полностью выяснена (Lei et al., 2021; McKean et al., 2020).

1.3. Потенциальные предикторы эффективности иммунотерапии

В дополнение к особенностям самой опухоли компоненты иммунитета хозяина считаются ключевыми факторами, определяющими ответ на иммунотерапию ИКТИ. Предполагается, что микроокружение самой опухоли и человеческий лейкоцитарный антиген играют значимую роль в реализации противоопухолевого действия данной терапии (Chowell et al., 2018, 2019). Кроме того, генетические вариации, представленные полиморфными вариантами генов, влияют на эффективность ИКТИ через механизмы иммунного надзора, включая ось PD-1/PD-L1, что обуславливает индивидуальные различия в распространённости и особенностях опухоли. (Shiota et al., 2023).

1.3.1. Генетические маркеры эффективности терапии

Существует множество данных, указывающих на то, что вариабельность фармакодинамики, включая ответ на терапию и развитие токсических реакций при традиционной противораковой терапии связана с индивидуальными особенностями пациентов и изучается в рамках фармакогенетики(Ciccolini et al., 2015; Hertz et al., 2013). В настоящее время большинство исследований, направленных на прогнозирование эффективности ИКТИ, сосредоточены на иммунном фенотипе опухоли и соматических геномных изменениях, тогда как влияние генетики зародышевой линии хозяина на ответ и токсичность остаётся малоизученным (Гилязова и др.,2022). Поэтому изучение этих факторов может

стать перспективным подходом для предсказания как эффективности терапии, так и связанных с ней побочных эффектов.

1.3.1.1. Герминальные мутации, полиморфизмы

Известно, что изменения в генах системы репарации и контроля клеточного цикла (DDR), ассоциированы с повышенной эффективностью терапии ИКТИ (Das et al., 2022; Samstein et al., 2020; Sharma et al., 2020). Учитывая ключевую роль молекул человеческого лейкоцитарного антигена в противоопухолевом иммунитете и данные о связи между разнообразием аллелей человеческих лейкоцитарных антигенов зародышевой линии и ответом на ИКТИ, было обнаружено, что более повышенное разнообразие человеческих лейкоцитарных антигенов связано с улучшением терапии у пациентов с разными солидными опухолями, получавших анти-CTLA-4 или анти-PD-1/PD-L1 препараты в монотерапии или комбинации (Chowell et al., 2018, 2019). Эти наблюдения привели к предположению, что большее разнообразие аллелей человеческих лейкоцитарных антигенов у пациента увеличивает количество представляемых опухолевых антигенов, что способствует более широкой и эффективной противоопухолевой иммунной реакции (Chhibber et al. 2022).

Влияние потери функции гена-супрессора опухолей ингибитора циклин-зависимой киназы 2А *CDKN2A*, локализованного на хромосоме 9p21.3, на ответ и выживаемость пациентов, проходивших лечение ИКТИ, исследовали Adib et al. (Adib et al., 2021) в двух крупных независимых когортах. В обоих исследованиях генетические изменения в гене *CDKN2A* ассоциировались с плохим ответом на терапию ИКТИ и сниженной выживаемостью у пациентов с уротелиальной карциномой, тогда как такой связи у других типов рака, включая ПКК, выявлено не было. Потеря функции этого гена часто встречается при скПКК. Однако несмотря на то, что потеря хромосомы 9p21 связана с более низкой выживаемостью пациентов, потеря гетерозиготности 9p21, как показали Baietti et al. (Baietti et al., 2021), не приводит к снижению экспрессии *CDKN2A*, что предполагает альтернативные механизмы 9p-опосредованного онкогенеза.

Изменения гена *PBRM1* связаны с скПКК. Это вторая по частоте мутация в с после инактивации *VHL*. Белок PBRM1 является субъединицей хроматина, ремоделирующего АТФ-зависимый PBAF, необходимый для лиганд-зависимой активации транскрипции рецепторами ядерных гормонов; он может действовать как супрессор опухолей, например, при скПКК, так и как онкоген, например, при раке предстательной железы (Liu et al., 2023).

В своем исследовании Miao et al.(Miao et al., 2018) провели полноэкзонное секвенирование метастатической скПКК у 35 пациентов с целью выявления геномных изменений, которые могут коррелировать с ответом на терапию ИКТИ. Был выявлен положительный клинический эффект у пациентов с мутациями в гене *PBRM1*, сопровождающимися потерей функции, и подтвердили полученные результаты на отдельной когорте из 63 пациентов с метастатической скПКК, получавших терапию ИКТИ, предложив PBRM1 как потенциальный биомаркер ответа на ИКТИ в этой популяции. Позже Braun et al.(Braun et al., 2019) исследовали связь мутаций в гене *PBRM1* с клинической эффективностью ИКТИ в другой независимой когорте из 382 пациентов со скПКК. В их исследовании мутации PBRM1 были обнаружены у 29% (55 из 189) пациентов, получавших ниволумаб, и у 23% (45 из 193) пациентов, лечившихся эверолимусом, таким образом подтвердив результаты Miao et al.(Miao et al.,2018).

Белок PBRM1 является ключевой составляющей полибромассоциированного комплекса BAF, участвующего в ремоделировании хроматина комплекса SWI/SNF (SWItch/Sucrose Non-Fermentable). Инактивирующие мутации в этом комплексе встречаются часто при различных типах рака. Недавнее исследование Vano et al. (Vano et al., 2020) охватило 324 пациента, получавших ниволумаб в ходе фазы II исследования NIVOREN. У пациентов с потерей PBRM1 наблюдалась лучшая ОВ — 83,7% через 12 месяцев против 74% у пациентов без потери PBRM1. Потеря PBRM1 была также связана с более высокой экспрессией PD-1, а также с увеличенной плотностью макрофагов и CD8⁺ Т-клеток. Тем не менее, наблюдаются противоречивые результаты. В исследовании II фазы IMmotion 150 мутации

PBRM1 коррелировали с улучшением ВБП у пациентов, получавших сунитиниб (McDermott et al., 2018).

AXL относится к семейству рецепторных тирозинкиназ и регулирует процессы пролиферации, выживания, миграции и неоангиогенеза клеток опухоли, а также их взаимодействие с микроокружением (Schoumacher, 2017). Многочисленные исследования демонстрируют связь AXL с неблагоприятным прогнозом при различных типах рака, включая ПКК, а также с развитием терапевтической устойчивости (Schoumacher, 2017). Кроме того, у пациентов с скПКК, получавших ИКТИ, проявления AXL ассоциированы с ухудшением клинического исхода (Landolt et al., 2017). В своем недавнем исследовании Terry et al. (Terry et al., 2021) продемонстрировали, что высокий уровень экспрессии AXL в опухолевых клетках скПКК коррелирует с пониженным ответом на анти-PD-1 терапию и низким уровнем ВБП. Также было выявлено тесное сопряжение экспрессии AXL с PD-L1, особенно в опухолях с инактивацией VHL. Пациенты с одновременной высокой экспрессией PD-L1 и AXL характеризовались худшим показателем ОВ, что позволяет рассматривать AXL как биомаркер резистентности к анти-PD-1 терапии.

1.3.1.2. Экспрессия PD-L1

В ряде исследований экспрессия PD-L1 на опухолевых клетках коррелировала с более высокой стадией болезни и худшим ответом на ИКТИ (Choueiri et al., 2015; Shin et al., 2015; Flaifel et al., 2019). Кроме того, метаанализ, включающий более 1300 пациентов, показал, что повышенная экспрессия PD-L1 коррелирует с высоким смертельным исходом (Iacovelli et al., 2016). Несмотря на это, ряд исследований не выявил значимой корреляции между уровнем экспрессии PD-L1 и ответом на ИКТИ (Brahmer et al., 2015; Carbone et al., 2017; Hanna et al., 2018), при этом пациенты с отрицательным статусом PD-L1 также демонстрировали клинический ответ на терапию ИКТИ (Wu et al., 2019). Прогностическая роль PD-L1 в контексте ответа на терапию ИКТИ остаётся противоречивой, а данные клинических исследований не дают однозначного

вывода (Motzer et al., 2015, 2018, 2019). В исследовании CheckMate 025 экспрессия PD-L1 ассоциировалась с более низкой выживаемостью независимо от терапии, но не влияя на ответ на ниволумаб (Motzer et al., 2015). В исследовании CheckMate 214 было выявлено, что пациенты с уровнем экспрессии $\text{PD-L1} \geq 1\%$ демонстрировали более высокие показатели ВБП при комбинированной терапии ИКТИ по сравнению с сунитинибом, тогда как при $\text{PD-L1} < 1\%$ такого преимущества отсутствовало; при этом показатели ОВ и ЧО всё же были выше в группе ИКТИ независимо от уровня PD-L1 (Motzer et al., 2018). В исследованиях JAVELIN Renal 101 и KEYNOTE-426 комбинации ИКТИ подтвердили преимущество над сунитинибом независимо от уровня экспрессии PD-L1 (Choueiri et al., 2020; Powles et al., 2020).

Вышеупомянутые результаты свидетельствуют о том, уровень экспрессии PD-L1 при мПКК не в полной мере отражает чувствительность опухоли к терапии ИКТИ; её прогностическая ценность остаётся неясной и нуждается в дальнейшем исследовании. Кроме того, на оценку PD-L1 существенно влияют методологические особенности анализа и внутритканевая гетерогенность опухоли (Patelet et al., 2015). Применяемые методы иммуногистохимии отличаются высокой вариабельностью в зависимости от используемой техники, а системы оценки не унифицированы для разных типов клеток-мишеней — опухолевых, иммунных, инфильтрирующих строму, или их комбинации (Kluger et al., 2017; Zhu et al., 2018). Также, экспрессия PD-L1 носит динамичный характер и меняется в зависимости от клинического анамнеза и проводимой терапии. При её анализе необходимо учитывать внутритканевую гетерогенность и различия в уровне экспрессии между первичной опухолью и метастазами, что может объяснять положительные ответы на ИКТИ при отсутствии PD-L1 в образцах из первичного очага (Jilaveanu et al., 2014).

1.3.2. Эпигенетические маркеры эффективности

Поскольку предыдущие результаты показали, что эпигенетические модификации являются ключевой особенностью ПКК (Joosten et al., 2018), исследование эпигенетического перепрограммирования, в частности, микроРНК-

опосредованной регуляции генов-супрессоров опухолей, может обеспечить мониторинг динамических изменений в реальном времени в процессе развития и терапии рака, а также позволить отслеживать сложные взаимодействия между опухолевыми клетками и иммунной системой (Badalamenti et al., 2019).

Эпигенетические изменения индуцируют обратимые и наследуемые изменения, приводящие к вариации экспрессии онкогенов и генов-супрессоров опухолей без изменения самой последовательности ДНК (Sharma et al., 2010). При ПКК наблюдается сложное сочетание генетической и эпигенетической регуляции, приводящее к перестройке сигнальных путей пролиферации и прогрессии опухоли. Накопленные в раковых клетках эпигенетические изменения модулируют экспрессию генов и могут способствовать уклонению от иммунного контроля, в том числе через влияние на молекулы контрольных точек, такие как PD-L1 (Li et al., 2019).

В резистентности к ингибиторам иммунных контрольных точек задействованы различные эпигенетические механизмы, прежде всего модификации гистонов и структуры хроматина, изменения ДНК-метилирования и вариации уровня микроРНК (Dawson et al., 2012).

1.3.2.1. Экзосомальные микроРНК

В последние годы жидкостная биопсия привлекает всё больше внимания, и данные, полученные в результате исследований, указывают на то, что микроРНК являются перспективными биомаркерами эффективности иммунотерапии благодаря своей роли в регуляции противоопухолевого иммунного ответа (Grimaldi et al., 2018; Mihnea et al., 2018). Этот класс малых коротких одноцепочечных некодирующих РНК длиной 18–25 нуклеотидов (Grimaldi et al., 2018), регулирующие экспрессию генов через механизм РНК-интерференции (Esteller, 2008). За счёт спаривания с целевой матричной РНК (мРНК) они могут подавлять её трансляцию или вызывать её деградацию (Huntzinger et al., 2011). В последние годы некодирующие РНК (нРНК) привлекают значительное внимание

из-за своей способности регулировать множество биологических процессов через различные молекулярные пути. В ряде исследований показано, что эти нРНК модулируют действие иммунных контрольных точек (Liu et al., 2020; Gong et al., 2021; Saadi et al., 2022) и участвуют в регуляции ответа на иммунотерапию, выступая, например, в роли конкурентных эндогенных РНК для микроРНК и формируя ось «нРНК–микроРНК–мРНК» (Zhang et al., 2021). В человеческом геноме микроРНК кодируются как отдельными генами, так и кластерами, включающими сотни различных микроРНК-генов (Treiber et al., 2019).

Вначале микроРНК транскрибируются в виде полицистронных предшественников, которые затем обрабатываются до отдельных зрелых молекул. Чаще всего они кодируются инtronами как некодирующих, так и кодирующих генов, но иногда — экзонными участками (Zabeti et al., 2024). Под действием РНК-полимеразы II формируется первичная микроРНК (pri-miRNA), позже в ядре комплекс Дроши разрезает её до предшественника (pre-miRNA). После переноса в цитоплазму pre-miRNA подвергается обработке комплексом Дайсера, который создаёт дуплекс микроРНК. Затем одна из цепей, направляющая, включается в RISC-комплекс, а пассажирская цепь разгружается и быстро деградирует (O'Brien et al., 2018).

Эти молекулы играют важную роль в контроле жизненно важных клеточных процессов, таких как клеточный цикл, дифференцировка и смерть (Mendell et al., 2012). Их роль как регуляторов экспрессии генов хорошо изучена и критична для многих аспектов опухолевой биологии (Ling et al., 2013; Si et al., 2019).

Внеклеточные везикулы в опухолевом микроокружении признаются ключевыми участниками канцерогенеза, ангиогенеза, формирования преметастатических ниш, нарушений иммунного ответа и распространения лекарственной устойчивости, что усложняет природу ТМЕ. К ним относятся экзосомы, микровезикулы и апоптотические тельца — гетерогенная группа везикул, секрецируемых клетками. Экзосомы (30–150 нм) формируются при впячивании мембранны в мультивезикулярных телаах и содержат белки, мРНК,

микроРНК и сигнальные молекулы (Boussios et al., 2023). По мере развития исследований экзосом при скПКК их потенциал в качестве молекулярных маркеров для диагностики становится всё более очевидным: вместе с циркулирующими опухолевыми клетками и фрагментами ДНК в жидкостях организма они предоставляют богатую информацию о составе опухоли. Двухслойная мембрана экзосом защищает содержимое от РНКаз и протеаз, что делает их надёжными носителями биомаркеров. Экзосомы способны инкапсулировать и передавать мРНК в клетки-реципиенты, изменяя их функцию и фенотип (Boussios et al., 2023). Grange et al (Grange et al., 2011) обнаружили в микровезикулах специфические мРНК и белки, ассоциированные с прогрессией опухоли и метастазированием, включая VEGF, фактор роста фибробластов-2, ангиопоэтин-1, эфрин-А3 и металлопротеиназы. Известно, что экзосомальные микроРНК демонстрируют различные паттерны экспрессии у пациентов с ПКК по сравнению со здоровыми донорами (Boussios et al., 2024)

Понимание механизмов лекарственной устойчивости, опосредованной внеклеточными везикулами, имеет решающее значение, так как это открывает путь к разработке более эффективных методов терапии и новым прогностическим биомаркерам. Несколько коллективов изучали роль экзосом в иммунотерапии рака и их перспективы в качестве терапевтических агентов.

Как было выявлено в исследованиях у пациентов с различными опухолями, микроРНК высвобождаются в биологические жидкости, такие как цельная кровь, сыворотка, плазма и моча опухолевыми клетками, что делает их потенциальными неинвазивными диагностическими, прогностическими биомаркерами (Incorvaia et al., 2020). Они устойчиво циркулируют в разных формах: в комплексе с белками, свободно или внутри внеклеточных везикул. Изменения их уровней в биожидкостях отражают молекулярные сдвиги, происходящие при опухолевых процессах (Oto et al., 2020). Было также продемонстрировано, что сочетание двух и более микроРНК обладает повышенной клинической значимостью, что может

служить основанием для разработки мультиплексных панелей микроРНК в качестве диагностических и прогностических инструментов.

МикроРНК-супрессоры опухолей контролируют противоопухолевый иммунный ответ через регуляцию контрольных точек. Комплекс таких микроРНК защищает раковые клетки от уничтожения иммунной системой, снижая их иммуногенность и подавляя масштаб противоопухолевой реакции. В то же время другая группа микроРНК способствует более эффективному иммунному уничтожению опухолевых клеток путем регулирования важнейших иммунных клеток, присутствующих в опухолевом микроокружении, включая макрофаги, миелоидные супрессорные клетки и естественные киллеры (Seliger, 2017).

Некоторые микроРНК представляют значительный терапевтический потенциал. Так, miR-200c-3p демонстрировала негативную корреляцию с экспрессией иммунных маркеров CD3, CD4 и CD8, а также с уровнем PD-L1(Kang et al., 2022).

В работе Boeri и коллег была выявлена группа микроРНК, позволяющая распознавать пациентов с прогрессирующим немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), у которых отмечается неэффективность иммунотерапии(Boeri et al., 2019), в то время как Fan et al. сформировали иную микроРНК-панель, прогнозирующую более благоприятный ответ на иммунотерапию у больных (Fan et al., 2020). В частности, было показано, что miR-34a, выступая в роли одного из эффекторных звеньев p53, тормозит экспрессию PD-L1 (Cortez et al., 2016). Кроме того, представители семейства miR-200 (miR-200b и miR-200c) через взаимодействие оси miR-200/ZEB1 подавляют эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) и снижение метастазирования, влияя на уровень PD-L1 (Chen et al., 2014).

Было показано, что в опухолевом микроокружении *let-7b* посттранскрипционно подавляет экспрессию PD-L1 и PD-1, что свидетельствует о её потенциале усиления антиопухолевого иммунного ответа *in vivo* (Zhang et al., 2021).

Установлено, что miR-346, miR-328-3p, miR-326 и miR-330-5p связываются с мРНК CD155, что рассматривается как один из механизмов развития резистентности к ингибиторам PD-1 и PD-L1. В частности, miR-326 выступает отрицательным регулятором экспрессии CD155 при adenокарциноме лёгкого и, следовательно, может способствовать формированию устойчивости к терапии ИКТИ (Nakanishi et al., 2023). Было обнаружено, что исходный уровень *miR-625-5p*, связан с исходами выживаемости у пациентов с НМРЛ, получавших ингибиторы иммунных контрольных точек. Интересно, что, несмотря на корреляцию между экспрессией *miR-625-5p* и высоким уровнем PD-L1, удалось выявить пациентов, которые не реагировали на терапию ИКТИ, даже при чрезмерной экспрессии PD-L1 (Pantano et al., 2022).

Пониженная экспрессия miR-339 в сочетании с повышенным уровнем PD-L1 в опухолевой ткани ослабляет противоопухолевый иммунитет у пациентов с ПКК. Повышение уровня miR-339 после терапии ниволумабом связано с увеличением времени без прогрессирования заболевания у пациентов с хорошим клиническим ответом (Liu et al., 2019).

Costantini et al. выяснили, что пониженная экспрессия miR-320 и miR-375 ассоциируется с благоприятным клиническим ответом на ниволумаб у пациентов с диссеминированным НМРЛ. Эффективность терапии сопровождалась повышением уровня циркулирующего PD-L1 и доли PD1+ CD8+ Т-лимфоцитов, а также уменьшением концентрации иммуносупрессивных цитокинов, что подчёркивает участие этих миРНК в ключевых механизмах клинического ответа (Costantini et al., 2018).

В клеточных линиях рака простаты Chen et al. показали, что miR-15a отрицательно модулирует экспрессию PD-L1; усиленная экспрессия повышала цитотоксичность CD8+ Т-клеток по отношению к опухолевым клеткам и подавляла их выживаемость, миграцию и инвазию за счёт прямого воздействия на PD-L1 (Chen et al., 2020).

Xuan с коллегами (Xuan et al., 2021) обнаружил, что клетки ПКК и их экзосомы, устойчивые к ингибиторам иммунных чекпойнтов, характеризуются более низкой экспрессией miR-549a по сравнению с чувствительными клетками.

1.3.2.2. Метилирование ДНК

Изменение статуса метилирования ДНК, включая гиперметилирование промоторов генов-супрессоров опухолей и глобальное гипометилирование, относятся к одним из первоначальных, ассоциированных с возникновением рака (Береснева и др., 2017; Easwaran et al., 2014). Гиперметилирование ДНК при раке может также влиять на стабильность хроматина (Ito et al., 2010). Белки-интерпретаторы, взаимодействующие с CpG-динуклеотидами, такие как MBD1 (белок с доменом связывания метилированных CpG) и MeCP2 (метил-CpG-связывающий белок), способны рекрутировать гистоновые деацетилазы, что вызывает подавление генов, вовлеченных в иммунные реакции (Karpf et al., 2002). Первым свидетельством эпигенетического подавления PD-L1 стало обнаружение связи между повышенным глобальным метилированием, оценённым с помощью метилиционных матриц, и сниженной её экспрессией. В меланомах такое общее гиперметилирование ДНК сопровождается пониженным уровнем PD-L1 и коррелирует с плохим прогнозом (Madore et al., 2016). В культуре клеток меланомы стабильная экспрессия PD-L1 ассоциируется с глобальным гипометилированием, особенно в межгенных регионах и интранах, а также в длинных терминальных повторах и эндогенных ретровирусных элементах (Gowrishankar et al., 2015; Emran et al., 2019). Метилирование ДНК в регионах эндогенных ретровирусных элементов может подавлять активацию интерферон-сигнальных путей и затруднять распознавание опухолевых клеток иммунной системой. В скПКК показано, что эндогенные ретровирусные элементы кодируют пептиды, способные стимулировать активацию Т- и В-лимфоцитов. (Jones et al., 2019; Smith et al., 2018). При раке активность ДНК-метилтрансферазы и гистонметилтрансферазы (EZH2) коррелирует с низким уровнем проникновения CD8+ Т-клеток в опухоль и влияет

на клинические исходы терапии (Peng et al., 2015). Тотальное гипометилирование ДНК также может усиливать непрерывную продукцию цитокинов, таких как VEGF и интерлейкин-6, что способствует развитию резистентности к иммунотерапии (Emran et al., 2019).

Klümper с коллегами оценили потенциальную роль метилирования промотора гена *CTLA4* в качестве биологического прогностического биомаркера в ответ на терапию ИКТИ при ПКК (Klümper et al., 2021). Они показали, что гипометилирование промотора *CTLA4* было независимым предиктором улучшения исхода (ВБП и ОВ) при лечении скПКК.

1.3.2.3. Модификация гистонов

Гистонные модификации в ряде исследований описываются как факторы прогрессирования рака и формирования резистентности к иммунотерапии. Наиболее значимую роль в онкогенезе, по-видимому, играют гистондеацетилазы, гистонметилтрансферазы (например, EZH2) и представители семейства белков-считывателей гистонов, однако при раке также нередко нарушается функция гистонацетилтрансфераз и гистондеметилаз (Cheng et al., 2019).

Гистонацетилазы являются важными эпигенетическими регуляторами. Они удаляют ацетильные группы из N-ацетил-лизина аминокислоты на хвостах гистонов. Они классифицируются по разным классам и влияют на врожденные и адаптивные иммунные реакции (Falkenberg, 2014; Ibrahim et al., 2016). Ацетилирование лизинов стабилизирует деконденсированный хроматин, что связано с активацией транскрипции. Изменения в экспрессии или активности гистонацетилазы были обнаружены опухолевых клетках, а нарушение баланса между уровнями ацетилирования и деацетилирования стимулирует модуляцию экспрессии генов. Исследования показали, что за счёт эпигенетического подавления опухолевые клетки способны снижать уровень экспрессии поверхностных молекул, важных для их распознавания иммунной системой. В

контексте иммунотерапии чётко прослеживается связь с регуляцией PD-L1. (Woods et al., 2015). Таким образом, корректировка баланса ацетилирования представляет собой привлекательную противоопухолевую стратегию, и ингибиторы гистонацетилаз проходят клинические исследования с ИКТИ. Они могут усиливать эффективность иммунотерапии за счёт повышения содержания опухолевых антигенов и восстановления активности проапоптотических генов (Conte et al., 2018).

Гистонметилтрансфераза EZH2 является членом поликомпресивного комплекса 2. Он отвечает за trimетилирование лизина 27 гистона 3 (H3K27me3). Эта хроматиновая метка вызывает подавление транскрипции генов и участвует в контроле их развития (Bracken et al., 2006). EZH2 избыточно экспрессируется во многих опухолях, таких как рак молочной железы, мочевого пузыря, меланома и рак простаты (Bachmann et al., 2006). В онкологии EZH2, по-видимому, способствует пролиферации, инвазии и метастазированию клеток. При ряде злокачественных заболеваний, в том числе при меланоме, EZH2 гиперэкспрессируется либо активируется мутацией, что приводит к репрессии генов, ответственных за презентацию антигена, или генов-супрессоров опухолей (Tiffen et al., 2016). Гиперэкспрессия EZH2 обратно коррелирует с инфильтрацией опухоли CD8+ Т-клетками (Peng et al., 2015). Кроме того, доказано, что EZH2 играет ключевую роль в дифференцировке регуляторных Т-клеток, подавляющие иммунные реакции (Wang et al., 2018). Современные исследования показали, что EZH2 в клетках гепатомы может снижать экспрессию PD-L1 через прямую регуляцию повышения уровня H3K27me3 на промоторах гена *CD274*, который кодирует PD-L1 и интерферон-регулирующий фактор 1, критически важный фактор транскрипции для экспрессии PD-L1(Xiao et al., 2019). Многочисленные исследования связывают экспрессию EZH2 с иммуногенностью опухоли, предполагая, что таргетирование EZH2 может модулировать ответ на терапию ИКТИ.

Белки-считыватели гистонов (BET) взаимодействуют со структурными элементами гистонов, благодаря чему «код» гистонов преобразуется в функциональный эффект. Эти белки могут взаимодействовать с ацетилированными гистонами и регулировать транскрипцию генов, отвечающих за иммунные реакции. В опухолевых клетках ингибирование BET снижает выработку цитокинов, экспрессию PD-L1 и активность ядерного фактора kappa B, одновременно усиливая экспрессию лигандов, активирующих естественные киллеры (Abruzzese et al., 2016; Zhu et al., 2016). У человека семейство белков BET включает четыре белка (BRD2, BRD3, BRD4 , BRDT), при этом BRD4 является широко распространённым участником множества физиологических процессов. При онкопроцессах BET-белки контролируют ремоделирование хроматина и способствуют опухолевому воспалению. Разработаны низкомолекулярные ингибиторы BET, продемонстрировавшие иммуномодулирующие свойства и пригодные для комбинирования с иммунотерапией с целью повышения частоты ответа. В раке яичников подавление BRD4 перепрограммирует макрофаги, инфильтрирующие опухоль, из фенотипа M2 в M1, стимулируя секрецию провоспалительных цитокинов и последующую активацию CD8⁺ Т-лимфоцитов (Li et al., 2020). В раке предстательной железы ингибирование BRD4 связано с повышенной экспрессией генов МНС I в опухолевых клетках, глобальным перепрограммированием профиля транскрипции с активацией сетей антигенной презентации и увеличением соотношения CD8⁺ Т-клеток к регуляторным Т-клеткам (Mao et al., 2019). В целом, многочисленные исследования подтверждают потенциал ингибиторов BET в стимулировании противоопухолевых иммунных реакций и лечении злокачественных новообразований.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Материалы исследования

В исследование включены 86 пациентов с скПКР, получавших терапию ИКТИ. Критерием включения пациентов в исследование был гистологически верифицированный диагноз «светлоклеточный почечно-клеточный рак» и назначение иммунотерапии ИКТИ. Критериями исключения пациентов были радио- и химиотерапия до взятия проб, почечные карциномы других гистологических типов, наличие других злокачественных новообразований в семейном анамнезе, инфекции мочевыводящих путей и мочекаменная болезнь. Пациенты были стратифицированы согласно критериям международного консорциума базы данных по метастатическому почечно-клеточному раку (International mRCC Database Consortium, IMDC: [сайт]. URL: <https://www.imdconline.com/>).

Для анализа были отобраны образцы ДНК, выделенной из венозной крови, а также плазма пациентов. В исследование были включены все доступные пациенты с данным диагнозом, получавшие лечение ИКТИ в период с 2020 по 2023 год, которые проживали на территории Республики Башкортостан. В исследовании мы использовали последовательную выборку — метод невероятностной выборки, направленный на включение всех доступных субъектов в качестве части выборки (Gupta et al., 2021). Поскольку Республиканский клинический онкологический диспансер является единственной больницей, принимающей пациентов из Республики Башкортостан и прилегающих районов, такой подход обеспечил высокую репрезентативность выборки за последние 2 года набора участников в отношении клинических случаев в данном регионе. Кроме того, мы провели расчет мощности для наших результатов и наблюдали высокий уровень мощности, равный 83% для двустороннего уровня значимости альфа 0,05.

Оценка ответа на терапию ИКТИ, а также оценка иммуноопосредованных нежелательных явлений на фоне терапии проводилась врачами-химиотерапевтами

согласно критериям оценки ответа на терапию солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST 1.1.) (Eisenhauer et al., 2009) и общим терминологическим критериям побочных эффектов Национального института рака (CommonTerminology Criteria for Adverse Events, CTCAE: [сайт]. URL: <https://dctd.cancer.gov/research/ctep-trials/for-sites/adverse-events>).

Забор венозной крови у пациентов с скПКР до и после 2 курсов приема терапии ИКТИ проводился клиническим персоналом Республиканского клинического онкологического диспансера, а также отделения онкологии и урологии клиники Башкирского государственного медицинского университета. От каждого пациента было получено информированное согласие на сбор биологического материала и молекулярно-генетические исследования.

При анализе полиморфных вариантов генов микроРНК было исследовано 86 пациентов с скПКР, получающих терапию ИКТИ.

Высокопроизводительное профилирование экспрессии микроРНК было проведено на 50 парных образцах плазмы, полученных до и после 2 курсов терапии ИКТИ.

Полногеномное бисульфитное секвенирование было проведено для группы из 8 пациентов. Группа представляла собой две равные подгруппы пациентов, демонстрирующих и не демонстрирующих ответ на терапию ИКТИ (4:4) согласно международным критериям оценки ответа на терапию солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST 1.1.).

Более подробно характеристика пациентов представлена в таблице 2.

Таблица 2—Характеристика выборки пациентов для исследования

Характеристика	N
Возраст	60 (38–81)
Пол	
-Мужчины	66 (76,74 %)
-Женщины	20 (23,26 %)

IMDC-стратификация риска	
- Благоприятный	10 (12%)
-Промежуточный	60 (70%)
- Неблагоприятный	16 (18%)

2.2. Молекулярно-генетические методы исследования

2.2.1. Забор образцов периферической крови до и после терапии

Для создания коллекции геномной ДНК венозная кровь пациентов отбиралась в вакуумные пробирки с антикоагулянтом ЭДТА.

Для создания коллекции экзосомальной микроРНК, кровь забиралась в вакуумные пробирки, специально разработанные для стабилизации свободно циркулирующих внеклеточных ДНК и РНК в крови cfDNA/cfRNA Preservation Blood Tube (Zymo Research, США). Эти пробирки содержат 0,9 мл консерванта, который не образует сшивок в макромолекулах, стабилизирует эритроциты и предотвращает их лизис, что критично для сохранения целостности нуклеиновых кислот. После забора крови пробирку непосредственно сразу необходимо аккуратно перевернуть 10 раз для равномерного смешивания крови с консервантом. Это обеспечивает эффективную стабилизацию циркулирующих внеклеточных ДНК и РНК при хранении при комнатной температуре (15–25 °C) до 7 дней без значительной деградации или контаминации клеточной ДНК.

Взятие крови осуществлялось до начала терапии ИКТИ, затем через 2 цикла терапии (через 8 недель при дозировке 240 мг или через 4 недели при дозировке 480 мг).

Для получения плазмы крови вакуумные пробирки со стабилизатором свободно циркулирующих внеклеточных ДНК и РНК в крови подвергали двойному центрифугированию при температуре 4°C (10 мин при 1900 g и 15 мин при 3000 g) с последующим хранением при температуре -80°C.

2.2.2. Выделение экзосомальных микроРНК и геномной ДНК

Выделение экзосомальной микроРНК включает в себя этап выделения экзосом из плазмы крови с последующим выделением тотальной РНК, включая микроРНК из экзосом.

Образцы ранее подготовленной плазмы крови после размораживания были подвергены дополнительной очистке с помощью специализированных фильтров с размером пор 0.8 мкм (Sartorius, Германия) для удаления криопреципитатов.

Тотальную РНК из экзосом выделяли из 1 мл отфильтрованной плазмы крови с помощью набора exoRNeasy Midi (Qiagen, Германия) с использованием спин-колонок в соответствии с протоколом производителя.

В ходе выделения РНК в каждый образец согласно инструкции производителя был добавлен экзогенный контроль cel-miR-39 (Qiagen, Германия). Определение концентрации тотальной РНК проводили с помощью флуориметра Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США) и набора Qubit microRNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США).

Геномную ДНК выделяли из 8 мл периферической крови, взятой у каждого испытуемого, методом фенол-хлороформной экстракции (Mathew, 1984). Метод основан на последовательном разрушении клеток, удалении белков и других примесей с помощью органических растворителей, а также осаждении и растворении ДНК в буфере для хранения.

В ходе первой стадии выделения ядерной фракции к 5 мл цельной крови добавляли 30 мл охлаждённого лизирующего буфера, содержащего 320 mM сахарозы, 5 mM MgCl₂, 1% тритона X-100 и 10 mM трис-HCl при pH 7,6. Смесь подвергали центрифугированию при 4°C и 4000 об/мин в течение 20 минут. После удаления надосадочной жидкости к осадку добавляли 20 мл свежего холодного лизирующего буфера и повторно центрифугировали при тех же условиях 10 минут. Полученный осадок ресуспензировали в 800 мкл буфера для протеиназы K на основе Soline EDTA. Далее суспензию переносили в 2-мл эппendorф, добавляли 80 мкл 10% SDS и 20 мкл протеиназы K (10 мг/мл), перемешивали на ротаторе,

доводили объём Soline EDTA до 1 мл и инкубировали при 37°C на протяжении 16 часов. ДНК экстрагировали поэтапно: сначала с использованием буферизованного фенола (фенол-Трис-HCl, pH 7,8, с добавлением 200 мкл меркаптоэтанола на 50 мл фенола-Трис-HCl), затем смесью фенола и хлороформа (1:1), а далее хлороформом с изоамиловым спиртом (1 мл изоамилового спирта на 24 мл хлороформа) в равных объемах. После тщательного перемешивания лизата с растворителями до образования однородной эмульсии, разделение фаз проводили центрифугированием при 5000 об/мин в течение 10 минут. Для осаждения ДНК добавляли 5–10 мл охлаждённого 96% этанола, аккуратно перемешивали до появления характерного «медузообразного» осадка. Осадок промывали 70% этанолом для удаления солей, подсушивали на воздухе, затем растворяли в дистиллированной воде и хранили при -20°C.

Концентрацию и чистоту выделенных нуклеиновых кислот определяли спектрофотометрически, путем измерения их оптической плотности с использованием спектрофотометра NanoDrop ND-1000 (Thermo Scientific, США). Для анализа метилирования и определения генотипов были использованы образцы ДНК с соотношениями и значениями A260/A230 > 1,8, A260/A280 > 2,0 и концентрацией не менее 50 нг/мкл, согласно рекомендациям производителей реактивов.

2.2.3. Получение кДНК

Получение комплементарной ДНК по матрице микроРНК было выполнено для образцов экзосомальной РНК плазмы крови пациентов с использованием обратной транскриптазы и набора miRCURY LNA RT Kit (Qiagen, Германия) в соответствии с протоколом производителя на термоциклире Biorad T100 (Biorad, США). Полученные образцы кДНК были разведены в соотношении 1:30 водой, не содержащей РНКаз, согласно протоколу производителя.

2.2.4. Анализ экспрессии экзосомальных микроРНК

Далее амплифицированные продукты кДНК подвергались амплификации и анализу результатов ПЦР в реальном времени. Для выявления уровня экспрессии контрольных и целевых микроРНК использовали коммерческие наборы праймеров и зондов для ПЦР-анализа микроРНК miRCURY LNA (Qiagen, Германия). Продукты ПЦР в режиме реального времени детектировали с использованием системы обнаружения продуктов ПЦР в реальном времени Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия).

Каждый образец был проанализирован в трех технических повторностях, объем реакционной смеси составлял 10 мкл. Программа амплификации включала следующие этапы: предварительная денатурация при 95°C - 2 мин; 40 циклов – денатурация при 95°C - 10 сек, отжиг праймеров и элонгация при 56°C - 60 сек.

На этапе валидации в качестве эталонных генов (эндогенный контроль) использовалась miR-16 и miR-1228, характеризующиеся постоянной экспрессией в разных тканях и клетках. Экзогенные контроли для выделения, обратной транскрипции и амплификации включали искусственно синтезированные молекулы UniSp2, UniSp4, UniSp5, UniSp6, сходные по структуре, но не сходные по последовательности с микроРНК.

2.2.5. Подготовка библиотек ДНК

Подготовка библиотек ДНК с использованием TruSeq Methyl Capture EPIC Library Prep Kit (Illumina, США) начиналась с 500 нг геномной ДНК высокого качества из венозной крови с концентрацией ≥ 50 нг/мкл и соотношением OD260/280 в диапазоне 1,8-2,0. Первым этапом являлась ультразвуковая фрагментация геномной ДНК до размеров 150 п.н. с помощью ультразвукового гомогенизатора Covaris ME220 (Covaris, США). согласно протоколу производителя, проводилась репарация концов ДНК-фрагментов с использованием End Repair Mix 3 (ERP3) и добавление одного нуклеотида аденина к 3'-концам с A-Tailing Mix (ATL2).

Следующим этапом являлось присоединение индексированных адаптеров к концам ДНК-фрагментов с использованием Ligation Mix 2 (LIG2). Критически важным было двойное обогащение целевых регионов, которое включало первую гибридизацию с зондами EPIC Oligos в Capture Target Buffer 4 (CT4), затем первый захват с использованием стрептавидиновых магнитных шариков (SMB) с промывкой Enrichment Wash Solution (EWS), после чего проводилась вторая гибридизация с Capture Target Buffer 3 (CT3) и EPIC Oligos и финальный захват SMB для максимальной специфичности. После обогащения выполнялась бисульфидная конверсия с обработкой Lightning Conversion Reagent с последующей очисткой. Завершалась подготовка библиотек ПЦР-амплификацией на приборе Biorad T100 (Bio Rad, США) для получения достаточного количества материала без артефактов. Контроль качества включал проверку размера библиотек (исходные фрагменты + 120 п.н. адаптеров) и концентрации с помощью капиллярного электрофореза на биоанализаторе Tape Station Instrument 4150 (Agilent, США) с использованием набора Agilent High Sensitivity DNA Kit (Thermo Fisher Scientific, США).

2.2.6. Полногеномное бисульфитное секвенирование

Полногеномное бисульфитное секвенирование выполнялось на приборе Illumina NextSeq2000 с использованием картриджа P2 на 200 циклов по технологии "секвенирование через синтез" с флуоресцентно-меченными нуклеотидами с обратимыми терминаторами. Библиотеки денатурировались специальным протоколом (1 мкл 0,2N NaOH + 1 мкл библиотеки, 5 минут, разбавление 120 мкл буфера) и загружались в проточную ячейку с 8 лайнами. Генерация кластеров происходила через мостиковую амплификацию с образованием ~1000 копий каждой молекулы ДНК, секвенирование выполнялось в режиме парно-концевого чтения 2×100 п.н. с циклическим добавлением меченых dNTP, лазерным возбуждением и регистрацией флуоресцентных сигналов. Обязательно включался контрольный лайн с геномной библиотекой для компенсации сниженной частоты цитозинов после бисульфидной обработки. Методология обеспечивала покрытие

>3,34 миллиона CpG-сайтов в 107 Мб целевых регионов с покрытием $\geq 40\times$ для статистической значимости ($>90\%$ оснований с покрытием $\geq 10\times$).

2.2.7. Метод дискриминации аллелей ТаqMan

Исследование полиморфных локусов выполнено с использованием наборов для детекции полиморфных вариантов с помощью «ПЦР в режиме реального времени» от компании «ДНК-синтез» (Москва). Генотипирование проводили с использованием метода аллельной дискриминации ТаqMan PCR с помощью прибора LightCycler 96 (Roche) в соответствии с инструкциями производителя. В каждую реакционную смесь добавляли: 1 мкл ДНК-образца (примерно 30 нг), 0,2 мкл Таq-полимеразы, 2,0 мкл ПЦР-буфера с dNTP, олигонуклеотидными зондами двух аллелей и меченными красителями VIC и FAM, а также 6,8 мкл дедионизированной воды. Программа ПЦР проводилась при следующих параметрах:

-денатурация при 95 °С в течение 2 мин;

-40 циклов:

- 94 °С – 10 сек;

-56–62°C–50–90сек.

Результаты каждой аллельной дискриминации были проанализированы с использованием пакета программ MS Office Excel 2010.

2.2.8. Статистическая обработка данных

Для количественной оценки экспрессии генов был использован метод $2^{-\Delta\Delta Ct}$, основанный на том факте, что разница в значении “порогового цикла” (ΔCt) между исследуемым геном и контрольным геном пропорциональна уровню относительной экспрессии исследуемого гена. Все статистические расчеты выполнялись в среде R и GraphPad Prism v.6.07 (GraphPad Software, Калифорния, США). Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. При сравнении двух независимых групп с нормальным распределением применяли t-критерий

Стьюдента с предварительной проверкой равенства дисперсий по критерию Левена. Для попарных сравнений зависимых выборок применяли непараметрический парный знаковый критерий Вилкоксона. Оценка диагностической эффективности миРНК проводилась с помощью построения кривых рабочих характеристик приёмника (ROC) и расчетом площади под ROC-кривой (AUC) с использованием пакета pROC в R (Robin et al., 2011).

Выживаемость пациентов анализировали методом Каплана–Мейера. Группы с высокой и низкой экспрессией миРНК сравнивали при помощи лог-рангового (логарифмического) теста. Графики выживаемости строились в R с использованием пакета survival.

Тест хи-квадрат (χ^2) был использован для оценки равновесия Харди–Вайнберга (HWE) в частотах аллелей и генотипов. Различия между группами сравнения также оценивались с помощью критерия хи-квадрат (χ^2). Оценка риска развития тяжелых форм ионНЯ с учетом носительства определенного генотипа или аллеля полиморфизма проводилась с использованием отношения шансов (OR) с 95%-ным доверительным интервалом (CI). Статистически значимым считался двухсторонний $p < 0,05$.

Прогнозирование мишеней миРНК проводили с использованием интернет-инструментов Tarbase (Sethupathy et al., 2006) и MirTarBase (Huang et al., 2022). Анализ путей спрогнозированных генов-мишеней был проведен с использованием интернет-ресурсов STRING (Franceschini et al., 2012) и ShinyGO (Ge et al., 2020).

2.2.9. Бионформатическая обработка данных

Обработка данных проводилась в среде conda версии 4.6.13 и окружении R версии 4.3.3.

Для оценки качества данных необработанных последовательностей секвенирования использовался инструмент FastQC (версии 0.12.1). С помощью инструмента CutAdapt (версии 4.4) осуществлялась обрезка адаптеров в

полногеномных чтениях. CutAdapt использует полуглобальный алгоритм выравнивания для обрезки адаптеров из данных высокопроизводительного секвенирования, оптимизируя перекрытие последовательностей при минимальных ошибках. Вместо обычных баллов, CutAdapt использует единичные значения за ошибки, что позволяет пользователям устанавливать максимально приемлемый уровень ошибок для обеспечения точности обрезки.

На основе результатов FastQC было решено обрезать первые 8 нуклеотидов каждого чтения -и 8 для парных чтений. Далее была повторно проведена проверка качества данных с помощью FastQC.

Bismark (версии 0.24.2) – это программа использовалась для картирования результатов секвенирования, обработанных бисульфитом (Bisulfite-Seq), с интересующим геномом и определения состояния метилирования цитозинов, что происходит за один этап, это позволяет существенно сократить время, необходимое на обработку полногеномных данных. Помимо того, программа поддерживает выравнивание как парных чтений, так и одиночных, с учетом пропусков (gap), представляющими собой инделы, то есть место возможной вставки или делеции, и без их учета.

Bismark Genome Preparation использовалась для подготовки геномных данных, адаптированных к анализу метилирования ДНК. Этот процесс включает конвертацию референсного генома в две версии, модифицированные бисульфитом, где цитозины преобразованы в тимины (C->T), а гуанины — в аденины (G->A). Данные модификации позволяют точно анализировать паттерны метилирования. Для выравнивания метиломных данных на референс была взята геномная сборка Homo sapiens.GRCh38.p14.dna.toplevel.fa - последняя доступная сборка генома человека на ensembl на данный момент.

Подготовка осуществлялась за счет программы Bismark Genome Preparation Version: v0.24.2 командой bismark_genome_preparation с опциями --bowtie2, так как дальнейшее выравнивание будет проходить также при помощи bowtie2.

Библиотеки бисульфитов бывают двух различных типов: в первом сценарии библиотека секвенирования генерируется направленным образом, то есть

фактические считывания при секвенировании будут соответствовать преобразованной в бисульфит версии либо исходной прямой, либо обратной цепочки. Во втором сценарии специфичность цепей не сохраняется, что означает, что все четыре возможные цепочки бисульфитной ДНК секвенируются примерно с одинаковой частотой.

Поскольку идентичность нитей считываемого бисульфита априори неизвестна, инструмент отображения бисульфита Bismark нацелен на поиск уникального выравнивания путем одновременного запуска четырех процессов выравнивания. Сначала бисульфитные считывания преобразуются в версии C-to-T и G-to-A (эквивалентные преобразованию C-to-T на обратной цепи). Затем каждый из них выравнивается по эквивалентно предварительно преобразованным формам референсного генома с использованием четырех параллельных экземпляров устройства для выравнивания короткого считывания Bowtie. Это сопоставление считанных данных позволяет Bismark однозначно определять происхождение цепочки для считывания бисульфита. Следовательно, Bismark может обрабатывать данные BS-Seq как из направленных, так и ненаправленных библиотек. Поскольку остаточные цитозины, считываемые при секвенировании, преобразуются *in silico* в полностью преобразованную в бисульфит форму до того, как происходит выравнивание, картирование, выполненное таким образом, точно и непредвзято обрабатывает частичное метилирование.

С его помощью были выровнены все данные на заранее подготовленный геном мыши. Эффективность выравнивания составила в среднем около 90%, что хороший показатель для полногеномного секвенирования с бисульфитной конверсией. Здесь также были указаны в качестве опций -1 и -2 (парные чтения), -multicore 128 для указания количества потоков и -bowtie2 как метод выравнивания. Bismark Methylation Extractor — это инструмент для анализа данных WGBS, который является частью пакета инструментов Bismark. Он извлекает информацию о метилировании из файлов выравнивания (ВАМ). Данный инструмент был запущен со следующими опциями: -comprehensive для создания объединенных

метилированных и неметилированных файлов в контексте CG, CHG и CHH; -bedGraph для генерации файлов формата bedGraph.

Samtools (версии 1.16.1) – это набор инструментов для работы с форматами SAM (Sequence Alignment/Map) и BAM (Binary Alignment/Map), которые используются для хранения выравниваний последовательностей геномных данных. В перечень его задач входит: преобразование данных между форматами SAM и BAM, а также индексирование файлов BAM, фильтрация и сортировка данных по позиции, визуализация результатов, идентификация вариантов, такие как SNP и инделы. С его помощью были отсортированы и проиндексированы полученные данные после выравнивания командами -sort и -index соответственно.

methylKit (версии 1.28.0) — это программный пакет для языка программирования R, разработанный для анализа данных по метилированию ДНК. Он предназначен в первую очередь для обработки данных, полученных с помощью методов WGBS и RRBS. Пакет предоставляет инструменты для базовой предобработки данных, такие как фильтрация и нормализация, а также методы статистического анализа для выявления дифференциально метилированных областей (DMR). Он также поддерживает визуализацию данных и аннотацию геномных регионов. Функцией processBismarkAln импортировали данные BAM в формат, доступный для чтения methylkit. Затем создали объект MethylKit с контрольной и стрессовой группой, минимальным покрытием 10, контекстом метилирования CpG. Наконец функцией calculateDiffMeth был проведен анализ дифференциального метилирования, а с помощью getMethylDiff отфильтровали результаты по статистической значимости при united, difference = 25, qvalue = 0.01, и сохранили полученные DMR в csv таблицу.

HOMER (Hypergeometric Optimization of Motif EnRichment) (версии 4.11) — это программный пакет, который предназначен для анализа данных секвенирования, включая ChIP-Seq, RNA-Seq, BS-Seq и другие методы высокопроизводительного секвенирования. Он предоставляет инструменты для выявления мотивов связывания транскрипционных факторов и других последовательных мотивов в ДНК, а также для аннотирования геномных данных.

HOMER особенно известен своим инструментом для обнаружения регуляторных последовательностей, который помогает исследователям выявлять последовательности, играющие важную роль в регуляции генов. Для работы с этой программой предварительно был подготовлен файл формата bed, где столбец 1 - хромосома, 2 - стартовая позиция, 3 - конечная позиция, 4 - уникальный идентификатор пика, 5 - значения дифференциального метилирования, 6 - цепочка (+ или -).

При помощи annotatePeaks.pl были аннотированы все DMR и ассоциированы с генами, лежащими на расстоянии 2000+ и 2000- от TSS на геном hs38, последний доступный для этой программы.

Для анализа и интерпретации функционального обогащения дифференциально метилированных регионов был использован инструмент ShinyGO версии 0.77 (ShinyGO 0.77 [сайт]. URL: <https://bioinformatics.sdsu.edu/go77/> (дата обращения 01.10.2025). Он позволяет проводить анализ обогащения по базам данных Gene Ontology (GO), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG), что помогает в выявлении биологических процессов, путей и функций, обогащенных в наборе данных генов.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

3.1. Профиль экспрессии экзосомальных миРНК до и после терапии

Был проведен широкомасштабный анализ 31 микроРНК в образцах плазмы пациентов с скПКР с целью изучения влияния терапии ИКТИ на профиль экспрессии микроРНК в плазме (рисунок 2).

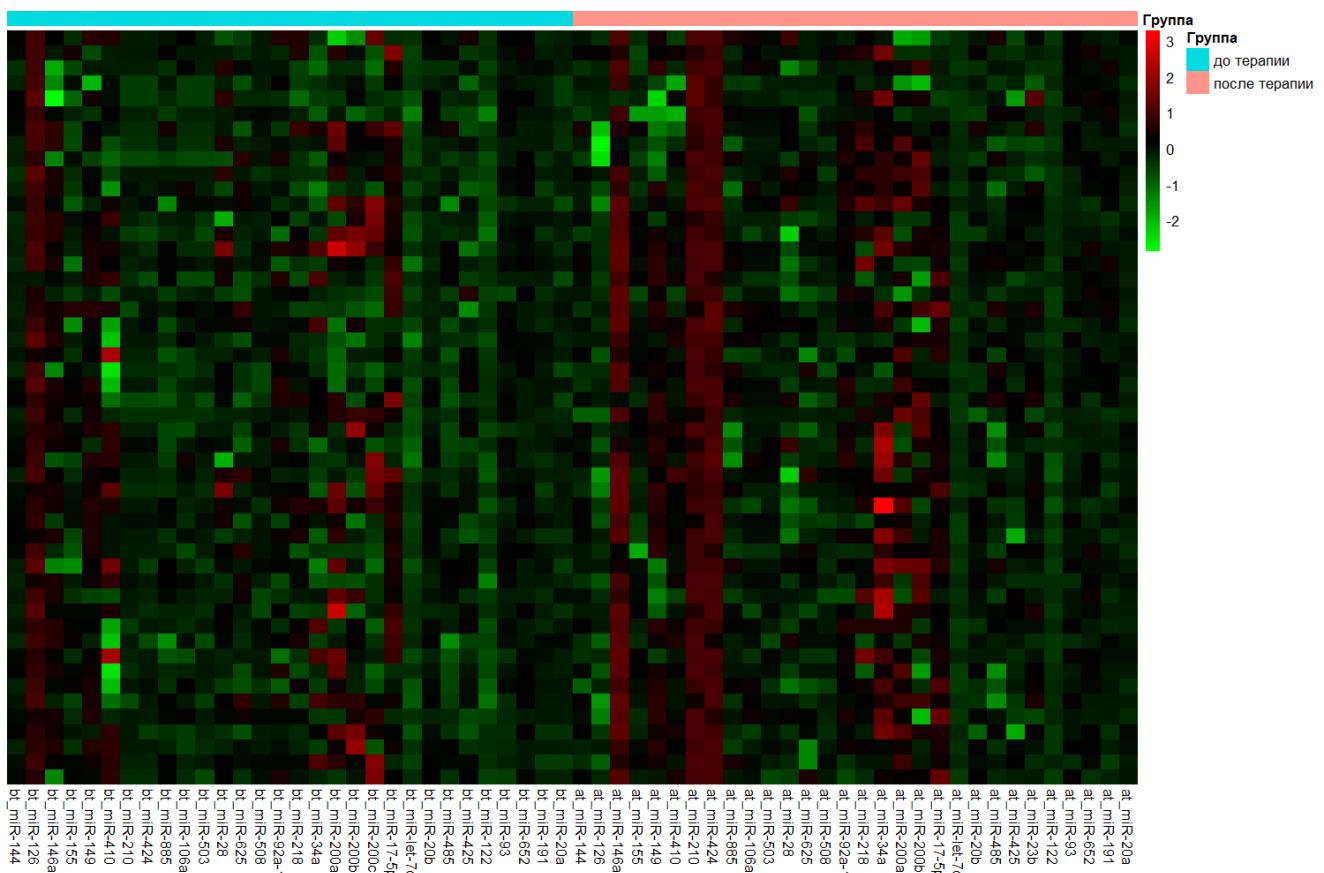


Рисунок 2–Тепловая карта на основе анализа профиля экспрессии экзосомальных миРНК в плазме крови пациентов со светлоклеточным почечно-клеточным раком до и после терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета. Зеленый цвет – повышение экспрессии, красный – снижение

Среди всех проанализированных микроРНК анализ показал 5 дифференциально экспрессируемых экзосомальных микроРНК до и после терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета. Уровень экспрессии 4 микроРНК был повышен, и

только экспрессия 1 микроРНК была понижена после терапии по сравнению с уровнем до терапии (рисунок 3, таблица 3).

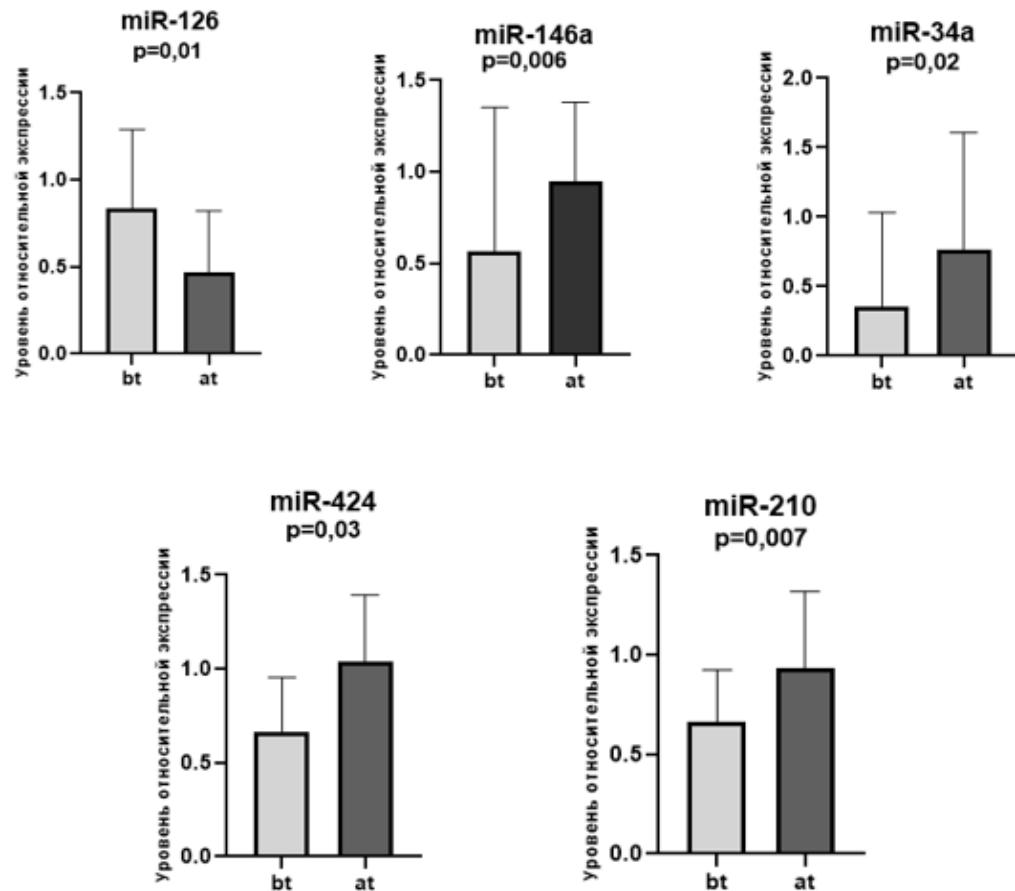


Рисунок 3 – Уровни относительной экспрессии экзосомальных микроРНК у пациентов, получающих терапию ингибиторами контрольных точек иммунитета. Уровни относительной экспрессии представлены в виде log₂ FoldChange(2^(-ddCt)).

Уровень значимости p-value рассчитывался с использованием критерия

Вилкоксона. bt- до терапии, at- после терапии

Таблица 3– Результаты анализа экспрессии генов микроРНК до и после терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета

miRNA	До терапии (Ме (IQR))	После терапии (Ме (IQR))	p-value
miR-126-3p	2,15 (0,76– 3,16)	4,20(1,73– 5,55)	0,01

miR-146a-5p	0,85(0,55–1,03)	0,48(0,15–0,68)	0,006
miR-34a-5p	0,71(0,48–0,80)	1,02 (0,80–1,24)	0,02
miR-424-5p	0,14(0,01–0,74)	0,55(0,15–1,56)	0,03
miR-210-3p	0,71(0,51–0,81)	1,0(0,74–1,23)	0,007
miR-508-3p	0,82(0,51–1,17)	0,80(0,51–0,83)	0,0503
miR-149-3p	2,27(1,17–3,07)	2,67(0,36–4,54)	0,0835
miR-885-5p	0,61(0,32–1,31)	0,87(0,39–1,80)	0,1026
miR-92a-1-5p	1,23(0,59–2,29)	1,56(0,92–2,39)	0,3265
miR-625-3p	0,66(0,32–1,25)	0,73(0,34–1,23)	0,2358
miR-144-3p	0,92 (0,66–1,38)	1,03 (0,47–1,41)	0,6649
miR-218-1-3p	1,01(0,44–2,06)	1,22(0,78–1,96)	0,0597
miR-155-3p	0,72(0,30–1,38)	0,83(0,52–1,32)	0,2141
miR-503-3p	0,79(0,40–1,31)	1,00(0,74–1,24)	0,0322
miR-410-3p	0,53 (0,39–1,14)	0,23(0,01–0,55)	0,6719
miR-200a-3p	0,65(0,28–1,26)	0,44(0,30–0,93)	0,8016
miR-200b-3p	0,23(0,03–0,78)	0,45(0,09- 1,01)	0,8689
miR-200c-3p	0,38(0,12- 0,92)	0,36 (0,13- 1,34)	0,0853
miR-28-5p	1,30(0,65–1,84)	0,53(0,27- 1,56)	0,0927
miR-106-5p	0,79(0,40- 1,51)	1,08(0,73–1,29)	0,0948
miR-17-5p	0,42(0,01–0,71)	0,35(0,11–0,68)	0,6731
miR-let-7d-5p	0,39(0,24–0,47)	0,45(0,35–0,56)	0,0858
miR-20b-5p	1,03(0,66- 1,38)	1,06(0,47- 1,45)	0,6667
miR-485-3p	0,51(0,29–2,89)	0,82(0,35–1,60)	0,1202
miR-425-5p	0,78(0,30- 1,38)	0,72(0,47–1,32)	0,5835
miR-23b-3p	1,04(0,55–1,80)	1,11(0,54–1,95)	0,5934
miR-122-5p	0,36(0,25–0,49)	0,45(0,34–0,55)	0,0531
miR-93-5p	1,14(0,74–1,29)	0,99(0,74–1,53)	0,4533
miR-652-3p	1,14(0,79–1,63)	1,25(0,79–1,45)	0,6186
miR-191-5p	0,77(0,53–0,99)	0,80(0,52–1,17)	0,0585

miR-20a-5p	0,73(0,50–0,89)	0,79(0,63–1,03)	0,1101
------------	-----------------	-----------------	--------

Примечания: показатели экспрессии представлены в виде медианных значений с указанием межквартильного размаха (25–75%) (Median (25%–75% IQR)); Р — уровень статистической значимости, рассчитанный с использованием критерия Вилкоксона.

МикроРНК с достоверно изменёнными уровнями экспрессии до и после терапии ИКТИ, были распределены на два кластера в зависимости от их функциональной значимости при иммунотерапии ИКТИ. В первую группу вошли микроРНК, демонстрирующие статистически значимые изменения экспрессии после терапии ИКТИ и непосредственно модулирующие ответ на лечение (miR-424, miR-210, miR-126, miR-34a), тогда как вторую группу составляет miR-146а, ассоциированная с появлением иоНЯ, уровень экспрессии которой коррелировали с тяжестью и характеристиками побочных эффектов.

Для изучения прогностической значимости профиля экспрессии экзосомальных микроРНК в ответ на иммунотерапию, мы провели анализ корреляции индивидуальных экспрессионных профилей уровней экспрессии экзосомальных микроРНК пациентов с клиническими данными ответа на терапию, определённого по критериям оценки ответа на терапию солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST 1.1.).

Статистически значимые различия в уровнях экспрессии микроРНК наблюдались исключительно среди пациентов, продемонстрировавших объективный ответ на иммунотерапию ИКТИ (таблица 4).

Таблица 4 – Дифференциально экспрессированные микроРНК, которые коррелируют с ответом на терапию ИКТИ

микроРНК	Критерий ранговой корреляции Спирмена r_s	p-value
miR-126	0,4811	0,0030
miR-146а	-0,5604	0,0004
miR-210	-0,4665	0,0041
miR-34а	-0,4506	0,0058
miR-424	-0,5286	0,0009

Дополнительно выполнен количественный анализ экспрессии miR-146а у пациентов с зарегистрированными иоНЯ на фоне терапии ИКТИ для определения её вклада в патогенез данных осложнений. Анализ выявил статистически значимое ($p = 0,02$) снижение уровня экспрессии miR-146а у пациентов с иоНЯ 3–4 степени ($Мe (IQR) 0,46 (0,06- 0,91)$) по сравнению с группой пациентов с иоНЯ 0–2 степени ($Мe (IQR) 1,24 (0,73- 1,32)$) (рисунок 4).

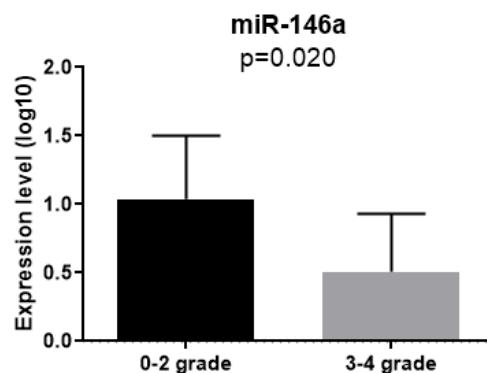


Рисунок 4— Уровень экспрессии miR-146а у пациентов с иммunoопосредованными нежелательными явлениями различной степени тяжести

Кроме того, был оценен уровень экспрессии miR-146а в зависимости от генотипов rs2910164. Было показано, что экспрессия в группах с генотипом СС была достоверно ниже ($p < 0,01$) по сравнению с носителями GG и GC.

Далее была проведена оценка прогностической значимости экзосомальных микроРНК у пациентов, получавших терапию ингибиторами контрольных точек иммунного ответа. Особое внимание уделялось их роли как потенциальных маркеров общей выживаемости, риска развития иммunoопосредованных нежелательных явлений на фоне терапии и эффективности проводимого лечения.

Оценка общей выживаемости пациентов на основе анализа экспрессии miR-146а не выявила статистически значимой разницы между группами с низким и высоким уровнем экспрессии (рисунок 5).

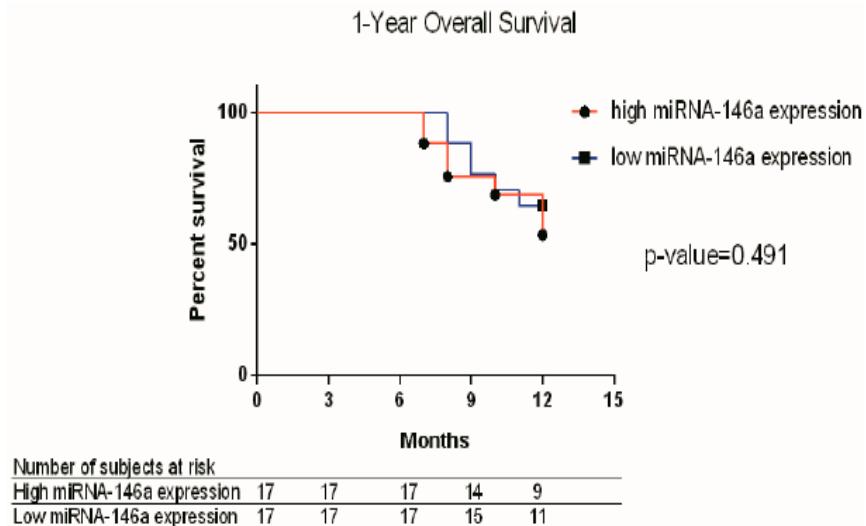


Рисунок 5 – Анализ выживаемости методом Каплана–Мейера по результатам экспрессии miR-146а

Дальнейший анализ показал, что комбинация miR-146а и miR-126 продемонстрировала средний уровень чувствительности и специфичности в прогнозировании степени выраженности иоНЯ на фоне терапии, что требует дополнительной оптимизации и валидации. Применение логистической регрессии с последующим построением ROC-кривой позволило установить, что данная комбинация демонстрирует значение AUC 0,752 (95% ДИ: 0,585–0,918) при чувствительности 64,3% и специфичности 78,9% (рисунок 6).

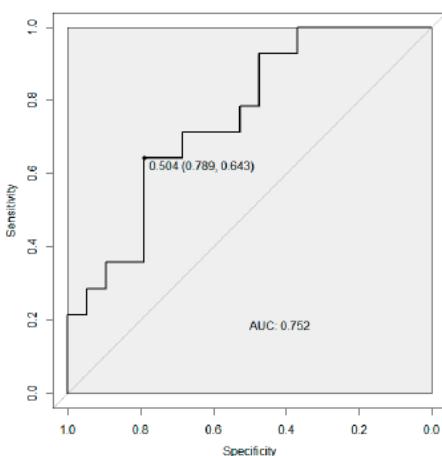


Рисунок 6– Анализ ROC кривых комбинации miR-146а и miR-126 для прогнозирования развития иммunoопосредованных нежелательных явлений на фоне терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета

Для оценки диагностической точности экзосомальных миРНК как маркеров эффективности терапии ИКТИ были построены ROC-кривые. Результаты показали, что площадь под кривой (AUC) miR-424 составляет 0.804 (95% ДИ: 0.7082–0.9006) и обеспечивает 73.8% специфичности и 88.1% чувствительности; диагностическая точность miR-424 выше, чем у комбинации miR-146а и miR-424 (рисунок 7)(Асадуллина и др.,2023).

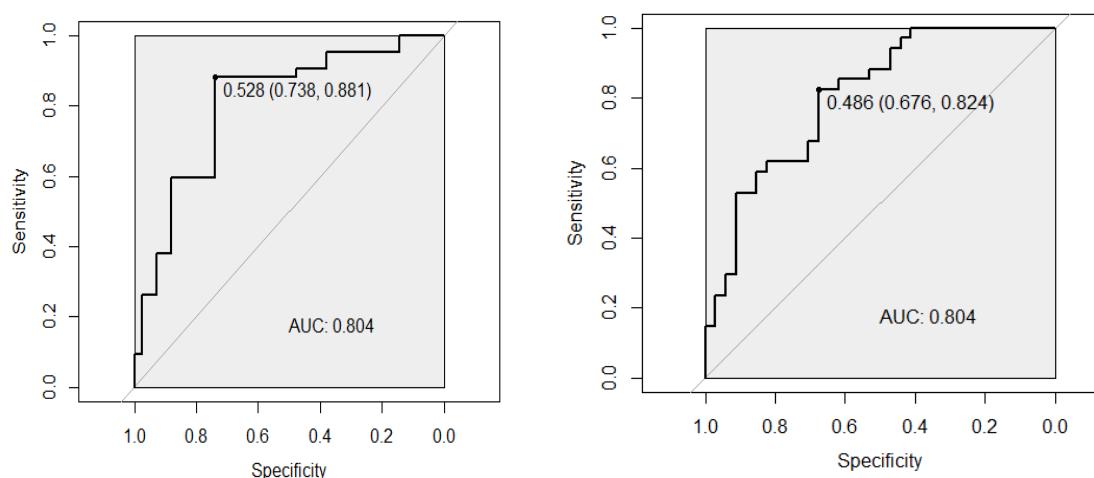


Рисунок 7– ROC-анализ для прогнозирования ответа на терапию ингибиторами контрольных точек иммунитета на основе анализа экспрессии экзосомальной miR-424 и комбинации miR-146а и miR-424

Функционально miR-424 прямо подавляет PD-L1 и CD80, выступая мощным сенсибилизатором иммунотерапии ИКТИ (Гилязова и др.,2023) ; в моделях резистентного рака яичника восстановление её экспрессии восстанавливало чувствительность к терапии ИКТИ за счёт усиленной инфильтрации CD8⁺ Т-лимфоцитов (Xu et al., 2016).

Zhao и соавт. продемонстрировали, что клетки колоректального рака секрецируют внеклеточные везикулы, обогащённые miR-424, которые тормозят

костимуляторный путь CD28–CD80/86 в инфильтрирующих опухоль Т-клетках и дендритных клетках, способствуя устойчивости к ИКТИ. В доклинической модели колоректального рака (ортотопическая трансплантация в слепую кишку) внутривенное введение miR-424 подавляло секрецию опухолевых везикул и усиливало эффективность комбинированной терапии анти-PD-1 и анти-CTLA-4 (Zhao et al., 2021). Liu с соавторами изучили инновационный таргетный подход с применением конъюгата анти-PD-L1 и нанопузырьков, загруженных miR-424, и продемонстрировали на модели подкожной гепатоцеллюлярной карциномы у животных, что эта комбинация снижает уровень экспрессии PD-L1 (Liu et al., 2022).

miR-210, известная как «гипоксическая микроРНК», демонстрирует повышенную экспрессию в большинстве случаев скПКК и ассоциируется с неблагоприятным прогнозом заболевания. (Samaan et al., 2015). Под регуляцией HIF-1 α miR-210 усиливает свойства миелоидных супрессорных клеток, повышая уровни Arg1 и CXCL12 и подавляя Т-клеточный иммунный ответ. В свою очередь, p53-опосредованная miR-34a напрямую взаимодействует с 3'-UTR PD-L1, снижая его экспрессию и усиливая иммунный контроль в моделях НМРЛ, меланомы и трижды отрицательного рака молочной железы (Cortez et al., 2016). При острой миелоидной лейкемии подавление PD-L1 при помощи miR-34a приводило к уменьшению апоптоза PD-L1 $^+$ Т-лимфоцитов (Wang et al., 2015). У пациентов с НМРЛ, лечившихся ниволумабом, низкий исходный уровень плазменной miR-34a был связан с 3,2-кратным повышением риска смерти и ухудшенной выживаемостью (Monastirioti et al., 2022).

Xia et al. (Xia et al., 2020) описали две ключевые статьи о вовлечении микроРНК в развитие иоНЯ. В первом исследовании они зафиксировали повышение уровня miR-34a, которая нацеливалась на KLF4 — ингибитор программы поляризации макрофагов в фенотип М1 — что приводило к росту популяции М1-макрофагов и выработке провоспалительных цитокинов у мышей после терапии анти-PD-1. Это, по-видимому, способствовало снижению фракции выброса и укорочения левого желудочка. Во втором исследовании команда

показала, что макрофаги, обработанные анти-PD-1, выделяли экзосомы, обогащённые miR-34a, которые доставляли miR-34a в кардиомиоциты, где та ингибировала серин/треонин-протеинфосфатазу PNUTS, вызывая старение кардиомиоцитов (Xia et al., 2020).

Имеются сведения о том, что под действием гипоксии экспрессия miR-146a усиливается, причём её высокие уровни ассоциируются с ухудшенной выживаемостью пациентов с скПКК (Yang et al., 2018). Сверхэкспрессия miR-146a усиливает пролиферацию линии клеток adenокарциномы почки ACHN и способствует росту опухоли *in vivo* в мышевой модели, тогда как снижение уровня экспрессии подавляет пролиферацию и инвазию линии клеток карциномы почки 786-O. CADM2, молекула клеточной адгезии M2, выступает мишенью miR-146a. Кроме того, miR-146a стимулирует ЭМП в клетках ПКК (Yang et al., 2018). CADM2, принадлежащий к семейству трансмембранных рецепторов адгезии синаптических клеток, содержит три иммуноглобулин-подобных домена и обеспечивает клеточную агрегацию через гомо- и гетерофильные взаимодействия с другими нетин-подобными членами семейства, а также поддерживает функцию синапсов посредством гетерофильных взаимодействий (Takai et al., 2003). CADM2 стимулирует экспрессию Е-кадгерина и подавляет уровень виментина, проявляя свойства опухолевого супрессора. В процессе прогрессирования скПКК отмечается его аномальное метилирование (He et al., 2013).

Известно, что терапия ИКТИ сопровождается повышением активности NF- κ B (Quagliariello et al., 2022). Терапия ингибиторами контрольных точек активирует NF- κ B, причём miR-146, находящаяся под контролем NF- κ B, осуществляет обратную регуляцию этого пути. miR-146 подавляет TRAF6 и IRAK1 — ключевые медиаторы, стимулирующие регуляторную субъединицу киназы I κ B — что ведёт к снижению активации киназного комплекса I κ B и последующей транскрипции провоспалительных генов, зависимых от NF- κ B (Mann et al., 2017). Следовательно, дефицит miR-146 приводит к избыточной активации NF- κ B, что вызывает окислительный стресс и воспалительный ответ, способствуя развитию иоНЯ.

3.2. Анализ ассоциации генотипов и аллелей полиморфных вариантов генов микроРНК с развитием иммуноопосредованных нежелательных явлений на фоне терапии ИКТИ

Был проведен анализ полиморфных локусов в генах микроРНК (rs57095329 и rs2910164). Анализ ассоциации rs2910164 гена *miR-146a* показал, что носители генотипа CC и аллели С имели более высокий риск развития тяжелых форм иоНЯ (3–4 степени по шкале CTCAE), ($p = 0,03$, $OR = 6,12$; $p = 0,013$, $OR = 2,42$, соответственно) по сравнению с носителями GG и GC (таблица 5).

Таблица 5 – Анализ ассоциации rs2910164 с риском развития токсичности различной степени по шкале CTCAE

Генотип/ Аллель	0–2 степень токсичности (n=51) n (%)	3–4 степень токсичности (n=35) n (%)	χ^2	OR	95% CI	p-value
GG	34 (67)	17 (49)	2,11	0,47	0,19- 1,14	0,47
GC	15 (28,8)	11 (30)	0,00	1,00	-	1,00
CC	2 (4,2)	7 (21)	4,13	6,12	1,19- 31,53	0,028
G	83 (81,4)	45 (64,3)	5,5	0,41	0,21- 0,82	0,013
C	19 (18,6)	25 (35,7)		2,42	1,2-4,8	

При исследовании полиморфного варианта rs57095329 показано, что у пациентов с иммуноопосредованными реакциями 0-2 степеней токсичности по шкале CTCAE частота генотипа AA составила 91,3%, у пациентов с 3-4 степенью токсичности – 93%. Схожие частоты в обеих исследуемых группах были выявлены и для генотипа AG, который обнаруживался с частотами 8,9% и 7,0%, соответственно. Генотип GG не выявлен ни у одного из обследуемых. Анализ ассоциации данного

полиморфного варианта с риском развития нежелательных иммуноопосредованных реакций в двух группах пациентов, получавших терапию ИКТИ, не выявил статистически значимых различий ($p\text{-value} > 0,05$). Анализ распределения частот аллелей между пациентами с иммуноопосредованными реакциями 0-2 и 3-4 степени токсичности по шкале СТСАЕ также не выявил статистически значимых результатов ($p\text{-value} > 0,05$) (Асадуллина и др., 2022).

miR-146а является ключевым регулятором иммунного ответа и участвует в патогенезе различных заболеваний. Накопленные данные демонстрируют связь SNP в гене *miR-146a* с повышенным риском многих патологий. Установлено, что два варианта — rs2910164 и rs57095329 — могут модулировать уровень зрелой miR-146а, тем самым влияя на предрасположенность к различным заболеваниям (Xu et al., 2010; Luo et al., 2011; Zhou et al., 2014).

Функциональное значение SNP rs2910164 было экспериментально определено Jazdzewski et al. (Jazdzewski et al., 2008). Полиморфизм rs2910164 G/C расположен в пассажирской цепи последовательности pre-miR-146а. Установлено, что наличие аллеля С снижает эффективность процессинга pri-miR-146а, что приводит к уменьшению количества зрелого miR-146а и, как следствие, к повышению экспрессии его мишней, таких как TRAF-6 и IRAK-1 (Jazdzewski et al., 2008). Jazdzewski et al. также показали, что дополнительные зрелые miR-146а*G и miR-146а*С из пассажирской цепи pre-miR-146а участвуют в регуляции генетического процессинга (Jazdzewski et al., 2009). Имеются данные, что данный полиморфизм ассоциирован с повышенной предрасположенностью к ряду заболеваний, включая папиллярную карциному щитовидной железы, рак предстательной железы и гепатоцеллюлярную карциному (Xu et al., 2008).

Кроме того, была установлена ассоциация между ответом на химиотерапию и наличием определённого генотипа rs2910164 при раке лёгкого и плоскоклеточном раке пищевода (Chen et al., 2021).

Генотип СС полиморфного варианта rs2910164 в гене *miR-146a* у пациентов с солидными опухолями, получавших терапию ИКТИ, был определён как потенциальный прогностический маркер эффективности лечения (Marschner et al., 2020). В противоположность этим данным было установлено, что у пациентов с ПКР носительство генотипов rs2910164 GC и GG ассоциируется с более низкой выживаемостью по сравнению с обладателями генотипа СС (Huang et al., 2015). Ранее было показано, что замена G на С сопровождается уменьшением свободной энергии, что указывает на менее стабильную структуру аллеля С по сравнению с аллелем G (Hu et al., 2008).

Исследования показали, что полиморфизм rs2910164 в гене *miR-146a* приводит к уменьшению экспрессии miR-146a, связанной с воспалением и ассоциирован с увеличением вероятности развития тяжёлых ионНЯ при лечении ИКТИ (Marschner et al., 2020).

Для полиморфизма rs57095329 (A/G) SNP, локализованного в промоторной области miR-146a, было показано, что он приводит к снижению уровня зрелого miR-146a вследствие уменьшенной аффинности к его транскрипционному фактору V-Ets онкоген-гомолог 1 (Ets-1) и ассоциируется с повышенным риском развития системной красной волчанки (Luo et al., 2011).

3.3. Анализ обогащения биологических путей, ассоциированных с ответом на иммунотерапию

На основе анализа дифференциально экспрессированных миРНК, был проведен анализ биологических путей с участием потенциальных генов-мишеней исследуемых миРНК с помощью Diana tools (DIANA TOOLS - mirPath v.3 [сайт]. URL: <https://diana.e-ce.uth.gr/tools> (дата обращения 01.10.2025), где в результате анализа путей обогащения по базе данных Киотской энциклопедии генов и геномов (KEGG) были выявлены более 10 значительно обогащенных сигнальных путей (таблица 6, Приложение А).

Таблица 6—Анализ путей обогащения KEGG

Путь	Количество генов	Количество таргетных генов	p-value	FDR
Сигнальные пути, ассоциированные с раком	555	301	$2,94 \times 10^{-13}$	$2,00 \times 10^{-11}$
Автофагия у животных	146	106	$2,95 \times 10^{-16}$	$5,03 \times 10^{-14}$
PI3K-Akt сигнальный путь	372	197	$5,38 \times 10^{-8}$	$6,55 \times 10^{-7}$
Транскрипционная дисрегуляция в раке	206	113	0,00000452	0,0000280
Ras сигнальный путь	241	124	0,0000892	0,000380
Фокальная адгезия	213	135	$8,89 \times 10^{-13}$	$4,33 \times 10^{-11}$
Клеточный цикл	129	89	$8,25 \times 10^{-12}$	$2,81 \times 10^{-10}$
MAPK- сигнальный путь	329	172	0,00000114	0,00000924
HIF-1 сигнальный путь	112	67	0,00000954	0,0000561
Экспрессия PD-L1 и путь контрольной точки PD-1 при раке	101	53	0,00525	0,0157
Почечно-клеточная карцинома	70	56	$4,17 \times 10^{-12}$	$1,58 \times 10^{-10}$
Hippo-сигнальный путь	164	98	$9,58 \times 10^{-8}$	0,00000109

Анализ обогащения сигнальных путей подчеркивает сложную сеть молекулярных взаимодействий между микроРНК и фундаментальными сигнальными путями при скПКК в контексте ответа на иммунотерапию ингибиторами контрольных точек иммунного ответа. Ключевые находки демонстрируют, что дисрегуляция микроРНК в плазме пациентов функционально интегрирована с основными онкогенными и туморсупрессивными путями, определяя эффективность терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета. Представленная характеристика отражает многоуровневую молекулярную адаптацию опухоли, при которой

координированные изменения экспрессии ключевых миРНК и основных сигнальных путей обеспечивают интеграцию процессов метаболической репрограммации, иммунной модуляции и перестройки контроля клеточного цикла, что открывает перспективы для персонализированных терапевтических подходов.

В дополнение мы решили проанализировать статистически значимые миРНК и их роль в регуляции сигнальных путей, задействованных в ответе на иммунотерапию ингибиторами контрольных точек иммунитета при светлоклеточном почечно-клеточном раке (рисунок 8–10, таблица 7).

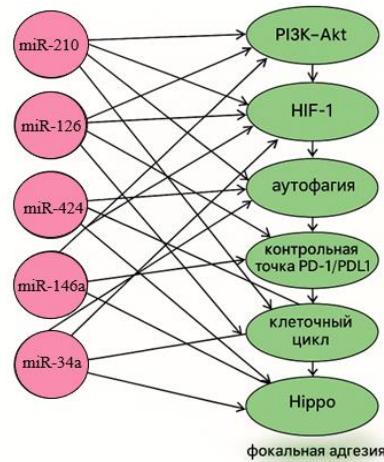


Рисунок 8 – Сетевая диаграмма взаимосвязей миРНК и сигнальных путей в светлоклеточном почечно-клеточном раке в контексте иммунотерапии

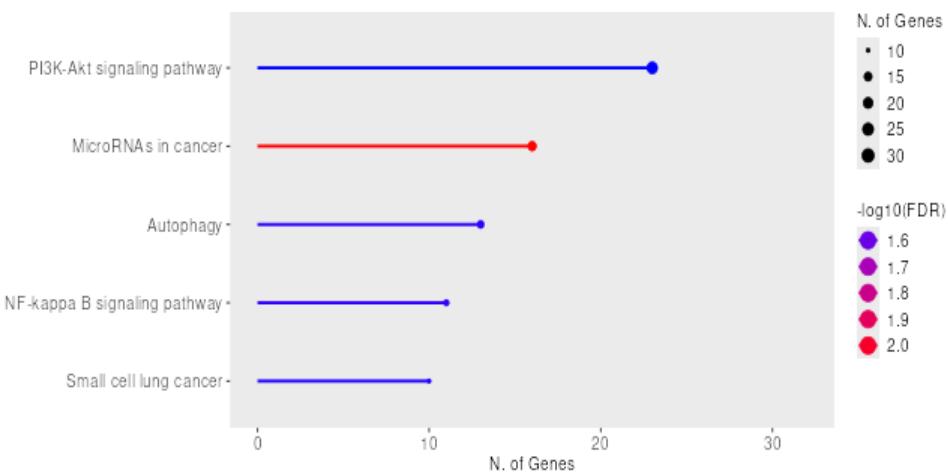
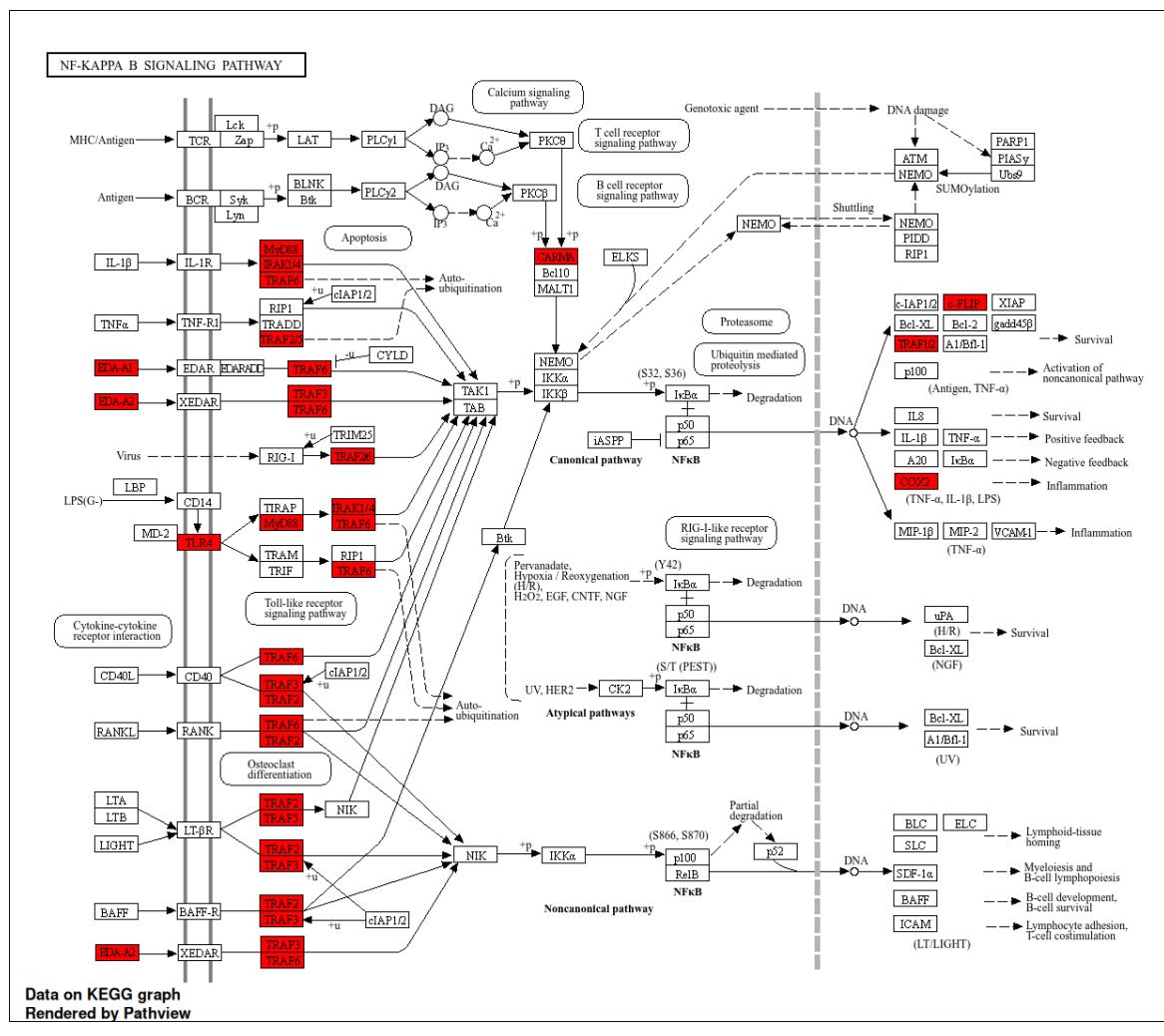


Рисунок 9 – Анализ обогащения общих сигнальных путей для значимых миРНК при иммунотерапии светлоклеточного почечно-клеточного рака по данным базы KEGG



a)

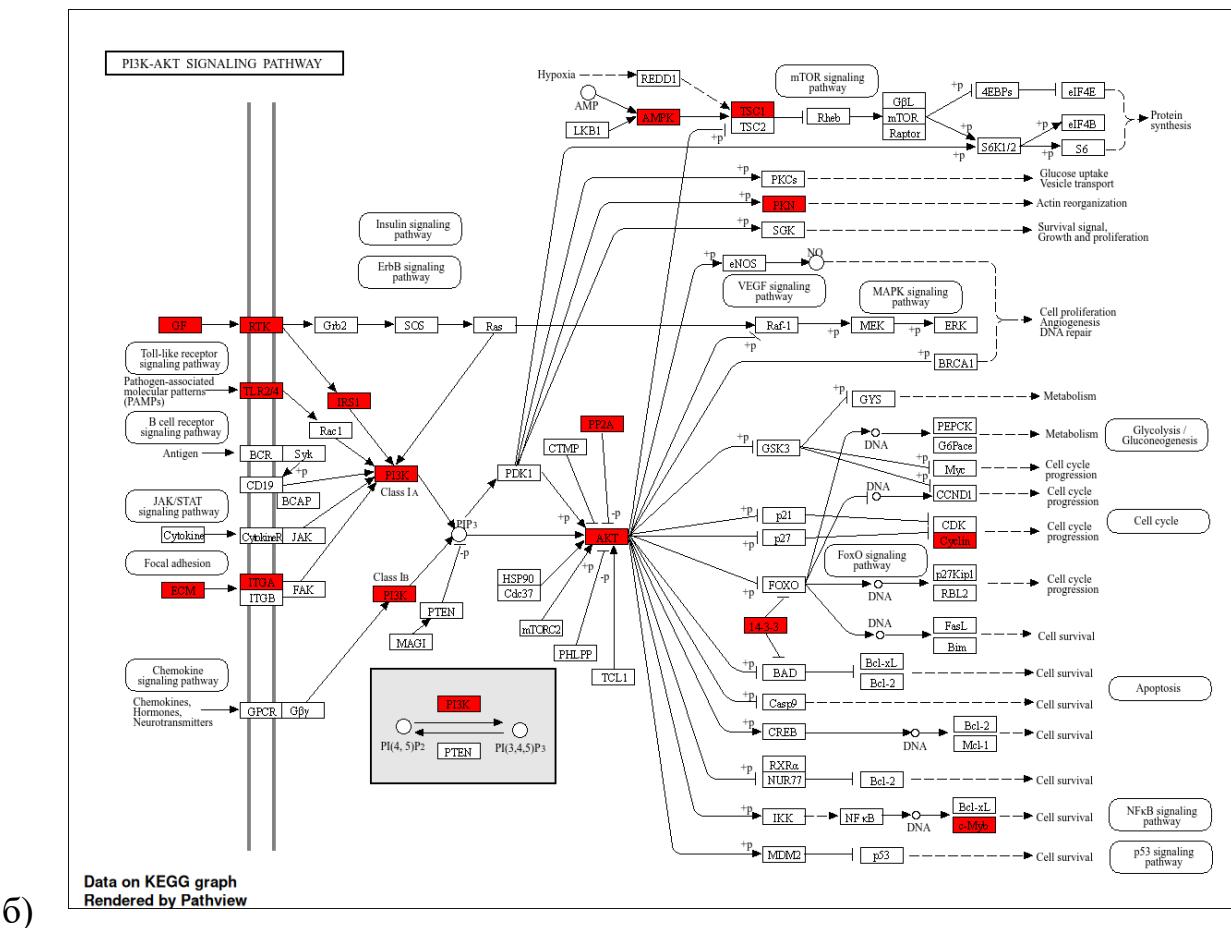


Рисунок 10 – Сигнальные пути NF-kappa B (а) и PI3K-Akt (б) с генами-мишениями статистически значимых микроРНК согласно базам данных KEGG

Таблица 7 – Обогащенные биологические пути по данным базы KEGG для значимых микроРНК при иммунотерапии светлоклеточного почечно-клеточного рака

Название сигнального пути	Количество генов-мишеней	Количество генов сигнального пути	Кратность обогащения	FDR обогащения
Сигнальный путь PI3K-Akt	23	354	2,1	$2,8 \times 10^{-2}$
Сигнальный путь NF-kappa B	11	104	3,5	$2,8 \times 10^{-2}$
Сигнальный путь автофагии	13	141	3	$2,8 \times 10^{-2}$
МикроРНК при раке	16	161	3,3	$8,9 \times 10^{-3}$

Мелкоклеточный рак лёгкого	10	92	3,6	$2,8 \times 10^{-2}$
----------------------------	----	----	-----	----------------------

miR-210 представляет собой ключевую гипоксия-регулируемую миРНК, находящуюся под прямым контролем факторов, индуцируемых гипоксией, HIF-1 α и HIF-2 α . Повышенная экспрессия miR-210 после иммунотерапии отражает адаптивный ответ опухолевых клеток на изменения микроокружения (Nakada et al., 2011; McCormick et al., 2013; Liu et al., 2016).

Несмотря на то, что прямые клинические подтверждения воздействия miR-210 на ответ на ИКТИ отсутствуют, её участие в формировании иммуносупрессивной гипоксической микросреды делает этот миРНК востребованной мишенью для сочетания с ИКТИ.

В контексте PI3K/AKT сигнализации miR-210 проявляет онкогенную активность через подавление EFNA3 — негативного регулятора данного пути. Это приводит к усилению фосфорилирования АКТ, стимулируя выживание опухолевых клеток, ангиогенез и формирование резистентности к апоптозу. Дополнительно miR-210 влияет на метаболическую репрограммацию через таргетирование фермента сборки железосерных кластеров ISCU, критического компонента электрон-транспортной цепи митохондрий (McCormick et al., 2013; Liu et al., 2016).

miR-126 функционирует как супрессор опухолей, особенно в регуляции ангиогенеза и поддержании сосудистой стабильности. Снижение экспрессии miR-126 после терапии представляет особый клинический интерес, поскольку может указывать на активацию проангиогенных процессов (Yang et al., 2022).

Механистически miR-126 является мощным негативным регулятором PI3K/AKT пути через прямое таргетирование PIK3R2 (регуляторная субъединица p85 β) и IRS-1. Снижение miR-126 приводит к раствормаживанию АКТ-сигналинга, что способствует клеточному выживанию и резистентности к апоптозу. В МАРК каскаде miR-126 регулирует экспрессию VEGF-A и модулирует ERK-сигналинг

через таргетирование SPRED1, при этом ее снижение активирует VEGF/VEGFR-2/ERK каскад (Lu et al ,2018; Yang et al., 2022).

miR-424 демонстрирует повышенную экспрессию после иммунотерапии, что связано с активацией клеточных защитных механизмов. Ключевое значение имеет способность miR-424 напрямую таргетировать PD-L1/PD-1 сигнальный путь через связывание с 3'-нетранслируемой областью PD-L1 и CD80. Повышение miR-424 может представлять компенсаторный механизм подавления иммуносупрессивных сигналов и усиления противоопухолевого иммунного ответа (Xu et al., 2016).

В аспекте автофагии miR-424 выполняет супрессивную функцию через таргетирование ATG14 — ключевого компонента автофагического комплекса, что приводит к снижению LC3-II/LC3-I и Beclin1 при одновременном увеличении p62. Относительно PI3K/AKT сигнализации miR-424 активирует данный путь через прямое подавление PTEN, способствуя выживанию клеток в условиях гипоксии.

miR-146a функционирует как центральный регулятор воспалительного ответа и иммунной толерантности. Повышение экспрессии после иммунотерапии отражает активацию негативных регуляторных механизмов воспаления. Основными мишениями являются IRAK1 и TRAF6 — ключевые адаптерные молекулы между TLR и NF-κB. Повышение miR-146a представляет механизм ограничения избыточного воспалительного ответа и предотвращения иммунопатологии (King et al., 2022; Teng et al., 2022).

Совокупность данных указывает на двойственную роль miR-146a: она снижает гиперактивацию иммунитета, потенциально уменьшая иоНЯ и одновременно ассоциируется с лучшим клиническим эффектом, что подчёркивает её ценность как предсказателя баланса «эффективность/токсичность».

miR-146a также играет критическую роль в ограничении IL-17-опосредованного воспаления через таргетирование RIPK2 в миелоидных клетках. Дополнительно данная микроРНК модулирует экспрессию PD-L1 и эффективность

иммунотерапии через подавление STAT1/IFN- γ оси, что может снижать противоопухолевый иммунный ответ (Gilyazova et al., 2023).

miR-34a представляет собой прямой транскрипционный таргет p53 и ключевой медиатор p53-зависимых опухоль-супрессивных функций. Повышение экспрессии после иммунотерапии указывает на активацию противоопухолевых механизмов. miR-34a таргетирует множественные регуляторы клеточного цикла, включая E2F1, E2F2, E2F3, CDC25A и циклины. Повышение miR-34a приводит к аресту клеточного цикла в G1/S фазе и активации апоптоза (Chang et al., 2007; Hermeking, 2010; Otsuka et al., 2014).

Клинически значимым является способность miR-34a напрямую таргетировать PD-L1, подавляя его экспрессию и потенциально усиливая противоопухолевый иммунный ответ. miR-34a также играет ключевую роль в коррекции транскрипционной дисрегуляции через регуляцию множественных онкогенов, включая c-MYC, NOTCH1 и циклин D1 (Chang et al., 2007).

Таким образом, анализ позволил выявить три основных интегративных механизма регуляции: 1) метаболическую репрограммирование: повышение miR-210 и снижение miR-126 создают метаболический профиль, благоприятствующий опухолевой адаптации через активацию гликолиза и PI3K/AKT-зависимых процессов); 2) иммуномодуляцию: координированное повышение miR-424, miR-146a и miR-34a представляет адаптивный ответ, направленный на усиление противоопухолевого иммунитета при ограничении воспалительной патологии; 3) регуляцию клеточного цикла. Повышение miR-210, miR-34a и miR-424 создает комплексную регуляторную сеть множественных контрольных точек (Chang et al., 2007).

3.4. Метиломный анализ

В результате анализа данных полногеномного бисульфитного секвенирования между ответчиками и неответчиками было выявлено 1297 DMR (Differentially Methylated Region) – это участок ДНК, где наблюдается значительное

изменение уровня метилирования между различными образцами, условиями или временными периодами, при $p.\text{adj} = 0,01$ и разницы в метилировании в 25%. Из них 640 регионов гиперметилированы, а 657 гипометилированы (рисунок 11, Приложение Б).

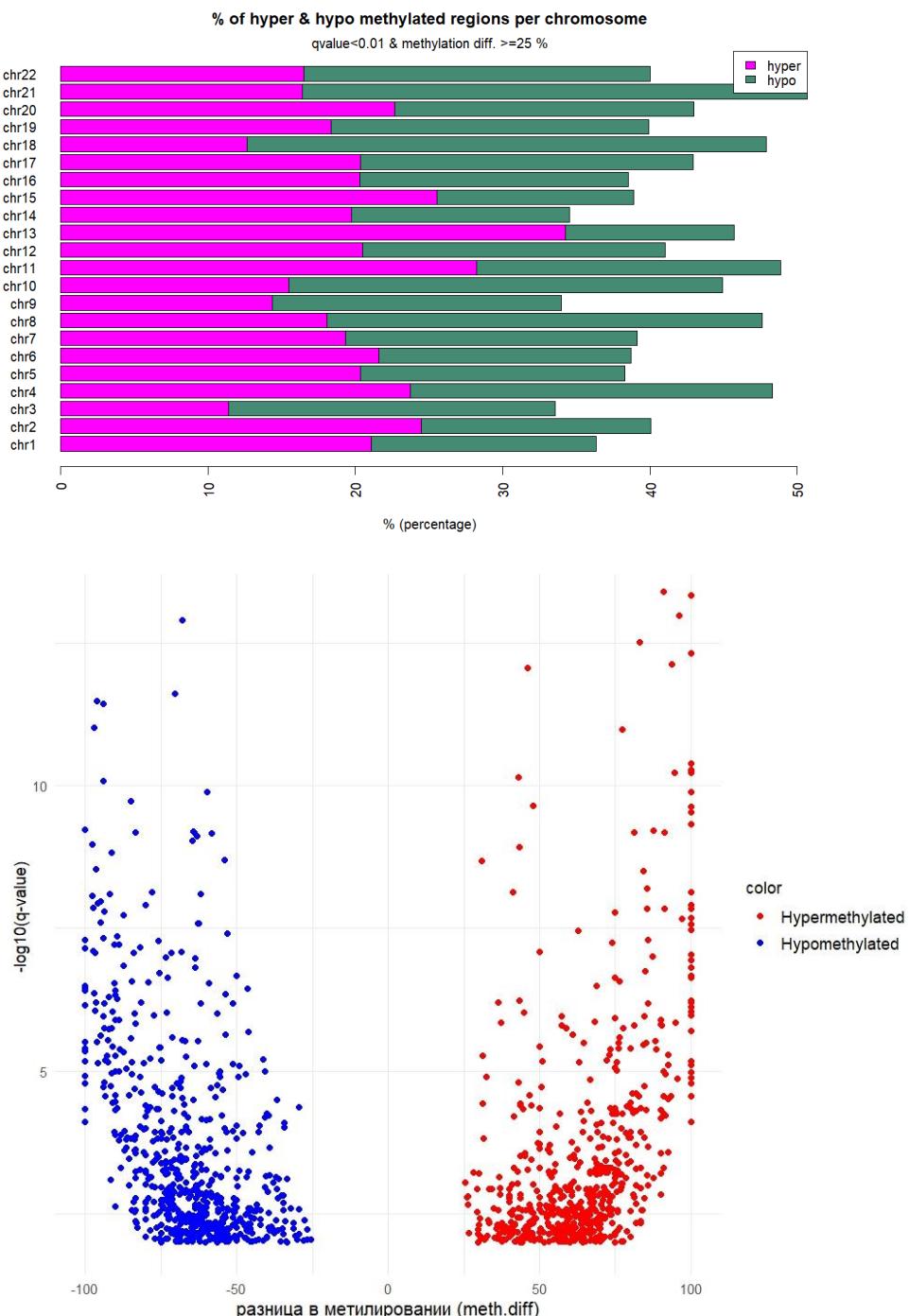


Рисунок 11 – Дифференциально метилированные регионы ДНК пациентов, демонстрирующих ответ на терапию против пациентов, не демонстрирующих ответ на терапию

Для проведения корреляционного анализа взаимосвязи между статусом метилирования и уровнем экспрессии из общего числа исследуемых генов была отобрана специфическая группа генов микроРНК. Отбор осуществлялся на основе предварительных результатов анализа экспрессии методом ПЦР в реальном времени, где приоритет отдавался микроРНК, демонстрирующим статистически значимые различия до и после терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета (рисунок 12, таблица 8).

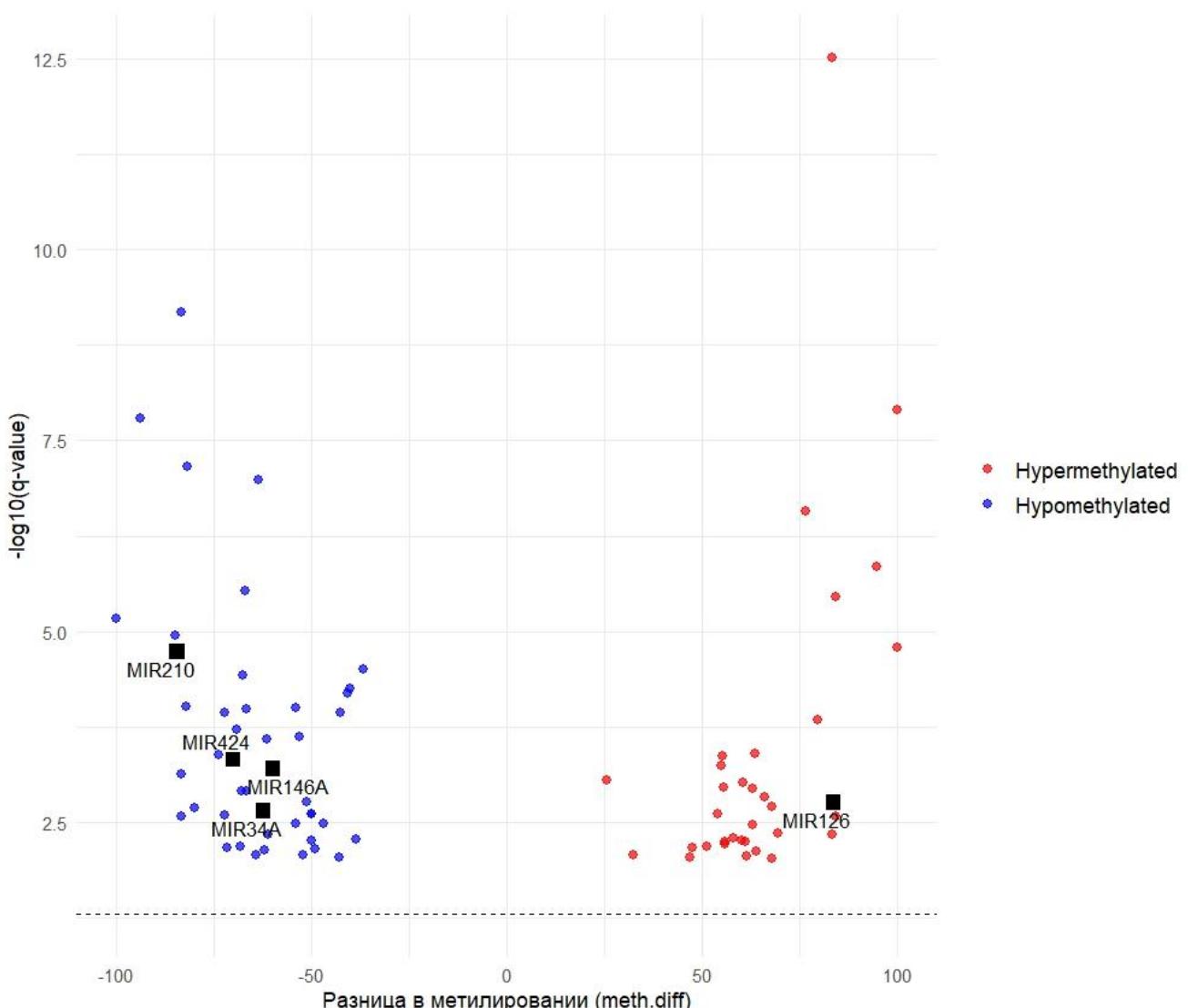


Рисунок 12 –Уровень метилирования микроРНК пациентов, демонстрирующих ответ на терапию против пациентов, не демонстрирующих ответ на терапию

Таблица 8 – Результаты анализа статуса метилирования генов микроРНК пациентов, демонстрирующих ответ на терапию ингибиторами контрольных точек иммунитета относительно пациентов, не отвечающих на терапию

FDR	Разница метилирования (meth.diff)	Статус метилирования	Ген
0,001703	83,33333333	Гиперметилирован	miR-126
0,000618	-60,02457002	Гипометилирован	miR-146a
0,002199	-62,5	Гипометилирован	miR-34a
0,000466	-70,16317016	Гипометилирован	miR-424
$1,79 \times 10^{-5}$	-84,61538462	Гипометилирован	miR-210
$6,77 \times 10^{-6}$	-100	Гипометилирован	miR-4462
$1,14 \times 10^{-5}$	-84,78664193	Гипометилирован	miR-3177
0,002668	-83,33333333	Гипометилирован	miR-5700
$6,72 \times 10^{-10}$	-83,33333333	Гипометилирован	miR-12131
0,000729	-83,33333333	Гипометилирован	miR-5194
$9,46 \times 10^{-5}$	-82,05128205	Гипометилирован	miR-4758
$6,88 \times 10^{-8}$	-81,81818182	Гипометилирован	miR-12131
0,002053	-80	Гипометилирован	miR-4656
0,000412	-73,68421053	Гипометилирован	miR-1202
0,000117	-72,22222222	Гипометилирован	miR-6880
0,002484	-72,22222222	Гипометилирован	miR-4283-1
0,006795	-71,57894737	Гипометилирован	miR-4274
0,000189	-69,04761905	Гипометилирован	miR-153-2
0,006494	-68,18181818	Гипометилирован	miR-378C
0,001217	-67,85714286	Гипометилирован	miR-12115
$3,77 \times 10^{-5}$	-67,48271889	Гипометилирован	miR-8078
$2,93 \times 10^{-6}$	-67,04545455	Гипометилирован	miR-595
0,001212	-66,7989418	Гипометилирован	miR-8078
0,008343	-64,1509434	Гипометилирован	miR-8073
$1,05 \times 10^{-7}$	-63,63636364	Гипометилирован	miR-4251
0,00726	-62,05357143	Гипометилирован	miR-4689
0,000258	-61,53846154	Гипометилирован	miR-637
0,004565	-61,11111111	Гипометилирован	miR-1301
0,000101	-54,07989075	Гипометилирован	miR-153-2
0,0033	-53,94548063	Гипометилирован	miR-3199-1
0,000242	-53,06122449	Гипометилирован	miR-4530
0,008522	-52,10727969	Гипометилирован	miR-7850
0,001684	-51,14285714	Гипометилирован	miR-6787
0,002422	-50	Гипометилирован	miR-765
0,002422	-50	Гипометилирован	miR-5587

0,005495	-50	Гипометилирован	miR-1302-7
0,007024	-48,96810507	Гипометилирован	miR-4644
0,00332	-47,05882353	Гипометилирован	miR-3689C
0,008967	-42,85714286	Гипометилирован	miR-602
0,000117	-42,68852459	Гипометилирован	miR-3667
$6,5 \times 10^{-5}$	-40,66666667	Гипометилирован	miR-8078
$5,51 \times 10^{-5}$	-40,19379845	Гипометилирован	miR-4655
0,005229	-38,68563686	Гипометилирован	miR-10396A
$3,12 \times 10^{-5}$	-36,87002653	Гипометилирован	miR-8078
0,000897	25,47604967	Гиперметилирован	miR-6774
0,008478	32,22222222	Гиперметилирован	miR-6769A
0,009016	46,875	Гиперметилирован	miR-4758
0,006842	47,47690121	Гиперметилирован	miR-6716
0,006585	51,13122172	Гиперметилирован	miR-9-3HG
0,002422	53,84615385	Гиперметилирован	miR-3182
0,000571	54,83375959	Гиперметилирован	miR-153-2
0,000419	55	Гиперметилирован	miR-3529
0,001104	55,56338028	Гиперметилирован	miR-153-2
0,006078	55,81395349	Гиперметилирован	miR-7155
0,005644	55,88235294	Гиперметилирован	miR-5087
0,004976	58,01713586	Гиперметилирован	miR-4744
0,005367	60	Гиперметилирован	miR-6124
0,000956	60,41666667	Гиперметилирован	miR-4472-2
0,005684	61,11111111	Гиперметилирован	miR-4634
0,008592	61,2244898	Гиперметилирован	miR-4283-2
0,00113	62,73712737	Гиперметилирован	miR-548
0,003405	62,96296296	Гиперметилирован	miR-4472-1
0,000392	63,37209302	Гиперметилирован	miR-4274
0,007589	63,75	Гиперметилирован	miR-554
0,001445	65,85365854	Гиперметилирован	miR-12118
0,009287	67,80487805	Гиперметилирован	miR-4748
0,001958	67,85714286	Гиперметилирован	miR-595
0,004412	69,44444444	Гиперметилирован	miR-6779
$2,63 \times 10^{-7}$	76,47058824	Гиперметилирован	miR-4313
$3,11 \times 10^{-13}$	83,14606742	Гиперметилирован	miR-593
0,004542	83,21678322	Гиперметилирован	miR-5190
0,002668	83,97435897	Гиперметилирован	miR-4721
$3,45 \times 10^{-6}$	84,21052632	Гиперметилирован	miR-5683
$1,4 \times 10^{-6}$	94,73684211	Гиперметилирован	miR-3201
$1,65 \times 10^{-5}$	100	Гиперметилирован	miR-4261
$1,24 \times 10^{-8}$	100	Гиперметилирован	miR-1294

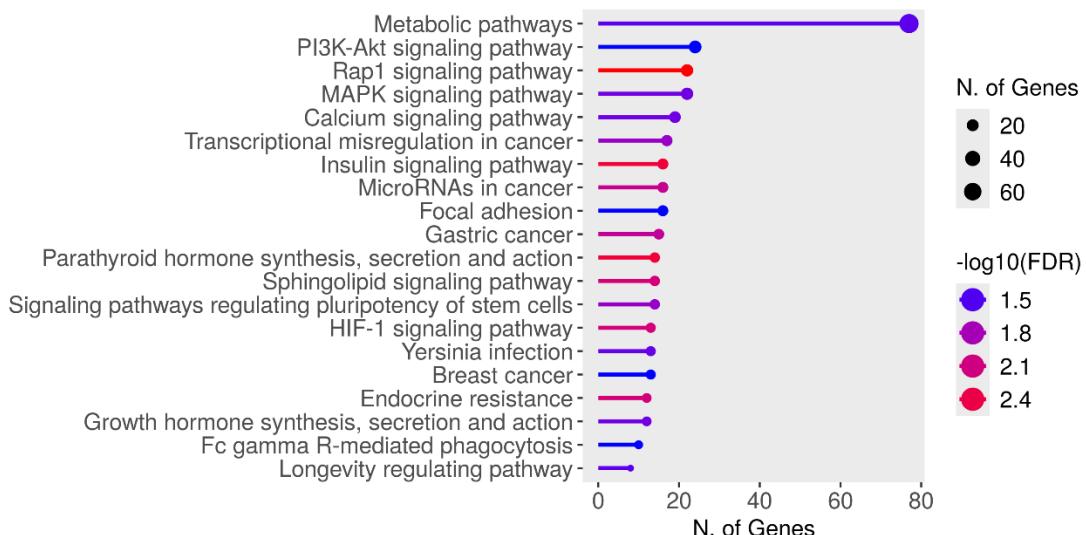
Результаты анализа показывают, что статус метилирования промоторных регионов миРНК тесно коррелирует с их экспрессией при скПКР (таблица 9).

Таблица 9 – Дифференциально экспрессированные миРНК, которые коррелируют со статусом метилирования миРНК

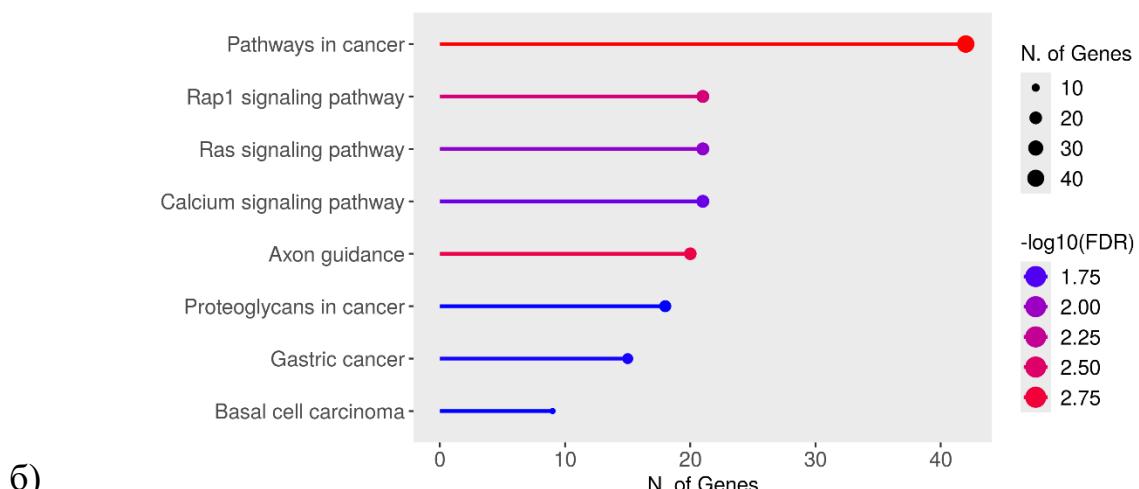
миРНК	Критерий ранговой корреляции Спирмена r_s	p-value
miR-126	0,7381	0,04
miR-146a	0,8801	0,007
miR-210	0,7619	0,03
miR-34a	0,7857	0,02
miR-424	0,8571	0,01

Далее нами проведен анализ обогащения сигнальных путей по базе данных KEGG с помощью инструмента ShinyGO версии 0.77 для гиперметилированных и гипометилированных генов соответственно (рисунок 13, таблица 10, таблица 11).

Гиперметилированные гены задействованы в метаболических путях, связанных с гликолизом, метаболизмом глюкозы и липидов, что свидетельствует о системных изменениях метаболизма иммунных клеток, связанных с реагированием на терапию или другими адаптационными эффектами, тогда как гипометилированные гены преимущественно активированы в путях, связанных с противоопухолевым иммунным ответом, а именно активацией ключевых регуляторов иммунного ответа, пролиферации и межклеточного взаимодействия, таких как эффекторные и регуляторные Т-клетки, натуральные киллеры, сигнальные молекулы PD-1, PD-L1, CTLA-4, а также транскрипционные факторы NF-κB, STAT и HIF-1α, которые обеспечивают распознавание опухолевых антигенов, продукцию провоспалительных цитокинов, костимуляцию, время жизни и миграцию иммунных клеток, а также баланс между подавляющими и активирующими сигналами в опухолевом микроокружении, что ведёт к усилиению противоопухолевого иммунного ответа. Полученные данные подтверждают роль эпигенетических изменений играют в формировании ответа на иммунотерапию при скПКК.



а)



б)

Рисунок 13 – Анализ обогащения сигнальных путей гиперметилированных (а) и гипометилированных (б) генов по данным базы KEGG

Таблица 10 – Обогащенные биологические пути по данным базы KEGG, ассоциированные с гипометилированными генами у пациентов, демонстрирующих ответ на терапию

Название сигнального пути	Количество генов-мишеней	Количество генов сигнального пути	Кратность обогащения	FDR обогащения
Пути при раке	42	530	2,1	$1,1 \times 10^{-3}$
Направление аксона	20	181	3	$2,1 \times 10^{-3}$

Сигнальный путь Rap1	21	210	2,7	$3,9 \times 10^{-3}$
Сигнальный путь Ras	21	231	2,4	$1,2 \times 10^{-2}$
Кальциевый сигнальный путь	21	240	2,4	$1,6 \times 10^{-2}$
Рак желудка	15	148	2,7	$2,1 \times 10^{-2}$
Протеогликаны при раке	18	202	2,4	$2,1 \times 10^{-2}$
Базальноклеточная карцинома	9	63	3,8	$2,1 \times 10^{-2}$

Таблица 11 – Обогащенные биологические пути по данным базы KEGG, ассоциированные с гиперметилированными генами у пациентов, демонстрирующих ответ на терапию

Название сигнального пути	Количество генов-мишеней	Количество генов сигнального пути	Кратность обогащения	FDR обогащения
Метаболические пути	77	1527	1,4	$3,0 \times 10^{-2}$
Пути при раке	32	530	1,7	$4,1 \times 10^{-2}$
Сигнальный путь PI3K-Akt	24	354	1,9	$3,7 \times 10^{-2}$
Сигнальный путь Rap1	22	210	2,9	$2,1 \times 10^{-3}$
Сигнальный путь МАРК	22	294	2,1	$2,7 \times 10^{-2}$
Кальциевый сигнальный путь	19	240	2,2	$2,7 \times 10^{-2}$
Нарушение транскрипционной регуляции при раке	17	192	2,5	$1,9 \times 10^{-2}$
Инфекция цитомегаловирусом человека	17	224	2,1	$4,1 \times 10^{-2}$
Сигнальный путь инсулина	16	137	3,3	$3,3 \times 10^{-3}$
МикроРНК при раке	16	161	2,8	$9,7 \times 10^{-3}$
Фокальная адгезия	16	200	2,2	$3,7 \times 10^{-2}$
Рак желудка	15	148	2,8	$1,1 \times 10^{-2}$
Синтез, секреция и действие паратиреоидного гормона	14	106	3,7	$3,3 \times 10^{-3}$

Сигнальный путь сфинголипидов	14	119	3,3	$7,0 \times 10^{-3}$
Сигнальные пути, регулирующие плюрипотентность стволовых клеток	14	143	2,7	$1,9 \times 10^{-2}$
Сигнальный путь HIF-1	13	109	3,3	$7,3 \times 10^{-3}$
Инфекция иерсинией	13	137	2,6	$2,8 \times 10^{-2}$
Рак молочной железы	13	147	2,5	$3,7 \times 10^{-2}$
Сигнальный путь Hippo	13	157	2,3	$4,5 \times 10^{-2}$
Эндокринная устойчивость	12	95	3,5	$7,3 \times 10^{-3}$

Выявленное в нашем исследовании доминирование метаболических путей среди гиперметилированных генов находит прямое подтверждение в работах, описывающих роль метаболической трансформации в резистентности к иммунотерапии.

Раковые клетки уже давно претерпевают метаболические изменения. Исследования показали, что раковые клетки манипулируют метаболическими путями, такими как окисление жирных кислот, метаболизм аминокислот и митохондриальная динамика, для поддержания своего роста и выживания (Boroughs et al., 2015). Согласно последним исследованиям, эти метаболические изменения способствуют росту опухолей и возникновению резистентности к иммунотерапии. Исследования взаимосвязи между иммунными механизмами и метаболизмом рака дают представление о патофизиологии рака и его резистентности к лечению (Zhang et al., 2024). Эффект Варбурга, характеризующийся повышенным аэробным гликолизом и продукцией лактата, способствует иммуносупрессивному и кислотному микроокружению, которое еще больше поддерживает прогрессирование опухоли и уклонение от иммунитета(Lyssiotis et al., 2017; Klein et al., 2020;).

Метаболический ландшафт ТМЕ также способствует резистентности к ИКТИ истощая запасы необходимых питательных веществ. Как иммунные, так и опухолевые клетки полагаются на критически важные ресурсы, такие как глюкоза

и аминокислоты, для удовлетворения своих биоэнергетических, биосинтетических и окислительно-восстановительных потребностей. Тем не менее, опухоли часто вытесняют иммунные клетки за эти питательные вещества, что приводит к нехватке питательных веществ, которые могут ослаблять противоопухолевые иммунные ответы и способствовать резистентности к ИКТИ (Cabezón-Gutiérrez et al., 2025).

Например, опухолевые клетки изменяют доступность основных питательных веществ и вырабатывая токсичные побочные продукты, которые ухудшают активность цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров. Накопление лактата, нарушение нормы липидного обмена и истощение аминокислот способствуют формированию иммуносупрессивного TME (Cabezón-Gutiérrez et al., 2025).

Гипоксия, обычно присутствующая при солидных опухолях, вызывает стабилизацию индуцируемого гипоксией фактора 1 альфа, который регулирует различные метаболические и иммунные реакции. Индуцируемый гипоксией фактор 1 альфа индуцирует экспрессию гликолитических ферментов и молекул иммунных контрольных точек, таких как PD-L1, способствуя уклонению от иммунитета (Basheeruddin et al., 2024). Гипоксия также вызывает накопление лактата, усугубляя иммуносупрессию за счет ограничения инфильтрации и функции иммунных клеток. Аномальные кровеносные сосуды, образующиеся в условиях гипоксии, препятствуют доступу иммунных клеток к опухоли. Митохондриальная трансформация в раковых клетках влияет как на метаболизм, так и на иммунный ответ. В то время как многие виды рака зависят от гликолиза, некоторые опухоли зависят от окислительного фосфорилирования для производства энергии (Basheeruddin et al., 2024). Активные формы кислорода, производимые высокой митохондриальной активностью в раковых клетках, подавляют функцию Т-клеток и увеличивают экспрессию иммунных контрольных точек. На выживаемость раковых клеток и их устойчивость к иммуноопосредованному апоптозу также влияет измененная митохондриальная динамика, включая деление и слияние (Shende et al., 2025).

Метаболическая трансформация не только влияет на иммунные клетки, но и усиливает рекрутование иммуносупрессивных клеток, таких как регуляторные Т-клетки, миелоидные супрессорные клетки и опухолеассоциированные макрофаги, которые вносят свой вклад в иммуносупрессивную среду (Wang et al., 2024). Побочные продукты метаболизма, такие как лактат и кинуренин, используются опухолевыми клетками для привлечения регуляторных Т-клеток, которые подавляют противоопухолевые иммунные реакции. Окисление жирных кислот еще больше содействует функции регуляторных Т-клеток и выживанию. Опухолеассоциированные макрофаги также смещаются к M2-фенотипу, усиливающему иммунную супрессию, тогда как миелоидные супрессорные клетки, активируемые лактатом и гипоксией, подавляют Т-клеточные реакции через истощение аргинина и выработку реактивных форм кислорода (Luby et al., 2021). В ряду гипометилированных генов наблюдается обогащение компонентов кальциевого сигнального пути, что согласуется с данными предыдущих исследований метилирования при различных типах рака. Так, в исследовании Gregório Cl. с соавторами анализ путей выявил дифференциально метилированные гены в кальциевом сигнальном пути, который связан с ключевыми путями канцерогенеза поджелудочной железы. Метилирование ДНК коррелировало с экспрессией, а подгруппа кальциевых сигнальных генов была связана с ОВ, усиливая его вероятный фенотипический эффект (Gregório et al., 2020). В другом исследовании изучался статус метилирования ДНК и его связь с экспрессией генов в 12 типах солидного рака, полученных из Атласа генома рака (<https://www.cancer.gov/ccg/research/genome-sequencing/tcga>, The Cancer Genome Atlas Program, TCGA). Результаты показали, что глобальное гиперметилирование является важной характеристикой для всех 12 типов рака. Более того, у раковых опухолей было больше эпигенетически молчящих, чем эпигенетически активированных генов. Дальнейший анализ выявил эпигенетически молчание гены, общие для кальциевого сигнального пути у различных типов рака, включая

Среди обнаруженных гиперметилированных генов присутствуют гены, относящиеся к сигнальному пути PI3K/AKT, который играет критическую роль в развитии ПКР (Miricescu et al., 2021). Путь PI3K/AKT генетически изменен в большем количестве компонентов и типов опухолей, чем любой другой сигнальный путь фактора роста(Guo et al., 2015).

Гиперактивация молекулярного пути PI3K/AKT/mTOR коррелирует с агрессивным поведением опухолей почечно-клеточного рака и плохим прогнозом для пациента. Этот путь участвует в синтезе белков и нуклеотидов, метаболизме липидов и глюкозы, ангиогенезе, выживаемости и пролиферации клеток (Husseinzadeh et al., 2011).Согласно имеющимся данным, подавление регуляторов пути PI3K/AKT/mTOR, что ведет к снижению активности этого сигнального каскада, ассоциируется с улучшением чувствительности опухолевых клеток к терапии и более благоприятным клиническим ответом у пациентов. Известно, что ингибирование этого пути значительно улучшает выживаемость без прогрессирования (PFS) у пациентов с различными солидными опухолями, включая рак почки, молочной железы (Li et al.,2018). Также комбинированные терапии, направленные одновременно на PI3K/AKT/mTOR и другие сигнальные пути (например, MAPK), способствуют преодолению лекарственной резистентности и усилию противоопухолевого эффекта (Afify et al.,2021). Эпигенетическое подавление негативных регуляторов этого пути через гиперметилирование может способствовать его чрезмерной активации и формированию резистентности к иммунотерапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В структуре онкологических заболеваний у пациентов со светлоклеточным почечно-клеточным раком иммунотерапия ингибиторами контрольных точек иммунитета демонстрирует значимые клинические результаты, однако до настоящего времени лишь часть пациентов демонстрирует клинический ответ на терапию. Высокая гетерогенность опухолевой микросреды и вариабельность активности иммунного надзора приводят к тому, что прогноз эффективности иммунотерапии ингибиторами контрольных точек иммунного ответа остаётся непредсказуемым. В связи с этим критически важно выявление и валидация биомаркеров, способных заранее определить группу пациентов, наиболее чувствительных к данной группе препаратов. Особый интерес в этом отношении представляют экзосомальные микроРНК, циркулирующие в биологических жидкостях ввиду того, что они обладают стабильностью, селективностью и отражают молекулярный статус опухоли, что делает их перспективными кандидатами для прогнозирования ответа на терапию и развития персонализированных стратегий лечения.

В работе проанализированы 86 образцов ДНК пациентов со светлоклеточным почечно-клеточным раком, получавших терапию ингибиторами контрольных точек иммунитета, а также 50 парных образцов плазмы пациентов, отобранных до и после терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета. В результате комплексного изучения уровня экспрессии 31 микроРНК методом ПЦР в режиме реального времени с последующим проведением полногеномного бисульфитного секвенирования, а также анализа ассоциаций генотипов и аллелей полиморфных вариантов гена *miR-146a* удалось выявить характерные паттерны экспрессии и метилирования микроРНК, отражающие индивидуальные особенности иммунного ответа и предсказывающие клиническую эффективность иммунотерапии. Идентифицированы пять дифференциально экспрессируемых экзосомальных микроРНК (*miR-126-3p*, *miR-146a-5p*, *miR-424-5p*, *miR-34a-5p*, *miR-210-3p*), как потенциальные прогностические биомаркеры эффективности иммунотерапии

ингибиторами контрольных точек иммунитета. В результате проведенного полногеномного бисульфитного секвенирования обнаружено 1297 дифференциально метилированных региона у пациентов с полным ответом на терапию, среди них 640 демонстрируют гиперметилирование, а 657-гипометилирование по сравнению с пациентами, не демонстрирующими ответ на терапию.

Также выявлена корреляция между степенью изменения экспрессии этих микроРНК и выраженностью ответа на терапию согласно критериям оценки ответа на терапию солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST 1.1.). У пациентов с полным клиническим ответом на ингибиторы контрольных точек иммунитета выявлено понижение метилирования генов *miR-146a*, *miR-424*, *miR-34a* и *miR-210* при одновременном повышении метилирования гена *miR-126-3p*, что тесно коррелирует с уровнем экспрессии соответствующих микроРНК.

В результате комплексного выявления и характеристики регуляторных механизмов микроРНК-опосредованного контроля противоопухолевого иммунного ответа впервые продемонстрировано, что дифференциально экспрессируемые микроРНК не функционируют изолированно, а образуют интегрированную регуляторную систему, осуществляющую координированное воздействие на ключевые сигнальные каскады иммунотерапевтического ответа NF-κB и PI3K/АКТ. Данные микроРНК формируют регуляторную сеть, где *miR-146a* контролирует интенсивность воспалительного ответа, *miR-34a* и *miR-424* регулируют экспрессию иммунных контрольных точек, *miR-126* модулирует состав опухолевого микроокружения и ангиогенез, а *miR-210* адаптирует метаболические аспекты противоопухолевого иммунитета в условиях тканевой гипоксии.

Выявлена ассоциация генотипа СС и аллеля С полиморфного локуса rs2910164 гена *miR-146a* с высоким риском развития иммуноопосредованных нежелательных явлений при терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета, что представляет новое направление в персонализированной

медицине. miR-146a является важным регулятором иммунного ответа и воспалительных процессов, и ее полиморфизмы могут влиять на индивидуальную чувствительность к иммунотерапии. Обнаруженная ассоциация пониженной экспрессии miR-146a с высоким риском развития тяжелых иммуноопосредованных нежелательных явлений согласуется с ее ролью в регуляции воспалительного ответа.

Проведенное исследование представляет важный шаг в развитии персонализированной иммунотерапии светлоклеточного почечно-клеточного рака. Выявленные генетические и эпигенетические маркеры открывают новые возможности для улучшения отбора пациентов, оптимизации режимов лечения и предотвращения серьезных нежелательных явлений.

Комплексный подход, включающий анализ экзосомальных микроРНК, оценку эпигенетических модификаций и генетических полиморфизмов, соответствует современным тенденциям развития молекулярной онкологии. Полученные результаты могут стать основой для разработки клинических тест-систем и внедрения персонализированных протоколов иммунотерапии.

ВЫВОДЫ

1. Анализ экспрессии 31 гена экзосомальных микроРНК выявил 5 дифференциально экспрессируемых микроРНК у пациентов со светлоклеточным почечно-клеточным раком до и после терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета: miR-146a-5p (Fold Change= 1.730, p=0.006), miR-126-3p (Fold Change= 0.559, p=0.01), miR-424-5p (Fold Change= 1.561, p=0.03), miR-34a-5p (Fold Change= 2.150, p=0.02), miR-210-3p (Fold Change= 1.404, p=0.007).
2. Выявлена корреляция между уровнем экспрессии miR-146a-5p, miR-126-3p, miR-424-5p, miR-34a-5p, miR-210-3p и выраженнойостью ответа на терапию ингибиторами контрольных точек иммунитета у пациентов со светлоклеточным почечно-клеточным раком. Пациенты, у которых после терапии наблюдается статистически значимое повышение экспрессии miR-146a-5p ($r_s = -0,5604, p = 0,0004$), miR-34a-5p ($r_s = -0,4506, p = 0,0058$), miR-424-5p ($r_s = -0,5286, p = 0,0009$) и miR-210-3p ($r_s = -0,4665, p = 0,0041$), а также снижение уровня miR-126-3p ($r_s = 0,4811, p = 0,003$) чаще демонстрируют полный ответ на терапию ИКТИ согласно критериям оценки ответа на терапию солидных опухолей (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST 1.1.).
3. Маркерами повышенного риска развития тяжелых иммуноопосредованных нежелательных явлений на фоне терапии ИКТИ при светлоклеточном почечно-клеточном раке являются генотип rs2910164*CC и аллель rs2910164*C гена *miR-146a-5p*, коррелирующие со снижением ее экспрессии и ослаблением негативной регуляции генов IRAK1 и TRAF6, приводящей к иммунной гиперактивации.
4. В результате функционального анализа показано, что микроРНК со статистически значимыми изменёнными уровнями экспрессии образуют единую регуляторную сеть, которая модулирует эффективность иммунотерапии через сигнальные пути NF-кВ и PI3K/AKT. miR-210 и miR-126 опосредуют метаболическую адаптацию опухолевых клеток, направленно регулируя активность PI3K/AKT-каскада; miR-424 и miR-146a модулируют иммунный ответ через элементы NF-кВ-сигналинга; а miR-34a связывает оба пути, контролируя

клеточный цикл и снижая экспрессию PD-L1, что усиливает противоопухолевую активность иммунной системы.

5. По результатам полногеномного бисульфитного секвенирования выявлено 1297 дифференциально метилированных регионов, из которых 640 регионов гиперметилированы и 657 гипометилированы у пациентов с полным ответом на терапию ИКТИ по сравнению с пациентами, продемонстрировавшими прогрессирование заболевания при приеме данной группы препаратов.

6. Установлено снижение уровня метилирования генов *miR-146a-5p*, *miR-126-3p*, *miR-424-5p*, *miR-34a-5p*, *miR-210-3p* и повышение уровня метилирования гена *miR-126-3p* у пациентов с полным ответом на терапию ингибиторами контрольных точек иммунитета. Показано, что эпигенетические изменения коррелируют с результатами анализа экспрессии микроРНК: гипометилирование промоторных регионов генов *miR-146a-5p* ($r_s= 0,8801$, $p= 0,007$), *miR-424-5p* ($r_s= 0,8571$, $p=0,01$), *miR-34a-5p* ($r_s=0,7857$, $p= 0,02$) и *miR-210-3p* ($r_s= 0,7619$, $p= 0,03$) коррелирует с повышением их экспрессии, гиперметилирование гена *miR-126-3p* ($r_s=0,7381$, $p=0,04$) – со снижением экспрессии у пациентов с полным ответом на терапию ингибиторами контрольных точек иммунитета.

Список сокращений и условных обозначений

ПКР	Почечно-клеточный рак
ПКК	Почечно-клеточная карцинома
РП	Рак почки
скПКК	Светлоклеточная почечно-клеточная карцинома
мПКК	Метастатическая почечно-клеточная карцинома
ИКТИ	Ингибиторы контрольных точек иммунитета
ОВ	Общая выживаемость
ВБП	Выживаемость без прогрессирования
ЧОО	Частота объективного ответа
ЧПО	Частота полного ответа
VHL	ген фон Хиппеля-Линдау
HIF-2 α	фактор, индуцируемый гипоксией 2 α
VEGF	фактор роста эндотелия сосудов
PDGF	тромбоцитарный фактор роста
PBRM1	Polybromo-1
BAP1	BRCA1 associated protein-1
TME	Опухолевое микроокружение
mTOR	Млекопитающая/механистическая цель рапамицина
PD-1	Белок запрограммированной смерти 1
PD-L1	Лиганд белка запрограммированной смерти 1
CTLA-4	Цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок 4
HIF	Фактор, индуцируемый гипоксией
MHC	Главный комплекс гистосовместимости
SNP	Однонуклеотидный полиморфизм
иоНЯ	Иммуноопосредованные нежелательные явления
мРНК	Матричная РНК
нРНК	Некодирующая РНК
НМРЛ	Немелкоклеточный рак легкого

ЭМП	Эпителиально-мезенхимальный переход
EZH2	Гистонметилтрансфераза
BET	Белки-считыватели гистонов
IMDC, International mRCC Database Consortium	Международный консорциум базы данных по метастатическому почечно-клеточному раку,
RECIST, Response Evaluation Criteria in Solid Tumors	Критерии оценки ответа на терапию солидных опухолей
CTCAE, Common Terminology Criteria for Adverse Events	Общие терминологические критерии побочных эффектов
KEGG, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes	Киотская энциклопедия генов и геномов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Апанович Н.В. Метилирование группы генов микроРНК: маркеры прогноза метастазированием почечно-клеточного рака. / Н.В. Апанович, В.И. Логинов, Е.А. Филлипова и др. // Онкоурология. –2020. –16. –№4. – С. 32-38.
2. Асадуллина Д.Д. Исследование ассоциации полиморфных вариантов микроРНК-146а (rs57095329 и rs2910164) с эффективностью терапии почечно-клеточного рака ингибиторами контрольных точек иммунитета. / Д.Д. Асадуллина, И.Р. Гилязова, Е.А. Иванова и др. // Медицинская генетика. – 2022. – Т. 21. – № 7. – С. 11–15.
3. Асадуллина Д.Д. Экзосомальные микроРНК-146а и микроРНК-424 как возможные предикторы ответа на терапию ингибиторами иммунных контрольных точек при светлоклеточной почечно-клеточной карциноме. / Д.Д. Асадуллина, И.Р. Гилязова, Е.А. Иванова и др. // Генетика. – 2024. – Т. 60. – № 3. – С. 367–374.
4. Береснева Е.В. Гиперметилированные гены микроРНК как потенциальные маркеры светлоклеточного рака почки / Е.В. Береснева, В.И. Логинов, Д.С. Ходырев и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2017. –Т. 62. – № 1. – С. 13-18.
5. Гилязова И.Р. Герминальные мутации как возможные биомаркеры эффективности терапии ингибиторами контрольных точек иммунитета у пациентов с почечно-клеточной карциномой. / И.Р. Гилязова, Д.Д. Асадуллина, Е.А. Иванова и др. // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2022. – Т. 8. – № 2. – С. 164–179.
6. Гилязова И.Р. Экзосомальные микроРНК как возможные предикторы противоопухолевой эффективности ингибиторов контрольных точек иммунного ответа при светлоклеточной почечно-клеточной карциноме. / И.Р. Гилязова, Д.Д. Асадуллина, Е.А. Иванова и др. // Молекулярная медицина. – 2023. – Т. 21. – № 4. – С. 40–49.

7. Каприн А.Д. Состояние онкологической помощи населению России в 2024 году / А. Д. Каприн, В. В. Старинский, А. О. Шахзадова // М.: ФГБУ «МНИОИ им. ПА Герцена» Минздрава России. – 2025. – С.32.
8. Abou Alaiwi S. Safety and efficacy of restarting immune checkpoint inhibitors after clinically significant immune-related adverse events in metastatic renal cell carcinoma / S. Abou Alaiwi, W. Xie, A.H. Nassar, et al. // J. ImmunoTher. Cancer. – 2020. – Vol. 8. – № 1. – P. 000144.
9. Abruzzese M.P. Inhibition of bromodomain and extra-terminal (BET) proteins increases NKG2D ligand MICA expression and sensitivity to NK cell-mediated cytotoxicity in multiple myeloma cells: role of cMYC-IRF4-miR-125b interplay / M.P. Abruzzese, M.T. Bilotta, C. Fionda, et al. // J. Hematol. Oncol. – 2016. – Vol. 9. – № 1. –P. 134.
10. Adib E. CDKN2A Alterations and Response to Immunotherapy in Solid Tumors / E. Adib, A.H. Nassar, E.W. Akl, et al. // Clin. Cancer Res. – 2021. – Vol. 27. – № 14. – P. 4025–4035.
11. Afify SM. How can we turn the PI3K/AKT/mTOR pathway down? Insights into inhibition and treatment of cancer / S.M. Afify, A.K.K. Oo, G. Hassan et al. // Expert Rev Anticancer Ther. –2021. – Vol.21 –№6. – P. 605-619.
12. Angulo J.C. The Changing Therapeutic Landscape of Metastatic Renal Cancer / J.C. Angulo, O. Shapiro. // Cancers. – 2019. – Vol. 11. – № 9. – P. 1227.
13. Atzpodien J. Adjuvant treatment with interleukin-2- and interferon-alpha2a-based chemoimmunotherapy in renal cell carcinoma post tumour nephrectomy: Results of a prospectively randomised Trial of the German Cooperative Renal Carcinoma Chemoimmunotherapy Group (DGCIN) / J. Atzpodien, E. Schmitt, U. Gertenbach, et al. // Br. J. Cancer. – 2005. – Vol. 92. – № 5. – P. 843–846.
14. Aweys H. Renal Cell Cancer – Insights in Drug Resistance Mechanisms / H. Aweys, D. Lewis, M. Sheriff, et al. // Anticancer Res. – 2023. – Vol. 43. – № 11. – P. 4781–4792.
15. Bachmann I.M. EZH2 Expression Is Associated With High Proliferation Rate and Aggressive Tumor Subgroups in Cutaneous Melanoma and Cancers of the

- Endometrium, Prostate, and Breast / I.M. Bachmann, O.J. Halvorsen, K. Collett, et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2006. – Vol. 24. – № 2. – P. 268–273.
16. Badalamenti G. Role of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with solid tumors: Can a drop dig a stone? / G. Badalamenti, D. Fanale, L. Incorvaia, et al. // *Cell. Immunol.* – 2019. – Vol. 343. – P.103753.
17. Baietti M.F. Loss of 9p21 Regulatory Hub Promotes Kidney Cancer Progression by Upregulating HOXB13 / M.F. Baietti, P. Zhao, J. Crowther, et al. // *Mol. Cancer Res.* – 2021. – Vol. 19. – № 6. – P. 979–990.
18. Basheeruddin M. Hypoxia-Inducible Factor 1-Alpha (HIF-1 α) and Cancer: Mechanisms of Tumor Hypoxia and Therapeutic Targeting / M. Basheeruddin, S. Qausain. // *Cureus.* – 2024. –16. – №10. – P.70700.
19. Boeri M. Circulating miRNAs and PD-L1 Tumor Expression Are Associated with Survival in Advanced NSCLC Patients Treated with Immunotherapy: a Prospective Study / M. Boeri, M. Milione, C. Proto, et al. // *Clin. Cancer Res.* – 2019. – Vol. 25. – № 7. – P. 2166–2173.
20. Boroughs L.K. Metabolic pathways promoting cancer cell survival and growth / L.K. Boroughs, R.J. DeBerardinis. // *Nat. Cell Biol.* – 2015. – Vol. 17. – № 4. – P. 351–359.
21. Boussios S. Exosomes in the Diagnosis and Treatment of Renal Cell Cancer / S. Boussios, P. Devo, I.C.A. Goodall, et al. // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24. – № 18. –P. 14356.
22. Boussios S. Exosomes in Renal Cell Cancer: Diagnostic and Therapeutic Nanovehicles / S. Boussios, S.V. Ovsepian. // *Technol. Cancer Res. Treat.* – 2024. – Vol. 23. – P. 1-4.
23. Bracken A.P. Genome-wide mapping of Polycomb target genes unravels their roles in cell fate transitions / A.P. Bracken, N. Dietrich, D. Pasini, et al. // *Genes Dev.* – 2006. – Vol. 20. – № 9. – P. 1123–1136.
24. Brahmer J. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer / J. Brahmer, K.L. Reckamp, P. Baas, et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2015. – Vol. 373. – № 2. – P. 123–135.

- 25.Braun D.A. Clinical Validation of PBRM1 Alterations as a Marker of Immune Checkpoint Inhibitor Response in Renal Cell Carcinoma / D.A. Braun, Y. Ishii, A.M. Walsh, et al. // JAMA Oncol. – 2019. – Vol. 5. – № 11. – P. 1631.
- 26.Bray F. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / F. Bray, J. Ferlay, I. Soerjomataram, et al. // CA Cancer J. Clin. – 2018. – Vol. 68. – № 6. – P. 394–424.
- 27.Brown J.E. Temporary treatment cessation versus continuation of first-line tyrosine kinase inhibitor in patients with advanced clear cell renal cell carcinoma (STAR): an open-label, non-inferiority, randomised, controlled, phase 2/3 trial / J.E. Brown, K.-L. Royle, W. Gregory, et al. // Lancet Oncol. – 2023. – Vol. 24. – № 3. – P. 213–227.
- 28.Cabezón-Gutiérrez L. Metabolic mechanisms of immunotherapy resistance / L. Cabezón-Gutiérrez, M. Palka-Kotlowska, S. Custodio-Cabello, et al. // Explor. Target. Anti-tumor Ther. – 2025. – Vol. 6. – P. 1002297.
- 29.Carbone D.P. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer / D.P. Carbone, M. Reck, L. Paz-Ares, et al. // N. Engl. J. Med. – 2017. – Vol. 376. – № 25. – P. 2415–2426.
- 30.Cervantes-Villagrana R.D. Tumor-induced neurogenesis and immune evasion as targets of innovative anti-cancer therapies / R.D. Cervantes-Villagrana, D. Albores-García, A.R. Cervantes-Villagrana, et al. // Signal Transduct. Target. Ther. – 2020. – Vol. 5. – № 1. – 99.
- 31.Chang T.-C. Transactivation of miR-34a by p53 Broadly Influences Gene Expression and Promotes Apoptosis / T.-C. Chang, E.A. Wentzel, O.A. Kent, et al. // Mol. Cell. – 2007. – Vol. 26. – № 5. – P. 745–752.
- 32.Chen D.S. Elements of cancer immunity and the cancer–immune set point / D.S. Chen, I. Mellman. // Nature. – 2017. – Vol. 541. – № 7637. – P. 321–330.
- 33.Chen L. Metastasis is regulated via microRNA-200/ZEB1 axis control of tumour cell PD-L1 expression and intratumoral immunosuppression / L. Chen, D.L. Gibbons, S. Goswami, et al. // Nat. Commun. – 2014. – Vol. 5. – № 1. – P. 5241.

- 34.Chen Q.-H. LncRNA KCNQ1OT1 sponges miR-15a to promote immune evasion and malignant progression of prostate cancer via up-regulating PD-L1 / Q.-H. Chen, B. Li, D.-G. Liu, et al. // Cancer Cell Int. – 2020. – Vol. 20. – № 1. –P. 394.
- 35.Chen Y.-W. Treatment Landscape of Renal Cell Carcinoma / Y.-W. Chen, L. Wang, J. Panian, et al. // Curr. Treat. Options Oncol. – 2023. – Vol. 24. – № 12. – P. 1889–1916.
- 36.Chen Y.-X. Non-Coding RNA Polymorphisms (rs2910164 and rs1333049) Associated With Prognosis of Lung Cancer Under Platinum-Based Chemotherapy / Y.-X. Chen, J. Chen, J.-Y. Yin, et al. // Front. Pharmacol. – 2021. – Vol. 12. – P. 709528.
- 37.Cheng Y. Targeting epigenetic regulators for cancer therapy: mechanisms and advances in clinical trials / Y. Cheng, C. He, M. Wang, et al. // Signal Transduct. Target. Ther. – 2019. – Vol. 4. – № 1. –P. 62.
- 38.Chhibber A. Germline HLA landscape does not predict efficacy of pembrolizumab monotherapy across solid tumor types / A. Chhibber, L. Huang, H. Zhang, et al. // Immunity. – 2022. – Vol. 55. – № 1. – P. 56–64.
- 39.Choueiri T.K. Correlation of PD-L1 Tumor Expression and Treatment Outcomes in Patients with Renal Cell Carcinoma Receiving Sunitinib or Pazopanib: Results from COMPARZ, a Randomized Controlled Trial / T.K. Choueiri, D.J. Figueroa, A.P. Fay, et al. // Clin. Cancer Res. – 2015. – Vol. 21. – № 5. – P. 1071–1077.
- 40.Choueiri T.K. Updated efficacy results from the JAVELIN Renal 101 trial: first-line avelumab plus axitinib versus sunitinib in patients with advanced renal cell carcinoma / T.K. Choueiri, R.J. Motzer, B.I. Rini, et al. // Ann. Oncol. – 2020. – Vol. 31. – № 8. – P. 1030–1039.
- 41.Choueiri T.K. KEYNOTE-564: A phase 3, randomized, double blind, trial of pembrolizumab in the adjuvant treatment of renal cell carcinoma / T.K. Choueiri, D.I. Quinn, T. Zhang, et al. // J. Clin. Oncol. – 2018. – Vol. 36. – № 15_suppl. – P.4599.

42. Chowell D. Evolutionary divergence of HLA class I genotype impacts efficacy of cancer immunotherapy / D. Chowell, C. Krishna, F. Pierini, et al. // Nat. Med. – 2019. – Vol. 25. – № 11. – P. 1715–1720.
43. Chowell D. Patient HLA class I genotype influences cancer response to checkpoint blockade immunotherapy / D. Chowell, L.G.T. Morris, C.M. Grigg, et al. // Science. – 2018. – Vol. 359. – № 6375. – P. 582–587.
44. Ciccolini J. Pharmacogenetics and breast cancer management: current status and perspectives / J. Ciccolini, R. Fanciullino, C. Serdjebi, et al. // Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. – 2015. – Vol. 11. – № 5. – P. 719–729.
45. Conte M. HDAC inhibitors as epigenetic regulators for cancer immunotherapy / M. Conte, R. De Palma, L. Altucci. // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2018. – Vol. 98. – P. 65–74.
46. Cortez M.A. PDL1 Regulation by p53 via miR-34 / M.A. Cortez, C. Ivan, D. Valdecanas, et al. // J. Natl. Cancer Inst. – 2016. – Vol. 108. – № 1. – P. 1-9.
47. Costantini A. Predictive role of plasmatic biomarkers in advanced non-small cell lung cancer treated by nivolumab / A. Costantini, C. Julie, C. Dumenil, et al. // OncoImmunology. – 2018. – Vol. 7. – № 6. – P. 1-11.
48. Da Silva Prade J. An Overview of Renal Cell Carcinoma Hallmarks, Drug Resistance, and Adjuvant Therapies / J. Da Silva Prade, R.S. De Souza, C.M. Da Silva D'Ávila, et al. // Cancer Diagn. Progn. – 2023. – Vol. 3. – № 6. – P. 616–634.
49. Dabestani S. Long-term Outcomes of Follow-up for Initially Localised Clear Cell Renal Cell Carcinoma: RECUR Database Analysis / S. Dabestani, C. Beisland, G.D. Stewart, et al. // Eur. Urol. Focus. – 2019. – Vol. 5. – № 5. – P. 857–866.
50. Dai S. The PD-1/PD-Ls pathway and autoimmune diseases / S. Dai, R. Jia, X. Zhang, et al. // Cell. Immunol. – 2014. – Vol. 290. – № 1. – P. 72–79.
51. Das A. Genomic predictors of response to PD-1 inhibition in children with germline DNA replication repair deficiency / A. Das, S. Sudhaman, D. Morgenstern, et al. // Nat. Med. – 2022. – Vol. 28. – № 1. – P. 125–135.

- 52.Das S. Immune-related adverse events and anti-tumor efficacy of immune checkpoint inhibitors / S. Das, D.B. Johnson. // *J. ImmunoTher. Cancer.* – 2019. – Vol. 7. – № 1. – 306.
- 53.Dawson M.A. Cancer Epigenetics: From Mechanism to Therapy / M.A. Dawson, T. Kouzarides. // *Cell.* – 2012. – Vol. 150. – № 1. – P. 12–27.
- 54.Dhanji S. Recent Advances in the Management of Localized and Locally Advanced Renal Cell Carcinoma: A Narrative Review / S. Dhanji, L. Wang, F. Liu, et al. // *Res. Rep. Urol.* – 2023. – Vol. 15. – P. 99–108.
- 55.Dhillon A.S. MAP kinase signalling pathways in cancer / A.S. Dhillon, S. Hagan, O. Rath, et al. // *Oncogene.* – 2007. – Vol. 26. – № 22. – P. 3279–3290.
- 56.Duan J. Use of Immunotherapy With Programmed Cell Death 1 vs Programmed Cell Death Ligand 1 Inhibitors in Patients With Cancer / J. Duan, L. Cui, X. Zhao, et al. // *JAMA Oncol.* – 2020. – Vol. 6. – № 3. – P. 375.
- 57.Dutta S. Targets of Immune Escape Mechanisms in Cancer: Basis for Development and Evolution of Cancer Immune Checkpoint Inhibitors / S. Dutta, A. Ganguly, K. Chatterjee, et al. // *Biology.* – 2023. – Vol. 12. – № 2. – 218.
- 58.Easwaran H. Cancer Epigenetics: Tumor Heterogeneity, Plasticity of Stem-like States, and Drug Resistance / H. Easwaran, H.-C. Tsai, S.B. Baylin. // *Mol. Cell.* – 2014. – Vol. 54. – № 5. – P. 716–727.
- 59.Eisenhauer E.A. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1) / E.A. Eisenhauer, P. Therasse, J. Bogaerts, et al. // *Eur. J. Cancer.* – 2009. – Vol. 45. – № 2. – P. 228–247.
- 60.Elias R. Immune-related adverse events are associated with improved outcomes in ICI-treated renal cell carcinoma patients / R. Elias, F. Yan, N. Singla, et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2019. – Vol. 37. – № 7_suppl. – P. 645.
- 61.Emran A. Al. Targeting DNA Methylation and EZH2 Activity to Overcome Melanoma Resistance to Immunotherapy / A. Al Emran, A. Chatterjee, E.J. Rodger, et al. // *Trends Immunol.* – 2019. – Vol. 40. – № 4. – P. 328–344.

- 62.Esfahani K. Moving towards personalized treatments of immune-related adverse events / K. Esfahani, A. Elkrief, C. Calabrese, et al. // Nat. Rev. Clin. Oncol. – 2020. – Vol. 17. – № 8. – P. 504–515.
- 63.Esteller M. Epigenetics in Cancer / M. Esteller. // N. Engl. J. Med. – 2008. – Vol. 358. – № 11. – P. 1148–1159.
- 64.Falkenberg K.J. Histone deacetylases and their inhibitors in cancer, neurological diseases and immune disorders / K.J. Falkenberg, R.W. Johnstone. // Nat. Rev. Drug Discov. – 2014. – Vol. 13. – № 9. – P. 673–691.
- 65.Fan J. Circulating microRNAs predict the response to anti-PD-1 therapy in non-small cell lung cancer / J. Fan, Z. Yin, J. Xu, et al. // Genomics. – 2020. – Vol. 112. – № 2. – P. 2063–2071.
- 66.Fares C.M. Mechanisms of Resistance to Immune Checkpoint Blockade: Why Does Checkpoint Inhibitor Immunotherapy Not Work for All Patients? / C.M. Fares, E.M. Van Allen, C.G. Drake, et al. // Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book. – 2019. – Vol. 39. – P. 147–164.
- 67.Fitzgerald K.N. Personalizing First-Line Management of Metastatic Renal Cell Carcinoma: Leveraging Current and Novel Therapeutic Options / K.N. Fitzgerald, C.-H. Lee. // J. Natl. Compr. Canc. Netw. – 2022. – P. 1–9.
- 68.Flaifel A. PD-L1 Expression and Clinical Outcomes to Cabozantinib, Everolimus, and Sunitinib in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma: Analysis of the Randomized Clinical Trials METEOR and CABOSUN / A. Flaifel, W. Xie, D.A. Braun, et al. // Clin. Cancer Res. – 2019. – Vol. 25. – № 20. – P. 6080–6088.
- 69.Franceschini A. STRING v9.1: protein-protein interaction networks, with increased coverage and integration / A. Franceschini, D. Szklarczyk, S. Frankild, et al. // Nucleic Acids Res. – 2012. – Vol. 41. – D1. – P. D808–D815.
- 70.Fridman W.H. The immune contexture in cancer prognosis and treatment / W.H. Fridman, L. Zitvogel, C. Sautès-Fridman, et al. // Nat. Rev. Clin. Oncol. – 2017. – Vol. 14. – № 12. – P. 717–734.

- 71.Gaynor N. Immune checkpoint inhibitors: Key trials and an emerging role in breast cancer / N. Gaynor, J. Crown, D.M. Collins. // Semin. Cancer Biol. – 2022. – Vol. 79. – P. 44–57.
- 72.Ge S.X. ShinyGO: a graphical gene-set enrichment tool for animals and plants / S.X. Ge, D. Jung, R. Yao. // Bioinformatics. – 2020. – Vol. 36. – № 8. – P. 2628–2629.
- 73.Gerlinger M. Intratumour Heterogeneity in Urologic Cancers: From Molecular Evidence to Clinical Implications / M. Gerlinger, J.W. Catto, T.F. Orntoft, et al. // Eur. Urol. – 2015. – Vol. 67. – № 4. – P. 729–737.
- 74.Gilyazova I. MiRNA-146a—A Key Player in Immunity and Diseases / I. Gilyazova, D. Asadullina, E. Kagirova, et al. // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24. – № 16. –P. 12767.
- 75.Gong W.-J. A novel immune-related ceRNA network that predicts prognosis and immunotherapy response in lung adenocarcinoma / W.-J. Gong, T. Zhou, S.-L. Wu, et al. // Ann. Transl. Med. – 2021. – Vol. 9. – № 18. –P. 1484.
- 76.Gowrishankar K. Inducible but Not Constitutive Expression of PD-L1 in Human Melanoma Cells Is Dependent on Activation of NF-κB / K. Gowrishankar, D. Gunatilake, S.J. Gallagher, et al. // PLOS ONE. – 2015. – Vol. 10. – № 4. – P. 123410.
- 77.Grange C. Microvesicles Released from Human Renal Cancer Stem Cells Stimulate Angiogenesis and Formation of Lung Premetastatic Niche / C. Grange, M. Tapparo, F. Collino, et al. // Cancer Res. – 2011. – Vol. 71. – № 15. – P. 5346–5356.
- 78.Gregório C. Calcium Signaling Alterations Caused by Epigenetic Mechanisms in Pancreatic Cancer: From Early Markers to Prognostic Impact / C. Gregório, S.C. Soares-Lima, B. Alemar, et al. // Cancers. – 2020. – Vol. 12. – № 7. –P. 1735.
- 79.Grenda A. MicroRNAs aid the assessment of programmed death ligand-1 expression in patients with non-small cell lung cancer / A. Grenda, M. Nicoś, M. Szczyrek, et al. // Oncol. Lett. – 2019. –№17. –P. 5193-5200.

- 80.Grimaldi A. Non-coding RNAs as a new dawn in tumor diagnosis / A. Grimaldi, M.R. Zarone, C. Irace, et al. // Semin. Cell Dev. Biol. – 2018. – Vol. 78. – P. 37–50.
- 81.Guo H. The PI3K/AKT Pathway and Renal Cell Carcinoma / H. Guo, P. German, S. Bai, et al. // J. Genet. Genomics. – 2015. – Vol. 42. – № 7. – P. 343–353.
- 82.Gupta H. Plasma levels of hsa-miR-3158-3p microRNA on admission correlate with MRI findings and predict outcome in cerebral malaria / H. Gupta, P.K. Sahu, R. Pattnaik, et al. // Clin. Transl. Med. – 2021. – Vol. 11. – № 6. –P. 1-5.
- 83.Gupta S. Biomarkers in renal cell carcinoma and their targeted therapies: a review / S. Gupta, K. Shamsher Singh. // Explor. Target. Anti-tumor Ther. – 2023. – P. 941–961.
- 84.Hanna G.J. Frameshift events predict anti-PD-1/L1 response in head and neck cancer / G.J.Hanna, P. Lizotte, M. Cavanaugh, et al. // JCI Insight. – 2018. – Vol. 3. – № 4. –P. 1-14.
- 85.He B. miRNA-based biomarkers, therapies, and resistance in Cancer / B. He, Z. Zhao, Q. Cai, et al. // Int. J. Biol. Sci. – 2020. – Vol. 16. – № 14. – P. 2628–2647.
- 86.He W. Aberrant methylation and loss of CADM2 tumor suppressor expression is associated with human renal cell carcinoma tumor progression / W. He, X. Li, S. Xu, et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2013. – Vol. 435. – № 4. – P. 526–532.
- 87.Helissey C. The development of immunotherapy in older adults: New treatments, new toxicities? / C. Helissey, C. Vicier, S. Champiat. // J. Geriatr. Oncol. – 2016. – Vol. 7. – № 5. – P. 325–333.
- 88.Hermeking H. The miR-34 family in cancer and apoptosis / H. Hermeking. // Cell Death Differ. – 2010. – Vol. 17. – № 2. – P. 193–199.
- 89.Hertz D.L. Use of pharmacogenetics for predicting cancer prognosis and treatment exposure, response and toxicity / D.L. Hertz, H.L. McLeod. // J. Hum. Genet. – 2013. – Vol. 58. – № 6. – P. 346–352.

- 90.Hsieh J.J. Chromosome 3p Loss–Orchestrated VHL, HIF, and Epigenetic Derepression in Clear Cell Renal Cell Carcinoma / J.J. Hsieh, V.H. Le, T. Oyama, et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2018. – Vol. 36. – № 36. – P. 3533–3539.
- 91.Hu Z. Genetic variants of miRNA sequences and non–small cell lung cancer survival / Z. Hu, J. Chen, T. Tian, et al. // *J. Clin. Invest.* – 2008. – Vol. 118. – № 7. P. 2600–2608.
- 92.Huang H.-Y. miRTarBase update 2022: an informative resource for experimentally validated miRNA–target interactions / H.-Y. Huang, Y.-C.-D. Lin, S. Cui, et al. // *Nucleic Acids Res.* – 2022. – Vol. 50. – D1. – P. D222–D230.
- 93.Huang J.J. The Therapeutic Landscape of Renal Cell Carcinoma: From the Dark Age to the Golden Age / J.J. Huang, J.J. Hsieh. // *Semin. Nephrol.* – 2020. – Vol. 40. – № 1. – P. 28–41.
- 94.Huang Z. Effect of a functional polymorphism in the pre-miR-146a gene on the risk and prognosis of renal cell carcinoma / Z. Huang, Z. Lu, J. Tian, et al. // *Mol. Med. Rep.* – 2015. – Vol. 12. – № 5. – P. 6997–7004.
- 95.Huntzinger E. Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay / E. Huntzinger, E. Izaurralde. // *Nat. Rev. Genet.* – 2011. – Vol. 12. – № 2. – P. 99–110.
- 96.Husseinzadeh D. Therapeutic Rationale for mTOR Inhibition in Advanced Renal Cell Carcinoma / D. Husseinzadeh, J.A. Garcia. // *Curr. Clin. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 6. – № 3. – P. 214–221.
- 97.Iacovelli, R. Prognostic Role of PD-L1 Expression in Renal Cell Carcinoma. A Systematic Review and Meta-Analysis. / R. Iacovelli, F. Nolè, E. Verri, G. Renne, C. Paglino, M. Santoni, M. Cossu Rocca, P. Giglione, G. Aurilio, D. Cullurà, S. Cascinu, C. Porta // *Target. Oncol.* - 2016. - V. 11. - № 2. - P. 143–148.
- 98.Ibrahim N. A phase I trial of panobinostat (LBH 589) in patients with metastatic melanoma / N. Ibrahim, E.I. Buchbinder, S.R. Granter, et al. // *Cancer Med.* – 2016. – Vol. 5. – № 11. – P. 3041–3050.
- 99.Incorvaia L. A “Lymphocyte MicroRNA Signature” as Predictive Biomarker of Immunotherapy Response and Plasma PD-1/PD-L1 Expression Levels in Patients

- with Metastatic Renal Cell Carcinoma: Pointing towards Epigenetic Reprogramming / L. Incorvaia, D. Fanale, G. Badalamenti, et al. // Cancers. – 2020. – Vol. 12. – № 11. – P. 3396.
100. Ishibashi K. Overriding TKI resistance of renal cell carcinoma by combination therapy with IL-6 receptor blockade / K. Ishibashi, T. Haber, I. Breuksch, et al. // Oncotarget. – 2017. – Vol. 8. – № 33. – P. 55230–55245.
101. Ito S. Role of Tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell mass specification / S. Ito, A.C. D'Alessio, O.V. Taranova, et al. // Nature. – 2010. – Vol. 466. – № 7310. – P. 1129–1133.
102. Jazdzewski K. Polymorphic mature microRNAs from passenger strand of pre-miR-146a contribute to thyroid cancer / K. Jazdzewski, S. Liyanarachchi, M. Swierniak, et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2009. – Vol. 106. – № 5. – P. 1502–1505.
103. Jazdzewski K. Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma / K. Jazdzewski, E.L. Murray, K. Franssila, et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2008. – Vol. 105. – № 20. – P. 7269–7274.
104. Jiang P. Signatures of T cell dysfunction and exclusion predict cancer immunotherapy response / P. Jiang, S. Gu, D. Pan, et al. // Nat. Med. – 2018. – Vol. 24. – № 10. – P. 1550–1558.
105. Jilaveanu L.B. PD-L1 Expression in Clear Cell Renal Cell Carcinoma: An Analysis of Nephrectomy and Sites of Metastases / L.B. Jilaveanu, B. Shuch, C.R. Zito, et al. // J. Cancer. – 2014. – Vol. 5. – № 3. – P. 166–172.
106. Jones P.A. Epigenetic therapy in immune-oncology / P.A. Jones, H. Ohtani, A. Chakravarthy, et al. // Nat. Rev. Cancer. – 2019. – Vol. 19. – № 3. – P. 151–161.
107. Joosten S.C. Epigenetics in renal cell cancer: mechanisms and clinical applications / S.C. Joosten, K.M. Smits, M.J. Aarts, et al. // Nat. Rev. Urol. – 2018. – Vol. 15. – № 7. – P. 430–451.

108. Kang E. Tissue miR-200c-3p and circulating miR-1290 as potential prognostic biomarkers for colorectal cancer / E. Kang, S.C. Jung, S.K. Nam, et al. // Sci. Rep. – 2022. – Vol. 12. – 2295.
109. Karpf A.R. Reactivating the expression of methylation silenced genes in human cancer / A.R. Karpf, D.A. Jones. // Oncogene. – 2002. – Vol. 21. – № 35. – P. 5496–5503.
110. Khan K.A. Improving immunotherapy outcomes with anti-angiogenic treatments and vice versa / K.A. Khan, R.S. Kerbel. // Nat. Rev. Clin. Oncol. – 2018. – Vol. 15. – № 5. – P. 310–324.
111. King J.K. Regulation of T-independent B-cell responses by microRNA-146a / J.K. King, T.M. Tran, M.H. Paing, et al. // Front. Immunol. – 2022. – Vol. 13. – № 984302. – P. 1-14.
112. Klein K. Role of Mitochondria in Cancer Immune Evasion and Potential Therapeutic Approaches / K. Klein, K. He, A.I. Younes, et al. // Front. Immunol. – 2020. – Vol. 11. – № 573326. – P. 1-11.
113. Kluger H.M. PD-L1 Studies Across Tumor Types, Its Differential Expression and Predictive Value in Patients Treated with Immune Checkpoint Inhibitors / H.M. Kluger, C.R. Zito, G. Turcu, et al. // Clin. Cancer Res. – 2017. – Vol. 23. – № 15. – P. 4270–4279.
114. Klümper N. CTLA4 promoter hypomethylation is a negative prognostic biomarker at initial diagnosis but predicts response and favorable outcome to anti-PD-1 based immunotherapy in clear cell renal cell carcinoma / N. Klümper, D.J. Ralser, R. Zarbl, et al. // J. ImmunoTher. Cancer. – 2021. – Vol. 9. – № 8. – № 002949. – P.1-9.
115. Landolt L. Clear Cell Renal Cell Carcinoma is linked to Epithelial-to-Mesenchymal Transition and to Fibrosis / L. Landolt, Ø. Eikrem, P. Strauss, et al. // Physiol. Rep. – 2017. – Vol. 5. – № 11. – P.13305.

- 116.Lei Y. Progress and Challenges of Predictive Biomarkers for Immune Checkpoint Blockade / Y. Lei, X. Li, Q. Huang, et al. // *Front. Oncol.* – 2021. – Vol. 11. – P. 1-12.
- 117.Li X. BRD4 Inhibition by AZD5153 Promotes Antitumor Immunity via Depolarizing M2 Macrophages / X. Li, Y. Fu, B. Yang, et al. // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 89.
- 118.Li X. Specific zinc finger-induced methylation of PD-L1 promoter inhibits its expression / X. Li, Z. Wang, J. Huang, et al. // *FEBS Open Bio.* – 2019. – Vol. 9. – № 6. – P. 1063–1070.
- 119.Li X. Efficacy of PI3K/AKT/mTOR pathway inhibitors for the treatment of advanced solid cancers: A literature-based meta-analysis of 46 randomised control trials / X. Li, D. Dai, B. Chen et al. // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13. – № 2. – e0192464. –P. 1-18.
- 120.Lim A.R. The tumor microenvironment as a metabolic barrier to effector T cells and immunotherapy / A.R. Lim, W.K. Rathmell, J.C. Rathmell. // *eLife.* – 2020. – Vol. 9. –P. 1-10.
- 121.Ling H. MicroRNAs and other non-coding RNAs as targets for anticancer drug development / H. Ling, M. Fabbri, G.A. Calin. // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2013. – Vol. 12. – № 11. – P. 847–865.
- 122.Liu H. SETD2-mediated loss of miR-339 promotes tumor PD-L1 expression and attenuates antitumor immunity in renal cell carcinoma / H. Liu, L. Yan, K. Tang, et al. // *J. Urol.* – 2019. – Vol. 201. – Suppl. 4. – P. 1-5.
- 123.Liu J. Immunological perspective on the malignant progression of renal clear cell carcinoma / J. Liu, W. Zhang, K. Lin, et al. // *Ann. Transl. Med.* – 2021. – Vol. 9. – № 20. – P.1544.
- 124.Liu L. Noncoding RNAs: the shot callers in tumor immune escape / L. Liu, Q. Wang, Z. Qiu, et al. // *Signal Transduct. Target. Ther.* – 2020. – Vol. 5. – P.102.
- 125.Liu T.Y. Expression of microRNA-210 in tissue and serum of renal carcinoma patients and its effect on renal carcinoma cell proliferation, apoptosis, and invasion

- / T.Y. Liu, H. Zhang, S.M. Du, et al. // Genet. Mol. Res. – 2016. – Vol. 15. – № 1. –P. 1-15.
- 126.Liu Y. Exploration of Morphological Features of Clear Cell Renal Cell Carcinoma With PBRM1 , SETD2 , BAP1 , or KDM5C Mutations / Y. Liu, H. Li, L. Xu, et al. // Int. J. Surg. Pathol. – 2023. – Vol. 31. – № 8. – P. 1485–1494.
- 127.Liu Y. Nanobubbles containing PD-L1 Ab and miR-424 mediated PD-L1 blockade, and its expression inhibition to enable and potentiate hepatocellular carcinoma immunotherapy in mice / Y. Liu, Q. Xie, Y. Ma, et al. // Int. J. Pharm. – 2022. – Vol. 629. – P.122352.
- 128.Ljungberg B. European Association of Urology Guidelines on Renal Cell Carcinoma: The 2019 Update / B. Ljungberg, L. Albiges, Y. Abu-Ghanem, et al. // Eur. Urol. – 2019. – Vol. 75. – № 5. – P. 799–810.
- 129.Loi S. RAS/MAPK Activation Is Associated with Reduced Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Triple-Negative Breast Cancer: Therapeutic Cooperation Between MEK and PD-1/PD-L1 Immune Checkpoint Inhibitors / S. Loi, S. Dushyanthen, P.A. Beavis, et al. // Clin. Cancer Res. – 2016. – Vol. 22. – № 6. – P. 1499–1509.
- 130.Lommen K. Diagnostic DNA Methylation Biomarkers for Renal Cell Carcinoma: A Systematic Review / K. Lommen, N. Vaes, M.J. Aarts, et al. // Eur. Urol. Oncol. – 2021. – Vol. 4. – № 2. – P. 215–226.
- 131.Lu G. MicroRNA-126 regulates the phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT) pathway in SLK cells in vitro and the expression of its pathway members in Kaposi's sarcoma tissue / G. Lu, X. Wu, Z. Zhao, et al. // Medicine. – 2018. – Vol. 97. – № 35. –P. 11855.
- 132.Luby A. Targeting Metabolism to Control Immune Responses in Cancer and Improve Checkpoint Blockade Immunotherapy / A. Luby, M.-C. Alves-Guerra. // Cancers. – 2021. – Vol. 13. – № 23. – P. 5912.
- 133.Luo X. A Functional Variant in MicroRNA-146a Promoter Modulates Its Expression and Confers Disease Risk for Systemic Lupus Erythematosus / X. Luo, W. Yang, D.-Q. Ye, et al. // PLoS Genet. – 2011. – Vol. 7. – № 6. – P. 1002128.

- 134.Lyssiotis C.A. Metabolic Interactions in the Tumor Microenvironment / C.A. Lyssiotis, A.C. Kimmelman. // Trends Cell Biol. – 2017. – Vol. 27. – № 11. – P. 863–875.
- 135.Ma V.T. Characterization of outcomes in patients with advanced genitourinary malignancies treated with immune checkpoint inhibitors / V.T. Ma, C.T. Su, M. Hu, et al. // Urol. Oncol. – 2021. – Vol. 39. – № 7. – P. 437.
- 136.Ma X. Immunotherapy for renal cell carcinoma: New therapeutic combinations and adverse event management strategies: A review / X. Ma, J. Chen, S. Chen, et al. // Medicine. – 2024. – Vol. 103. – № 30. – P.38991.
- 137.Madore J. PD-L1 Negative Status is Associated with Lower Mutation Burden, Differential Expression of Immune-Related Genes, and Worse Survival in Stage III Melanoma / J. Madore, D. Strbenac, R. Vilain, et al. // Clin. Cancer Res. – 2016. – Vol. 22. – № 15. – P. 3915–3923.
- 138.Makhov P. Resistance to Systemic Therapies in Clear Cell Renal Cell Carcinoma: Mechanisms and Management Strategies / P. Makhov, S. Joshi, P. Ghatalia, et al. // Mol. Cancer Ther. – 2018. – Vol. 17. – № 7. – P. 1355–1364.
- 139.Mann M. An NF-κB-microRNA regulatory network tunes macrophage inflammatory responses / M. Mann, A. Mehta, J.L. Zhao, et al. // Nat. Commun. – 2017. – Vol. 8. – № 1. –P. 851.
- 140.Mao W. Immunogenicity of prostate cancer is augmented by BET bromodomain inhibition / W. Mao, A. Ghasemzadeh, Z.T. Freeman, et al. // J. ImmunoTher. Cancer. – 2019. – Vol. 7. – № 1. –P. 277.
- 141.Marschner D. MicroRNA-146a regulates immune-related adverse events caused by immune checkpoint inhibitors / D. Marschner, M. Falk, N.R. Javorniczky, et al. // JCI Insight. – 2020. – Vol. 5. – № 6. –P. 1-15.
- 142.Masson C. Biological Biomarkers of Response and Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors in Renal Cell Carcinoma / C. Masson, J. Thouvenin, P. Boudier, et al. // Cancers. – 2023. – Vol. 15. – № 12. – P.3159.
- 143.Mathew, C.G.P. The Isolation of High Molecular Weight Eukaryotic DNA / C.G.P. Mathew. // Nucleic Acids. New Jersey: Humana Press. – 1984. –P. 31–34.

144. McBride M.A. Immune Checkpoints: Novel Therapeutic Targets to Attenuate Sepsis-Induced Immunosuppression / M.A. McBride, T.K. Patil, J.K. Bohannon, et al. // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol. 11. – P. 1-16.
145. McCormick R.I. miR-210 is a target of hypoxia-inducible factors 1 and 2 in renal cancer, regulates ISCU and correlates with good prognosis / R.I. McCormick, C. Blick, J. Ragoussis, et al. // *Br. J. Cancer.* – 2013. – Vol. 108. – № 5. – P. 1133–1142.
146. McDermott D.F. PD-1 as a potential target in cancer therapy / D.F. McDermott, M.B. Atkins. // *Cancer Med.* – 2013. – Vol. 2. – № 5. – P. 662–673.
147. McDermott D.F. Clinical activity and molecular correlates of response to atezolizumab alone or in combination with bevacizumab versus sunitinib in renal cell carcinoma / D.F. McDermott, M.A. Huseni, M.B. Atkins, et al. // *Nat. Med.* – 2018. – Vol. 24. – № 6. – P. 749–757.
148. McKean W.B. Biomarkers in Precision Cancer Immunotherapy: Promise and Challenges / W.B. McKean, J.C. Moser, D. Rimm, et al. // *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book.* – 2020. – Vol. 40. – P. e275–e291.
149. Mendell J.T. MicroRNAs in Stress Signaling and Human Disease / J.T. Mendell, E.N. Olson. // *Cell.* – 2012. – Vol. 148. – № 6. – P. 1172–1187.
150. Miao D. Genomic correlates of response to immune checkpoint therapies in clear cell renal cell carcinoma / D. Miao, C.A. Margolis, W. Gao, et al. // *Science.* – 2018. – Vol. 359. – № 6377. – P. 801–806.
151. Mihnea D. Key questions about the checkpoint blockade—are microRNAs an answer? / D. Mihnea, C. Baoqing, F. Xiao, A.C. George. // *Cancer Biol. Med.* – 2018. – Vol. 15. – № 2. – P. 103.
152. Miricescu D. PI3K/AKT/mTOR signalling pathway involvement in renal cell carcinoma pathogenesis (Review) / D. Miricescu, D. Balan, A. Tulin, et al. // *Exp. Ther. Med.* – 2021. – Vol. 21. – № 5. – P.540.
153. Monastirioti A. Plasma-Based microRNA Expression Analysis in Advanced Stage NSCLC Patients Treated with Nivolumab / A. Monastirioti, C. Papadaki, D. Kalapanida, et al. // *Cancers.* – 2022. – Vol. 14. – № 19. –P. 4739.

- 154.Monjas-Avila C.U. The Tumor Immune Microenvironment in Clear Cell Renal Cell Carcinoma / C.U. Monjas-Avila, A.C. Lorenzo-Leal, A.C. Luque-Badillo, et al. // Int. J. Mol. Sci. – 2023. – Vol. 24. – № 9. – P. 7946.
- 155.Motzer R.J. Nivolumab versus everolimus in patients with advanced renal cell carcinoma: Updated results with long-term follow-up of the randomized, open-label, phase 3 CheckMate 025 trial / R.J. Motzer, B. Escudier, S. George, et al. // Cancer. – 2020. – Vol. 126. – № 18. – P. 4156–4167.
- 156.Motzer R.J. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma / R.J. Motzer, B. Escudier, D.F. McDermott, et al. // N. Engl. J. Med. – 2015. – Vol. 373. – № 19. – P. 1803–1813.
- 157.Motzer R.J. Avelumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma / R.J. Motzer, K. Penkov, J. Haanen, et al. // N. Engl. J. Med. – 2019. – Vol. 380. – № 12. – P. 1103–1115.
- 158.Motzer R.J. Nivolumab plus Ipilimumab versus Sunitinib in Advanced Renal-Cell Carcinoma / R.J. Motzer, N.M. Tannir, D.F. McDermott, et al. // N. Engl. J. Med. – 2018. – Vol. 378. – № 14. – P. 1277–1290.
- 159.Nakada C. Overexpression of miR-210, a downstream target of HIF1 α , causes centrosome amplification in renal carcinoma cells / C. Nakada, Y. Tsukamoto, K. Matsuura, et al. // J. Pathol. – 2011. – Vol. 224. – № 2. – P. 280–288.
- 160.Nakanishi T. MicroRNA-326 negatively regulates CD155 expression in lung adenocarcinoma / T. Nakanishi, Y. Yoneshima, K. Okamura, et al. // Cancer Sci. – 2023. – Vol. 114. – № 10. – P. 4101–4113.
- 161.Nigro O. Late immune-related adverse events in long-term responders to PD-1/PD-L1 checkpoint inhibitors: A multicentre study / O. Nigro, G. Pinotti, F. De Galitiis, et al. // Eur. J. Cancer. – 2020. – Vol. 134. – P. 19–28.
- 162.O'Brien J. Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation / J. O'Brien, H. Hayder, Y. Zayed, C. Peng. // Front. Endocrinol. – 2018. – Vol. 9. – P. 1-11.

- 163.Ornstein M.C. Toxicity of Checkpoint Inhibition in Advanced RCC: A Systematic Review / M.C. Ornstein, J.A. Garcia. // Kidney Cancer. – 2017. – Vol. 1. – № 2. – P. 133–141.
- 164.Oto J. Urinary microRNAs: Looking for a New Tool in Diagnosis, Prognosis, and Monitoring of Renal Cancer / J. Oto, E. Plana, J.V. Sánchez-González, et al. // Curr. Urol. Rep. – 2020. – Vol. 21. – № 2. – P.11.
- 165.Otsuka K. Genetic Networks Lead and Follow Tumor Development: MicroRNA Regulation of Cell Cycle and Apoptosis in the p53 Pathways / K. Otsuka, T. Ochiya. // Biomed Res. Int. – 2014. –P. 1—10.
- 166.Outeiro-Pinho G. Renal Cell Tumors: Uncovering the Biomarker Potential of ncRNAs / G. Outeiro-Pinho, D. Barros-Silva, M.P. Correia, et al. // Cancers. – 2020. – Vol. 12. – № 8. – P. 2214.
- 167.Padala S.A. Epidemiology of Renal Cell Carcinoma / S.A. Padala, A. Barsouk, K.C. Thandra, et al. // World J. Oncol. – 2020. – Vol. 11. – № 3. – P. 79–87.
- 168.Pantano F. Large-Scale Profiling of Extracellular Vesicles Identified miR-625-5p as a Novel Biomarker of Immunotherapy Response in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Patients / F. Pantano, F. Zalfa, M. Iuliani, et al. // Cancers. – 2022. – Vol. 14. – № 10. –P. 2435.
- 169.Pardoll D.M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy / D.M. Pardoll. // Nat. Rev. Cancer. – 2012. – Vol. 12. – № 4. – P. 252–264.
- 170.Patel S.P. PD-L1 Expression as a Predictive Biomarker in Cancer Immunotherapy / S.P. Patel, R. Kurzrock. // Mol. Cancer Ther. – 2015. – Vol. 14. – № 4. – P. 847–856.
- 171.Patsoukis N. Revisiting the PD-1 pathway / N. Patsoukis, Q. Wang, L. Strauss, V.A. Boussiotis. // Sci. Adv. – 2020. – Vol. 6. – № 38. – P. 1-11.
- 172.Peng D. Epigenetic silencing of TH1-type chemokines shapes tumour immunity and immunotherapy / D. Peng, I. Kryczek, N. Nagarsheth, et al. // Nature. – 2015. – Vol. 527. – № 7577. – P. 249–253.

- 173.Peng W. Loss of PTEN Promotes Resistance to T Cell–Mediated Immunotherapy / W. Peng, J.Q. Chen, C. Liu, et al. // *Cancer Discov.* – 2016. – Vol. 6. – № 2. – P. 202–216.
- 174.Perazella M.A. Immune checkpoint inhibitor nephrotoxicity: what do we know and what should we do? / M.A. Perazella, A.C. Shirali. // *Kidney Int.* – 2020. – Vol. 97. – № 1. – P. 62–74.
- 175.Postow M.A. Immune-Related Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Blockade / M.A. Postow, R. Sidlow, M.D. Hellmann. // *N. Engl. J. Med.* – 2018. – Vol. 378. – № 2. – P. 158–168.
- 176.Powles T. Pembrolizumab plus axitinib versus sunitinib monotherapy as first-line treatment of advanced renal cell carcinoma (KEYNOTE-426): extended follow-up from a randomised, open-label, phase 3 trial / T. Powles, E.R. Plimack, D. Soulières, et al. // *Lancet Oncol.* – 2020. – Vol. 21. – № 12. – P. 1563–1573.
- 177.Prins F.M. Renal Cell Carcinoma: Alternative Nephron-Sparing Treatment Options for Small Renal Masses, a Systematic Review / F.M. Prins, L.G.W. Kerkmeijer, A.A. Pronk, et al. // *J. Endourol.* – 2017. – Vol. 31. – № 10. – P. 963–975.
- 178.Quagliariello V. Immune checkpoint inhibitor therapy increases systemic SDF-1, cardiac DAMPs Fibronectin-EDA, S100/Calgranulin, galectine-3, and NLRP3-MyD88-chemokine pathways / V. Quagliariello, M. Passariello, A. Di Mauro, et al. // *Front. Cardiovasc. Med.* – 2022. – Vol. 9.
- 179.Rajha E. Gastrointestinal adverse events associated with immune checkpoint inhibitor therapy / E. Rajha, P. Chaftari, M. Kamal, et al. // *Gastroenterol. Rep.* – 2020. – Vol. 8. – № 1. – P. 25–30.
- 180.Rambhia A. Immunotherapy for metastatic renal cell carcinoma: A brief history, current trends, and future directions / A. Rambhia, R.D. Patel, K.E. Okhawere, et al. // *Urol. Oncol.* – 2021. – Vol. 39. – № 10. – P. 664–677.
- 181.Rezayi M. Structure of PD1 and its mechanism in the treatment of autoimmune diseases / M. Rezayi, A. Hosseini. // *Cell Biochem. Funct.* – 2023. – Vol. 41. – № 7. – P. 726–737.

- 182.Rini B.I. Renal cell carcinoma / B.I. Rini, S.C. Campbell, B. Escudier. // Lancet. – 2009. – Vol. 373. – № 9669. – P. 1119–1132.
- 183.Rini B.I. Clinical effect and future considerations for molecularly-targeted therapy in renal cell carcinoma / B.I. Rini, K. Flaherty. // Urol. Oncol. – 2008. – Vol. 26. – № 5. – P. 543–549.
- 184.Rini B.I. Pembrolizumab plus Axitinib versus Sunitinib for Advanced Renal-Cell Carcinoma / B.I. Rini, E.R. Plimack, V. Stus, et al. // N. Engl. J. Med. – 2019. – Vol. 380. – № 12. – P. 1116–1127.
- 185.Rizvi H. Molecular Determinants of Response to Anti-Programmed Cell Death (PD)-1 and Anti-Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) Blockade in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Profiled With Targeted Next-Generation Sequencing / H. Rizvi, F. Sanchez-Vega, K. La, et al. // J. Clin. Oncol. – 2018. – Vol. 36. – № 7. – P. 633–641.
- 186.Robin X. pROC: an open-source package for R and S+ to analyze and compare ROC curves / X. Robin, N. Turck, A. Hainard, et al. // BMC Bioinformatics. – 2011. – Vol. 12. – № 1. – 77.
- 187.Rooney M.S. Molecular and Genetic Properties of Tumors Associated with Local Immune Cytolytic Activity / M.S. Rooney, S.A. Shukla, C.J. Wu, et al. // Cell. – 2015. – Vol. 160. – № 1–2. – P. 48–61.
- 188.Rysz J. Immune Checkpoint Inhibitors in Clear Cell Renal Cell Carcinoma (ccRCC) / J. Rysz, J. Ławiński, B. Franczyk, et al. // Int. J. Mol. Sci. – 2025. – Vol. 26. – № 12. – P.5577.
- 189.Saadi, W. Long Non-Coding RNAs as Epigenetic Regulators of Immune Checkpoints in Cancer Immunity. / W. Saadi, A. Fatmi, F.V. Pallardó, J.L. García-Giménez, S. Mena-Molla // Cancers. - 2022. - V. 15. - № 1. - P. 184.
- 190.Samaan, S. miR-210 Is a Prognostic Marker in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. / S. Samaan, H.W.Z. Khella, A. Girgis, A. Scorilas, E. Lianidou, M. Gabril, S.N. Krylov, M. Jewett, G.A. Bjarnason, H. El-said, G.M. Yousef // J. Mol. Diagn. - 2015. - V. 17. - № 2. - P. 136–144.

- 191.Samstein, R.M. Mutations in BRCA1 and BRCA2 differentially affect the tumor microenvironment and response to checkpoint blockade immunotherapy. / R.M. Samstein, C. Krishna, X. Ma, X. Pei, K.-W. Lee, V. Makarov, F. Kuo, J. Chung, R.M. Srivastava, T.A. Purohit, D.R. Hoen, R. Mandal, J. Setton, W. Wu, R. Shah, B. Qeriqi, Q. Chang, S. Kendall, L. Braunstein, N. Riaz // Nat. Cancer. - 2020. - V. 1. - № 12. - P. 1188–1203.
- 192.Schoumacher, M. Key Roles of AXL and MER Receptor Tyrosine Kinases in Resistance to Multiple Anticancer Therapies. / M. Schoumacher, M. Burbridge // Curr. Oncol. Rep. - 2017. - V. 19. - № 3. - P. 19.
- 193.Seethapathy, H. Incidence and Clinical Features of Immune-Related Acute Kidney Injury in Patients Receiving Programmed Cell Death Ligand-1 Inhibitors. / H. Seethapathy, S. Zhao, I.A. Strohbehn, M. Lee, D.F. Chute, H. Bates, G.E. Molina, L. Zubiri, S. Gupta, S. Motwani, D.E. Leaf, R.J. Sullivan, O. Rahma, K.G. Blumenthal, A.-C. Villani, K.L. Reynolds, M.E. Sise // Kidney Int. Rep. - 2020. - V. 5. - № 10. - P. 1700–1705.
- 194.Seliger, B. Immune modulatory microRNAs as a novel mechanism to revert immune escape of tumors. / B. Seliger // Cytokine Growth Factor Rev. - 2017. - V. 36. - P. 49–56.
- 195.Sethupathy, P. TarBase: A comprehensive database of experimentally supported animal microRNA targets. / P. Sethupathy, B. Corda, A.G. Hatzigeorgiou // RNA. - 2006. - V. 12. - № 2. - P. 192–197.
- 196.Sharma, P. Nivolumab Plus Ipilimumab for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Preliminary Analysis of Patients in the CheckMate 650 Trial. / P. Sharma, R.K. Pachynski, V. Narayan, A. Fléchon, G. Gravis, M.D. Galsky, H. Mahammedi, A. Patnaik, S.K. Subudhi, M. Ciprotti, B. Simsek, A. Saci, Y. Hu, G.C. Han, K. Fizazi // Cancer Cell. - 2020. - V. 38. - № 4. - P. 489–499.
- 197.Sharma, S. Epigenetics in cancer. / S. Sharma, T.K. Kelly, P.A. Jones // Carcinogenesis. - 2010. - V. 31. - № 1. - P. 27–36.

- 198.Shende, S. Role of metabolic transformation in cancer immunotherapy resistance: molecular mechanisms and therapeutic implications. / S. Shende, J. Rathored, T. Budhbaware // Discov. Oncol. - 2025. - V. 16. - № 1. - P. 453.
- 199.Shin, S.-J. The Association Between PD-L1 Expression and the Clinical Outcomes to Vascular Endothelial Growth Factor-Targeted Therapy in Patients With Metastatic Clear Cell Renal Cell Carcinoma. / S.-J. Shin, Y.K. Jeon, Y.M. Cho, J.-L. Lee, D.H. Chung, J.Y. Park, H. Go // Oncologist. - 2015. - V. 20. - № 11. - P. 1253–1260.
- 200.Shiota, M. Effect of genetic polymorphisms on outcomes following nivolumab for advanced renal cell carcinoma in the SNiP-RCC trial. / M. Shiota, H. Miyake, M. Takahashi, M. Oya, N. Tsuchiya, N. Masumori, H. Matsuyama, W. Obara, N. Shinohara, K. Fujimoto, M. Nozawa, K. Ohba, C. Ohyama, K. Hashine, S. Akamatsu, T. Kamba, K. Mita, M. Gotoh, S. Tatarano, M. Eto // Cancer Immunol. Immunother. - 2023. - V. 72. - № 6. - P. 1903–1915.
- 201.Si, W. The role and mechanisms of action of microRNAs in cancer drug resistance. / W. Si, J. Shen, H. Zheng, W. Fan // Clin. Epigenetics. - 2019. - V. 11. - № 1. - P. 25.
- 202.Simonaggio, A. Evaluation of Readministration of Immune Checkpoint Inhibitors After Immune-Related Adverse Events in Patients With Cancer. / A. Simonaggio, J.M. Michot, A.L. Voisin, J. Le Pavec, M. Collins, A. Lallart, G. Cengizalp, A. Vozy, A. Laparra, A. Varga, A. Hollebecque, S. Champiat, A. Marabelle, C. Massard, O. Lambotte // JAMA Oncol. - 2019. - V. 5. - № 9. - P. 1310.
- 203.Singer, E.A. Evolving therapeutic targets in renal cell carcinoma. / E.A. Singer, G.N. Gupta, D. Marchalik, R. Srinivasan // Curr. Opin. Oncol. - 2013. - V. 25. - № 3. - P. 273–280.
- 204.Smith, C.C. Endogenous retroviral signatures predict immunotherapy response in clear cell renal cell carcinoma. / C.C. Smith, K.E. Beckermann, D.S. Bortone, A.A. De Cubas, L.M. Bixby, S.J. Lee, A. Panda, S. Ganesan, G. Bhanot, E.M. Wallen, M.I. Milowsky, W.Y. Kim, W.K. Rathmell, R. Swanstrom, J.S. Parker, J.S. Serody,

- S.R. Selitsky, B.G. Vincent // J. Clin. Invest. - 2018. - V. 128. - № 11. - P. 4804–4820.
205. Smith, C.G. Comprehensive characterization of cell-free tumor DNA in plasma and urine of patients with renal tumors. / C.G. Smith, T. Moser, F. Mouliere, J. Field-Rayner, M. Eldridge, A.L. Riediger, D. Chandrananda, K. Heider, J.C.M. Wan, A.Y. Warren, J. Morris, I. Hudecova, W.N. Cooper, T.J. Mitchell, D. Gale, A. Ruiz-Valdepenas, T. Klatte, S. Ursprung, E. Sala, G.D. Stewart // Genome Med. - 2020. - V. 12. - № 1. - P. 23.
206. Song, P. Meta-analysis of immune-related adverse events of immune checkpoint inhibitor therapy in cancer patients. / P. Song, D. Zhang, X. Cui, L. Zhang // Thorac. Cancer. - 2020. - V. 11. - № 9. - P. 2406–2430.
207. Sorah, J.D. Incidence and Prediction of Immune Checkpoint Inhibitor-related Nephrotoxicity. / J.D. Sorah, T.L. Rose, R. Radhakrishna, V.K. Derebail, M.I. Milowsky // J. Immunother. - 2021. - V. 44. - № 3. - P. 127–131.
208. Sormendi, S. Hypoxia Pathway Proteins As Central Mediators of Metabolism in the Tumor Cells and Their Microenvironment. / S. Sormendi, B. Wielockx // Front. Immunol. - 2018. - V. 9. - P. 40.
209. Speed, J.M. Recurrence in Localized Renal Cell Carcinoma: A Systematic Review of Contemporary Data. / J.M. Speed, Q.-D. Trinh, T.K. Choueiri, M. Sun // Curr. Urol. Rep. - 2017. - V. 18. - № 2. - P. 15.
210. Spranger, S. Melanoma-intrinsic β -catenin signalling prevents anti-tumour immunity. / S. Spranger, R. Bao, T.F. Gajewski // Nature. - 2015. - V. 523. - № 7559. - P. 231–235.
211. Sprangers, B. Diagnosis and management of immune checkpoint inhibitor-associated acute kidney injury. / B. Sprangers, D.E. Leaf, C. Porta, M.J. Soler, M.A. Perazella // Nat. Rev. Nephrol. - 2022. - V. 18. - № 12. - P. 794–805.
212. Sung, H. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. / H. Sung, J. Ferlay, R.L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, F. Bray // CA Cancer J. Clin. - 2021. - V. 71. - № 3. - P. 209–249.

- 213.Takai, Y. Nectins and nectin-like molecules: Roles in cell adhesion, migration, and polarization. / Y. Takai, K. Irie, K. Shimizu, T. Sakisaka, W. Ikeda // Cancer Sci. - 2003. - V. 94. - № 8. - P. 655–667.
- 214.Tang, Y. Co-expression of AFAP1-AS1 and PD-1 predicts poor prognosis in nasopharyngeal carcinoma. / Y. Tang, Y. He, L. Shi, L. Yang, J. Wang, Y. Lian, C. Fan, P. Zhang, C. Guo, S. Zhang, Z. Gong, X. Li, F. Xiong, X. Li, Y. Li, G. Li, W. Xiong, Z. Zeng // Oncotarget. - 2017. - V. 8. - № 24. - P. 39001–39011.
- 215.Teng, J. miR-146a-5p protects against renal injury in MRL/lpr mice via improvement of the Treg/Th17 imbalance by targeting the TRAF6/NF-κB axis. / J. Teng, F. Yang, X. Li // Exp. Ther. Med. - 2022. - V. 25. - № 1. - P. 21.
- 216.Terry, S. Association of AXL and PD-L1 Expression with Clinical Outcomes in Patients with Advanced Renal Cell Carcinoma Treated with PD-1 Blockade. / S. Terry, C. Dalban, N. Rioux-Leclercq, J. Adam, M. Meylan, S. Buart, A. Bougoüin, A. Lespagnol, F. Dugay, I.C. Moreno, G. Lacroix, J.B. Lorens, G. Gausdal, W.H. Fridman, F. Mami-Chouaib, N. Chaput, B. Beuselinck, S. Chabaud, J. Barros-Monteiro, S. Chouaib // Clin. Cancer Res. - 2021. - V. 27. - № 24. - P. 6749–6760.
- 217.Therasse, P. New Guidelines to Evaluate the Response to Treatment in Solid Tumors. / P. Therasse, S.G. Arbuck, E.A. Eisenhauer, J. Wanders, R.S. Kaplan, L. Rubinstein, J. Verweij, M. Van Glabbeke, A.T. van Oosterom, M.C. Christian, S.G. Gwyther // J. Natl. Cancer Inst. - 2000. - V. 92. - № 3. - P. 205–216.
- 218.Thompson, R.H. PD-1 Is Expressed by Tumor-Infiltrating Immune Cells and Is Associated with Poor Outcome for Patients with Renal Cell Carcinoma. / R.H. Thompson, H. Dong, C.M. Lohse, B.C. Leibovich, M.L. Blute, J.C. Cheville, E.D. Kwon // Clin. Cancer Res. - 2007. - V. 13. - № 6. - P. 1757–1761.
- 219.Tiffen, J. Somatic Copy Number Amplification and Hyperactivating Somatic Mutations of EZH2 Correlate With DNA Methylation and Drive Epigenetic Silencing of Genes Involved in Tumor Suppression and Immune Responses in Melanoma. / J. Tiffen, S. Wilson, S.J. Gallagher, P. Hersey, F.V. Filipp // Neoplasia. - 2016. - V. 18. - № 2. - P. 121–132.

220. Topalian, S.L. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. / S.L. Topalian, F.S. Hodi, J.R. Brahmer, S.N. Gettinger, D.C. Smith, D.F. McDermott, J.D. Powderly, R.D. Carvajal, J.A. Sosman, M.B. Atkins, P.D. Leming, D.R. Spigel, S.J. Antonia, L. Horn, C.G. Drake, D.M. Pardoll, L. Chen, W.H. Sharfman, R.A. Anders, M. Sznol // N. Engl. J. Med. - 2012. - V. 366. - № 26. - P. 2443–2454.
221. Treiber, T. Publisher Correction: Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways. / T. Treiber, N. Treiber, G. Meister // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. - 2019. - V. 20. - № 5. - P. 321.
222. Tronik-Le Roux, D. Comprehensive landscape of immune-checkpoints uncovered in clear cell renal cell carcinoma reveals new and emerging therapeutic targets. / D. Tronik-Le Roux, M. Sautreuil, M. Bentriou, J. Vérine, M.B. Palma, M. Daouya, F. Bouhidet, S. Lemler, J. LeMaoult, F. Desgrandchamps, P.-H. Cournède, E.D. Carosella // Cancer Immunol. Immunother. - 2020. - V. 69. - № 7. - P. 1237–1252.
223. Ulas, E.B. Predictive Value of Combined Positive Score and Tumor Proportion Score for Immunotherapy Response in Advanced NSCLC. / E.B. Ulas, S.M.S. Hashemi, I. Houda, A. Kaynak, J.D. Veltman, M.F. Fransen, T. Radonic, I. Bahce // JTO Clin. Res. Rep. - 2023. - V. 4. - № 9. - P. 100532.
224. Vano, Y.-A. NIVOREN GETUG-AFU 26 translational study: Association of PD-1, AXL, and PBRM-1 with outcomes in patients with metastatic clear cell renal cell carcinoma treated with nivolumab. / Y.-A. Vano, N. Rioux-Leclercq, C. Dalban, C. Sautes-Fridman, A. Bougoün, N. Chaput, S. Chouaib, B. Beuselinck, C. Chevreau, M. Gross-Goupil, S. Negrier, B. Laguerre, D. Borchiellini, I. Colina-Moreno, W.-H. Fridman, S. Chabaud, F. Tantot, J. Barros Monteiro, B. Escudier, L. Albiges // J. Clin. Oncol. - 2020. - V. 38. - № 6suppl. - P. 618.
225. Verzoni, E. Real-world efficacy and safety of nivolumab in previously-treated metastatic renal cell carcinoma, and association between immune-related adverse events and survival: the Italian expanded access program. / E. Verzoni, G. Cartenì, E. Cortesi, D. Giannarelli, A. De Giglio, R. Sabbatini, S. Buti, S. Rossetti, F. Cognetti, F. Rastelli, A. Sobrero, D. Turci, C.N. Sternberg, C. Porta, F. Cappuzzo,

- G. Tortora, D. Tassinari, S. Panni, A. Pazzola, G. Procopio // J. Immunother. Cancer. - 2019. - V. 7. - № 1. - P. 99.
226. Walunas, T.L. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. / T.L. Walunas, L.D.J., B.C.Y., L.P.S., F.G.J., G.J.M., T.C.B., B.J.A. // Immunity. - 1994. - V. 1. - P. 405–413.
227. Wanchoo, R. Adverse Renal Effects of Immune Checkpoint Inhibitors: A Narrative Review. / R. Wanchoo, S. Karam, N.N. Uppal, V.S. Barta, G. Deray, C. Devoe, V. Launay-Vacher, K.D. Jhaveri // Am. J. Nephrol. - 2017. - V. 45. - № 2. - P. 160–169.
228. Wang, D. Targeting EZH2 Reprograms Intratumoral Regulatory T Cells to Enhance Cancer Immunity. / D. Wang, J. Quiros, K. Mahuron, C.-C. Pai, V. Ranzani, A. Young, S. Silveria, T. Harwin, A. Abnousian, M. Pagani, M.D. Rosenblum, F. Van Gool, L. Fong, J.A. Bluestone, M. DuPage // Cell Rep. - 2018. - V. 23. - № 11. - P. 3262–3274.
229. Wang, J. Metabolic Reprogramming of Immune Cells in the Tumor Microenvironment. / J. Wang, Y. He, F. Hu, C. Hu, Y. Sun, K. Yang, S. Yang // Int. J. Mol. Sci. - 2024. - V. 25. - № 22. - P. 12223.
230. Wang, P.-F. Immune-Related Adverse Events Associated with Anti-PD-1/PD-L1 Treatment for Malignancies: A Meta-Analysis. / P.-F. Wang, Y. Chen, S.-Y. Song, T.-J. Wang, W.-J. Ji, S.-W. Li, N. Liu, C.-X. Yan // Front. Pharmacol. - 2017. - V. 8. - P. 730.
231. Wang, R. The interaction of innate immune and adaptive immune system. / R. Wang, C. Lan, K. Benlagha, N.O.S. Camara, H. Miller, M. Kubo, S. Heegaard, P. Lee, L. Yang, H. Forsman, X. Li, Z. Zhai, C. Liu // MedComm. - 2024. - V. 5. - № 10. –P. 1-10.
232. Wang, X. Tumor suppressor miR-34a targets PD-L1 and functions as a potential immunotherapeutic target in acute myeloid leukemia. / X. Wang, J. Li, K. Dong, F. Lin, M. Long, Y. Ouyang, J. Wei, X. Chen, Y. Weng, T. He, H. Zhang // Cell. Signal. - 2015. - V. 27. - № 3. - P. 443–452.

233. Wang, X.-X. Large-scale DNA methylation expression analysis across 12 solid cancers reveals hypermethylation in the calcium-signaling pathway. / X.-X. Wang, F.-H. Xiao, Q.-G. Li, J. Liu, Y.-H. He, Q.-P. Kong // Oncotarget. - 2017. - V. 8. - № 7. - P. 11868–11876.
234. Wartewig, T. PD-1 is a haploinsufficient suppressor of T cell lymphomagenesis. / T. Wartewig, Z. Kurgyis, S. Keppler, K. Pechloff, E. Hameister, R. Öllinger, R. Maresch, T. Buch, K. Steiger, C. Winter, R. Rad, J. Ruland // Nature. - 2017. - V. 552. - № 7683. - P. 121–125.
235. Woods, D.M. HDAC Inhibition Upregulates PD-1 Ligands in Melanoma and Augments Immunotherapy with PD-1 Blockade. / D.M. Woods, A.L. Sodré, A. Villagra, A. Sarnaik, E.M. Sotomayor, J. Weber // Cancer Immunol. Res. - 2015. - V. 3. - № 12. - P. 1375–1385.
236. Wu, C. Prognostic role of microRNA polymorphisms in patients with advanced esophageal squamous cell carcinoma receiving platinum-based chemotherapy. / C. Wu, M. Li, C. Hu, H. Duan // Cancer Chemother. Pharmacol. - 2014. - V. 73. - № 2. - P. 335–341.
237. Wu, K. The efficacy and safety of combination of PD-1 and CTLA-4 inhibitors: a meta-analysis. / K. Wu, M. Yi, S. Qin, Q. Chu, X. Zheng, K. Wu // Exp. Hematol. Oncol. - 2019. - V. 8. - № 1. - P. 26.
238. Xia, W. PD-1 inhibitor inducing exosomal miR-34a-5p expression mediates the cross talk between cardiomyocyte and macrophage in immune checkpoint inhibitor-related cardiac dysfunction. / W. Xia, H. Chen, D. Chen, Y. Ye, C. Xie, M. Hou // J. Immunother. Cancer. - 2020. - V. 8. - № 2. -P. 1-10.
239. Xia, W. Immune checkpoint inhibitor induces cardiac injury through polarizing macrophages via modulating microRNA-34a/Kruppel-like factor 4 signaling. / W. Xia, C. Zou, H. Chen, C. Xie, M. Hou // Cell Death Dis. - 2020. - V. 11. - № 7. - P. 575.
240. Xiao, G. EZH2 negatively regulates PD-L1 expression in hepatocellular carcinoma. / G. Xiao, L.-L. Jin, C.-Q. Liu, Y.-C. Wang, Y.-M. Meng, Z.-G. Zhou,

- J. Chen, X.-J. Yu, Y.-J. Zhang, J. Xu, L. Zheng // *J. Immunother. Cancer.* - 2019. - V. 7. - № 1. - P. 300.
- 241.Xu, B. A functional polymorphism in Pre-miR-146a gene is associated with prostate cancer risk and mature miR-146a expression in vivo. / B. Xu, N. Feng, P. Li, J. Tao, D. Wu, Z. Zhang, N. Tong, J. Wang, N. Song, W. Zhang, L. Hua, H. Wu // *Prostate.* - 2010. - V. 70. - № 5. - P. 467–472.
- 242.Xu, S. miR-424(322) reverses chemoresistance via T-cell immune response activation by blocking the PD-L1 immune checkpoint. / S. Xu, Z. Tao, B. Hai, H. Liang, Y. Shi, T. Wang, W. Song, Y. Chen, J. OuYang, J. Chen, F. Kong, Y. Dong, S.-W. Jiang, W. Li, P. Wang, Z. Yuan, X. Wan, C. Wang, W. Li, K. Chen // *Nat. Commun.* - 2016. - V. 7. - № 1. - P. 11406.
- 243.Xu, T. A functional polymorphism in the miR-146a gene is associated with the risk for hepatocellular carcinoma. / T. Xu, Y. Zhu, Q.-K. Wei, Y. Yuan, F. Zhou, Y.-Y. Ge, J.-R. Yang, H. Su, S.-M. Zhuang // *Carcinogenesis.* - 2008. - V. 29. - № 11. - P. 2126–2131.
- 244.Xu, Y. Current status of antigen-specific T-cell immunotherapy for advanced renal-cell carcinoma. / Y. Xu, C.P. Miller, E.H. Warren, S.S. Tykodi // *Hum. Vaccines Immunother.* - 2021. - V. 17. - № 7. - P. 1882–1896.
- 245.Xuan, Z. TKI-Resistant Renal Cancer Secretes Low-Level Exosomal miR-549a to Induce Vascular Permeability and Angiogenesis to Promote Tumor Metastasis. / Z. Xuan, C. Chen, W. Tang, S. Ye, J. Zheng, Y. Zhao, Z. Shi, L. Zhang, H. Sun, C. Shao // *Front. Cell Dev. Biol.* - 2021. - V. 9. -P. 1-14.
- 246.Yang, L. Hypoxia-Regulated miR-146a Targets Cell Adhesion Molecule 2 to Promote Proliferation, Migration, and Invasion of Clear Cell Renal Cell Carcinoma. / L. Yang, G. Zhao, F. Wang, C. Li, X. Wang // *Cell. Physiol. Biochem.* - 2018. - V. 49. - № 3. - P. 920–931.
- 247.Yang, Q.-Y. Killing two birds with one stone: miR-126 involvement in both cancer and atherosclerosis. / Q.-Y. Yang, Q. Yu, W.-Y. Zeng, M. Zeng, X.-L. Zhang, Y.-L. Zhang, L. Guo, X.-J. Jiang, J.-L. Gan // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* - 2022. - V. 26. - № 17. - P. 6145–6168.

- 248.Yim, K. Outcomes of Robot-assisted Partial Nephrectomy for Clinical T3a Renal Masses: A Multicenter Analysis. / K. Yim, M. Aron, K.H. Rha, G. Simone, A. Minervini, B. Challacombe, L. Schips, F. Berardinelli, G. Quarto, R. Mehrazin, D. Patel, S. Patel, A. Bindayi, A.N. Ashrafi, M. Desai, A. Alqahtani, M. Gallucci, J. Sulek, A. Mari, ... I.H. Derweesh // Eur. Urol. Focus. - 2021. - V. 7. - № 5. - P. 1107–1114.
- 249.Yu, Z. Expression and clinical significance of RCDG1 in renal cell carcinoma: A novel renal cancer-associated gene. / Z. Yu, L. Ni, D. Chen, Z. Su, W. Yu, Q. Zhang, Y. Wang, C. Li, Y. Gui, Y. Lai // Mol. Med. Rep. - 2014. - V. 10. - № 3. - P. 1583–1589.
- 250.Zabeti Touchaei, A. MicroRNAs as regulators of immune checkpoints in cancer immunotherapy: targeting PD-1/PD-L1 and CTLA-4 pathways. / A. Zabeti Touchaei, S. Vahidi // Cancer Cell Int. - 2024. - V. 24. - № 1. - P. 102.
- 251.Zhan, T. Wnt signaling in cancer. / T. Zhan, N. Rindtorff, M. Boutros // Oncogene. - 2017. - V. 36. - № 11. - P. 1461–1473.
- 252.Zhang, H. Metabolic reprogramming and immune evasion: the interplay in the tumor microenvironment. / H. Zhang, S. Li, D. Wang, S. Liu, T. Xiao, W. Gu, H. Yang, H. Wang, M. Yang, P. Chen // Biomark. Res. - 2024. - V. 12. - № 1. - P. 96.
- 253.Zhang, Q. Pulmonary Aerosol Delivery of Let-7b microRNA Confers a Striking Inhibitory Effect on Lung Carcinogenesis through Targeting the Tumor Immune Microenvironment. / Q. Zhang, J. Pan, D. Xiong, Y. Wang, M.S. Miller, S. Sei, R.H. Shoemaker, A. Izzotti, M. You // Adv. Sci. - 2021. - V. 8. - № 17.
- 254.Zhang, Y. Identification of a competing endogenous RNA network related to immune signature in clear cell renal cell carcinoma. / Y. Zhang, J. Dai, W. Huang, Q. Chen, W. Chen, Q. He, F. Chen, P. Zhang // Aging. - 2021. - V. 13. - № 24. - P. 25980–26002.
- 255.Zhao, X. Tumor-Secreted Extracellular Vesicles Regulate T-Cell Costimulation and Can Be Manipulated To Induce Tumor-Specific T-Cell Responses. / X. Zhao, C. Yuan, D. Wangmo, S. Subramanian // Gastroenterology. - 2021. - V. 161. - № 2. - P. 560–574.e11.

- 256.Zhou, Q. MicroRNA-146a and Ets-1 gene polymorphisms in ocular Behcet's disease and Vogt-Koyanagi-Harada syndrome. / Q. Zhou, S. Hou, L. Liang, X. Li, X. Tan, L. Wei, B. Lei, A. Kijlstra, P. Yang // Ann. Rheum. Dis. - 2014. - V. 73. - № 1. - P. 170–176.
- 257.Zhu, H. BET Bromodomain Inhibition Promotes Anti-tumor Immunity by Suppressing PD-L1 Expression. / H. Zhu, F. Bengsch, N. Svoronos, M.R. Rutkowski, B.G. Bitler, M.J. Allegrezza, Y. Yokoyama, A.V. Kossenkov, J.E. Bradner, J.R. Conejo-Garcia, R. Zhang // Cell Rep. - 2016. - V. 16. - № 11. - P. 2829–2837.
- 258.Zhu, J. Biomarkers of immunotherapy in urothelial and renal cell carcinoma: PD-L1, tumor mutational burden, and beyond. / J. Zhu, A.J. Armstrong, T.W. Friedlander, W. Kim, S.K. Pal, D.J. George, T. Zhang // J. Immunother. Cancer. - 2018. - V. 6. - № 1. - P. 4.
- 259.CommonTerminology Criteria for Adverse Events, CTCAE: [Электронный ресурс]. <https://dctd.cancer.gov/research/ctep-trials/for-sites/adverse-events> (дата обращения 30.09.2025).
- 260.International mRCC Database Consortium, IMDC [Электронный ресурс]. <https://www.imdconline.com> (дата обращения 30.09.2025).
- 261.Kidney cancer statistics [Электронный ресурс]. <https://www.wcrf.org/preventing-cancer/cancer-statistics/kidney-cancer-statistics/> (дата обращения 30.09.2025)
- 262.National Comprehensive Cancer Network Kidney Cancer Guidelines: [Электронный ресурс]. <https://www.nccn.org/home> (дата обращения 30.09.2025).
- 263.ShinyGO 0.77 [Электронный ресурс]. <https://bioinformatics.sdsu.edu/go77/> (дата обращения 01.10.2025)

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Анализ путей обогащения статистически значимых миРНК согласно KEGG

Таблица А1 –Анализ путей обогащения KEGG

Путь	Количество генов	Количество таргетных генов	p-value	FDR
Инфекция герпесвирусом саркомы Капоши	245	122	0,000563288	0,00208784
Инсулиновый сигнальный путь	153	91	$3,63494 \times 10^{-7}$	$3,58429 \times 10^{-6}$
Сигнальные пути нейродегенерации	539	272	$6,28416 \times 10^{-8}$	$7,38931 \times 10^{-7}$
Болезнь Альцгеймера	426	222	$4,22397 \times 10^{-8}$	$5,33471 \times 10^{-7}$
Инфекция вируса папилломы человека	406	195	0,000206917	0,000801803
Прионные болезни	331	156	0,002332976	0,007505141
Болезнь Паркинсона	282	149	$2,66885 \times 10^{-6}$	$1,8573 \times 10^{-5}$
Вирусогенный рак	265	136	$4,78013 \times 10^{-5}$	0,000226392
Протеогликаны при раке	220	134	$6,59611 \times 10^{-11}$	$1,62373 \times 10^{-9}$
Обработка белков в эндоплазматическом ретикулуме	194	126	$3,85892 \times 10^{-13}$	$2,19315 \times 10^{-11}$
Клеточное старение	219	115	$5,13956 \times 10^{-5}$	0,000240081
Гепатит В	177	100	$2,7708 \times 10^{-6}$	$1,88968 \times 10^{-5}$
Гепатоцеллюлярная карцинома	177	96	$4,17107 \times 10^{-5}$	0,00020319
Гепатит С	173	92	0,000155814	0,000625089
Сигнальные пути, регулирующие плюрипотентность стволовых клеток	156	85	$9,0859 \times 10^{-5}$	0,000387286
Нейротрофиновый сигнальный путь	124	83	$4,46163 \times 10^{-10}$	$8,94951 \times 10^{-9}$

Корь	161	82	0,001904401	0,006244237
Доаминовый синапс	143	73	0,003037793	0,009503555
Колоректальный рак	88	64	$2,12702 \times 10^{-10}$	$4,83542 \times 10^{-9}$
Мелкоклеточный рак легких	100	62	$3,90956 \times 10^{-6}$	$2,46881 \times 10^{-5}$
Рак поджелудочной железы	78	57	$1,54288 \times 10^{-9}$	$2,50534 \times 10^{-8}$
Митофагия - животные	76	54	$2,13719 \times 10^{-8}$	$3,16861 \times 10^{-7}$
Боковой амиотрофический склероз	408	220	$1,07998 \times 10^{-9}$	$1,84137 \times 10^{-8}$
Болезнь Хантингтона	339	183	$2,54801 \times 10^{-8}$	$3,47548 \times 10^{-7}$
Эндоцитоз	311	170	$2,52026 \times 10^{-8}$	$3,47548 \times 10^{-7}$
Шигеллез	268	170	$7,87152 \times 10^{-16}$	$8,9473 \times 10^{-14}$
Инфекция сальмонеллой	277	162	$6,66635 \times 10^{-11}$	$1,62373 \times 10^{-9}$
Регуляция актина цитоскелета	224	134	$3,78129 \times 10^{-10}$	$8,05887 \times 10^{-9}$
Rap1 сигнальный путь	214	132	$2,62801 \times 10^{-11}$	$8,14683 \times 10^{-10}$
Инфекция патогенным Escherichia coli	222	122	$1,65148 \times 10^{-6}$	$1,22654 \times 10^{-5}$
Транспорт РНК	199	110	$3,68743 \times 10^{-6}$	$2,37248 \times 10^{-5}$
Направление аксона	186	105	$1,65457 \times 10^{-6}$	$1,22654 \times 10^{-5}$
Плотные контакты	182	100	$1,41927 \times 10^{-5}$	$7,93393 \times 10^{-5}$
FoxO сигнальный путь	139	93	$4,11453 \times 10^{-11}$	$1,16921 \times 10^{-9}$
Wnt сигнальный путь	173	92	0,000155814	0,000625089
Сдвиг жидкости и атеросклероз	149	90	$1,57036 \times 10^{-7}$	$1,70838 \times 10^{-6}$
Рак молочной железы	163	87	0,000197262	0,000773177
Сигнальный путь щитовидных гормонов	137	84	$1,60318 \times 10^{-7}$	$1,70838 \times 10^{-6}$
Апоптоз	151	82	0,000139641	0,000573704
Рак желудка	162	81	0,003871554	0,011893693
Apelin сигнальный путь	140	80	$1,52691 \times 10^{-5}$	$8,27645 \times 10^{-5}$
Адренергический сигнальный путь в кардиомиоцитах	161	78	0,012069632	0,033461338
Мейоз ооцитов	134	77	$1,66992 \times 10^{-5}$	$8,89752 \times 10^{-5}$

Активация тромбоцитов	136	71	0,001624197	0,005377196
Инсулинерезистентность	124	71	$4,13601 \times 10^{-5}$	0,00020389
Рак предстательной железы	101	70	$1,01742 \times 10^{-9}$	$1,826 \times 10^{-5}$
Контроль мРНК	108	68	$5,91998 \times 10^{-7}$	$5,31241 \times 10^{-6}$
Фосфатидилинозитол сигнальная система	101	65	$3,26415 \times 10^{-7}$	$3,37296 \times 10^{-6}$
Адгезивные контакты	79	65	$5,55695 \times 10^{-15}$	$4,7373 \times 10^{-13}$
Холиновый метаболизм при раке	106	64	$9,72965 \times 10^{-6}$	$5,62341 \times 10^{-5}$
Фагоцитоз	101	59	$8,32899 \times 10^{-5}$	0,000368855
ErbB сигнальный путь	86	55	$3,47943 \times 10^{-6}$	$2,2817 \times 10^{-5}$
p53 сигнальный путь	75	51	$4,8967 \times 10^{-7}$	$4,5129 \times 10^{-6}$
Меланома	76	48	$2,35825 \times 10^{-5}$	0,000121843
Центральный углеродный метаболизм при раке	74	47	$2,31115 \times 10^{-5}$	0,000121246
Термогенез	252	129	$8,60792 \times 10^{-5}$	0,00037632
Убиквитин-зависимый протеолиз	142	107	$2,14493 \times 10^{-18}$	$7,3142 \times 10^{-16}$
mTOR сигнальный путь	177	102	$6,24169 \times 10^{-7}$	$5,3627 \times 10^{-6}$
Спинно-мозжечковая атаксия	145	99	$1,46802 \times 10^{-12}$	$6,25743 \times 10^{-11}$
cGMP-PKG сигнальный путь	175	89	0,001325829	0,004593734
Инфекция Yersinia	147	88	$3,784 \times 10^{-7}$	$3,58429 \times 10^{-6}$
Фосфолипаза D сигнальный путь	158	80	0,002646983	0,008357604
AMPK сигнальный путь	130	79	$6,29055 \times 10^{-7}$	$5,3627 \times 10^{-6}$
Relaxin сигнальный путь	138	77	$6,71624 \times 10^{-5}$	0,000305365
Эндокринная резистентность	118	68	$4,51427 \times 10^{-5}$	0,000216812
Глюкагоновый сигнальный путь	114	62	0,000826899	0,002906933
Синтез, секреция и действие паратиреоидного гормона	118	60	0,007564926	0,022048202

Инвазия бактерий в эпителиальные клетки	80	58	$1,83731 \times 10^{-9}$	$2,84783 \times 10^{-8}$
Хронический миелоидный лейкоз	79	58	$8,19157 \times 10^{-10}$	$1,55185 \times 10^{-8}$
Т-клеточный рецепторный сигнальный путь	115	57	0,017095532	0,045902177
Сопротивление ингибиторам тирозинкиназы EGFR	82	57	$3,092 \times 10^{-8}$	$4,0558 \times 10^{-7}$
Глиома	79	51	$5,25362 \times 10^{-6}$	$3,14295 \times 10^{-5}$
Пролактиновый сигнальный путь	73	49	$1,48518 \times 10^{-6}$	$1,15101 \times 10^{-5}$
Рак эндометрия	61	42	$3,02767 \times 10^{-6}$	$2,02438 \times 10^{-5}$
Резистентность к платиновым препаратам	75	40	0,010031992	0,028507579
Алкоголизм	195	103	$9,2061 \times 10^{-5}$	0,000387566
Формирование внеклеточных ловушек нейтрофилов	205	101	0,002492518	0,007943445
Лизосома	145	79	0,000159216	0,000631308
Сфинголипидный сигнальный путь	133	78	$5,19887 \times 10^{-6}$	$3,14295 \times 10^{-5}$
TNF сигнальный путь	131	78	$2,31245 \times 10^{-6}$	$1,67775 \times 10^{-5}$
Окситоциновый сигнальный путь	161	77	0,018085307	0,047806897
Синтез, секреция и действие гормона роста	129	75	$1,21129 \times 10^{-5}$	$6,88416 \times 10^{-5}$
AGE-RAGE сигнальный путь при диабетических осложнениях	115	70	$2,49112 \times 10^{-6}$	$1,76973 \times 10^{-5}$
TGF-бета сигнальный путь	103	62	$1,52908 \times 10^{-5}$	$8,27645 \times 10^{-5}$
Путь регуляции долголетия	105	61	$7,93437 \times 10^{-5}$	0,000356003
Немелкоклеточный рак легких	81	50	$3,92997 \times 10^{-5}$	0,000197077

Острый миелоидный лейкоз	69	47	$1,27331 \times 10^{-6}$	$1,00977 \times 10^{-5}$
Метаболизм инозитолфосфатов	78	45	0,00081454	0,002893315
Трансэндотелиальная миграция лейкоцитов	120	65	0,0007232	0,002595909
Созревание ооцитов, опосредованное прогестероном	104	60	0,000118931	0,000494579
GnRH сигнальный путь	97	52	0,003160973	0,009799015
Путь регуляции долголетия	79	42	0,009077564	0,026232621
Разложение лизина	69	38	0,006024824	0,017864912
VEGF сигнальный путь	61	37	0,000634671	0,002302369
Hedgehog сигнальный путь	59	37	0,000246944	0,000946157
Эндокринная и другие факторы регулирующие кальциевую реабсорбцию	57	34	0,001573132	0,005311268
Щелевые контакты	99	54	0,001595228	0,005333066
Эпителиальная сигнализация при инфекции <i>H. pylori</i>	79	49	$3,91013 \times 10^{-5}$	0,000197077
Секреция ренина	72	40	0,003995264	0,012164153
Рак мочевого пузыря	43	30	$5,37852 \times 10^{-5}$	0,000247848
Длительная потенциация	71	41	0,001333665	0,004593734
Notch сигнальный путь	63	37	0,001481338	0,005051363
Рак щитовидной железы	43	25	0,009962853	0,028507579
Регуляция водной реабсорбции вазопрессином	47	30	0,000611375	0,002241709
Ферроптоз	41	25	0,004259432	0,012853685
Аутофагия	33	23	0,000416127	0,001559332
Hippo сигнальный путь	30	20	0,002322034	0,007505141
Протеасома	64	34	0,018061355	0,047806897

Метаболизм аминокислот и нуклеотидов	50	28	0,012895314	0,035462113
Стероидный биосинтез	22	14	0,018756953	0,048230205
Апоптоз	32	20	0,006967853	0,020483085
Циркадный ритм	31	22	0,000371821	0,001408787
SNARE взаимодействия в везикулярном транспорте	33	20	0,011198872	0,031560458
N-гликозилирование	51	38	$3,71813 \times 10^{-7}$	$3,58429 \times 10^{-6}$
Различные виды N-гликозилирования	40	31	$1,04399 \times 10^{-6}$	$8,68298 \times 10^{-6}$
Метаболизм пропионата	36	21	0,016740557	0,045305792
Цикл лимонной кислоты (цикл Кребса)	31	19	0,011331564	0,03167265
Биосинтез терпенового скелета	22	14	0,018756953	0,048230205
Биосинтез гликозилфосфатидил инозитольного (GPI) якоря	26	16	0,018698727	0,048230205
Биосинтез маннозного типа O-гликозилирования	24	15	0,018811194	0,048230205
Биосинтез гликозаминогликанов - кератан сульфат	14	10	0,015680729	0,042777029

Приложение Б

Дифференциаль но метилированные регионы ДНК пациентов, демонстрирующих ответ на терапию против пациентов, не демонстрирующих ответ на терапию

Таблица Б1 – Дифференциаль но гиперметилированные регионы ДНК пациентов, демонстрирующих ответ на терапию против пациентов, не демонстрирующих ответ на терапию

FDR	Разница метилирования (meth.diff)	Статус метилирования	Ген
0,00790847	73,21429	Гиперметилирован	LINC01307
$4,8914 \times 10^{-13}$	100	Гиперметилирован	CASZ1
$6,7737 \times 10^{-6}$	100	Гиперметилирован	SRM
0,00958496	58,11594	Гиперметилирован	DISP3
0,00194861	63,63636	Гиперметилирован	AGTRAP
0,00795607	71,42857	Гиперметилирован	TNFRSF1B
0,00014016	70,83333	Гиперметилирован	PRDM2
0,00811064	60,89744	Гиперметилирован	RNU1-4
0,00056399	66,66667	Гиперметилирован	RNVU1-8
0,00564373	55,88235	Гиперметилирован	MIR5087
0,00811064	60,89744	Гиперметилирован	ATAD3A
0,00758868	63,75	Гиперметилирован	MIR554
0,00060903	90	Гиперметилирован	CELA2B
0,00491624	69,23077	Гиперметилирован	TBX19
$9,9862 \times 10^{-5}$	76,92308	Гиперметилирован	DPT
0,00347724	61,74242	Гиперметилирован	NIBAN1
0,00951804	41,66667	Гиперметилирован	PAX7
0,00178041	71,05263	Гиперметилирован	TMEM52
0,00576797	64,28571	Гиперметилирован	TMEM52
0,00321192	57,28314	Гиперметилирован	HTR6
0,00246975	52,32323	Гиперметилирован	CFAP74
0,00945646	60	Гиперметилирован	DDX59
0,00107668	58,33333	Гиперметилирован	NFASC
0,00266789	60	Гиперметилирован	DDOST
$1,3105 \times 10^{-10}$	100	Гиперметилирован	PLXNA2
0,00210592	67,56757	Гиперметилирован	PRKCZ

0,00336073	70,69767	Гиперметилирован	HLX-AS1
0,00511938	53,125	Гиперметилирован	EPHA8
0,00686985	26,67224	Гиперметилирован	SKI
$1,1597 \times 10^{-7}$	100	Гиперметилирован	OBSCN-AS1
0,00431174	33,45026	Гиперметилирован	RNA5S10
0,00115035	34,11616	Гиперметилирован	RNA5S10
0,00117119	29,4201	Гиперметилирован	RNA5S10
$1,215 \times 10^{-9}$	43,42252	Гиперметилирован	RNA5S10
$7,2557 \times 10^{-9}$	41,2456	Гиперметилирован	RNA5S10
$1,3973 \times 10^{-6}$	37,31129	Гиперметилирован	RNA5S10
$7,0451 \times 10^{-11}$	43,00818	Гиперметилирован	RNA5S10
$8,6291 \times 10^{-13}$	46,07322	Гиперметилирован	RNA5S10
$6,2007 \times 10^{-7}$	36,44599	Гиперметилирован	RNA5S10
$3,9361 \times 10^{-5}$	43,67166	Гиперметилирован	RNA5S10
0,00027756	45,05587	Гиперметилирован	RNA5S10
0,00018106	49,47637	Гиперметилирован	RNA5S10
0,00019555	53,3904	Гиперметилирован	RNA5S10
0,00114577	65,50725	Гиперметилирован	RNA5S10
$2,0684 \times 10^{-9}$	30,90909	Гиперметилирован	RNA5S10
0,00236463	60,86957	Гиперметилирован	GALNT2
0,00643557	41,45759	Гиперметилирован	SMYD3
$7,7323 \times 10^{-5}$	100	Гиперметилирован	LINC01341
0,00036066	75,23452	Гиперметилирован	LINC01648
$8,8184 \times 10^{-6}$	75	Гиперметилирован	MATN1-AS1
0,00046617	70,16317	Гиперметилирован	MIR4251
0,00261501	58,63636	Гиперметилирован	EVA1B
$1,7917 \times 10^{-5}$	84,61538	Гиперметилирован	MIR30E
$5,3118 \times 10^{-11}$	100	Гиперметилирован	PTPRF
0,00433193	46,66667	Гиперметилирован	AJAP1
$8,988 \times 10^{-7}$	100	Гиперметилирован	ZFYVE9
0,00775073	44,66667	Гиперметилирован	SSBP3
0,00060485	66,66667	Гиперметилирован	TACSTD2
0,00835414	50	Гиперметилирован	CAMTA1
0,00693878	46,15385	Гиперметилирован	CTNNBIP1
0,00693878	46,15385	Гиперметилирован	CTNNBIP1
$6,1938 \times 10^{-5}$	41,37931	Гиперметилирован	VAX1
0,00880578	37,5	Гиперметилирован	OAT
$1,7723 \times 10^{-7}$	84,74903	Гиперметилирован	DPYSL4
$5,1298 \times 10^{-5}$	75,09158	Гиперметилирован	DPYSL4
$3,9789 \times 10^{-6}$	80	Гиперметилирован	DPYSL4
$5,0261 \times 10^{-8}$	85,71429	Гиперметилирован	STK32C
$1,075 \times 10^{-6}$	57,25275	Гиперметилирован	STK32C
$2,2905 \times 10^{-7}$	75	Гиперметилирован	STK32C

$3,2522 \times 10^{-7}$	68,6747	Гиперметилирован	STK32C
$9,6079 \times 10^{-6}$	75,56818	Гиперметилирован	STK32C
$3,732 \times 10^{-6}$	50	Гиперметилирован	INPP5A
0,00827886	56,84524	Гиперметилирован	NKX6-2
0,00522437	40,81633	Гиперметилирован	NKX6-2
0,00011804	50	Гиперметилирован	NKX6-2
0,00765971	44,7861	Гиперметилирован	NKX6-2
0,00049984	83,33333	Гиперметилирован	LOC105376353
0,00493913	41,88453	Гиперметилирован	BMS1P2
$4,9642 \times 10^{-5}$	66,83983	Гиперметилирован	TUBB8
0,00584319	66,96833	Гиперметилирован	C10orf53
$7,8025 \times 10^{-6}$	100	Гиперметилирован	CALML5
0,00097177	40,97035	Гиперметилирован	PFKFB3
$2,3208 \times 10^{-7}$	100	Гиперметилирован	SNORD129
$5,5921 \times 10^{-5}$	56,66667	Гиперметилирован	DIP2C
0,00775073	62,03704	Гиперметилирован	DIP2C
0,00278711	68,42105	Гиперметилирован	PPIF
0,00835751	45,45455	Гиперметилирован	ADIRF
0,00168427	66,66667	Гиперметилирован	SORBS1
$1,3145 \times 10^{-5}$	100	Гиперметилирован	SFRP5
0,00888153	67	Гиперметилирован	ABCC2
0,00457772	73,91304	Гиперметилирован	MMP20
$5,0312 \times 10^{-5}$	81,81818	Гиперметилирован	CSNK2A3
0,00718897	36,66667	Гиперметилирован	ZBTB16
0,00684171	47,4769	Гиперметилирован	MIR6716
0,00168427	40	Гиперметилирован	THY1
0,00168427	43,47826	Гиперметилирован	THY1
0,00145018	43,47826	Гиперметилирован	THY1
0,00536687	60	Гиперметилирован	MIR6124
0,000957	74,12587	Гиперметилирован	CLMP
0,0076708	61,60714	Гиперметилирован	CALCA
0,0005274	75	Гиперметилирован	OTOG
0,00250197	43,11321	Гиперметилирован	KCNC1
$1,7403 \times 10^{-6}$	77,55102	Гиперметилирован	KCNC1
0,00050942	81,81818	Гиперметилирован	TPH1
$5,1816 \times 10^{-6}$	92,30769	Гиперметилирован	MRGPRG-AS1
0,00477938	63,63636	Гиперметилирован	MRGPRG-AS1
0,00063564	53,33333	Гиперметилирован	LINC02749
0,00562026	58,49359	Гиперметилирован	MADD
0,00935063	61,53846	Гиперметилирован	MS4A10
0,00607823	55,81395	Гиперметилирован	MIR7155
0,00460572	33,33333	Гиперметилирован	NRXN2
0,00814053	47,5	Гиперметилирован	LTBP3

0,00257522	50	Гиперметилирован	TMEM151A
0,00332029	69,91342	Гиперметилирован	CD248
0,00323177	54,54545	Гиперметилирован	CTSF
0,00577371	40,25341	Гиперметилирован	FGF3
0,00225252	52,08333	Гиперметилирован	SHANK2
0,00217418	46,66667	Гиперметилирован	SHANK2
$1,4079 \times 10^{-5}$	66,66667	Гиперметилирован	KRTAP5-11
0,00979743	29,69215	Гиперметилирован	PIDD1
$6,0677 \times 10^{-10}$	87,72727	Гиперметилирован	POLR2L
0,00686985	56,92308	Гиперметилирован	DLG2
$6,5122 \times 10^{-10}$	81,2459	Гиперметилирован	CHID1
0,00061179	75	Гиперметилирован	TMEM9B
0,0094547	70	Гиперметилирован	SWAP70
$2,454 \times 10^{-5}$	81,81818	Гиперметилирован	SBF2-AS1
$2,3295 \times 10^{-10}$	100	Гиперметилирован	LINC02709
0,00973455	44,23077	Гиперметилирован	ASCL1
0,00107668	68,75	Гиперметилирован	NUAK1
0,00947823	58,33333	Гиперметилирован	ABTB3
0,00303725	47,95918	Гиперметилирован	TBX3
0,00095622	60,41667	Гиперметилирован	MIR4472-2
0,00708566	63,63636	Гиперметилирован	FBXO21
0,00454178	61,31757	Гиперметилирован	CAMKK2
0,00571269	60,60606	Гиперметилирован	RILPL1
0,00206185	81,81818	Гиперметилирован	TMEM132B
0,00323706	40,97222	Гиперметилирован	TMEM132D
$2,1856 \times 10^{-8}$	96,9697	Гиперметилирован	RIMBP2
0,00129483	75,53763	Гиперметилирован	RIMBP2
0,00072882	78,57143	Гиперметилирован	ADGRD1-AS1
0,00895051	57,12418	Гиперметилирован	ADGRD1-AS1
0,00054596	75,86207	Гиперметилирован	FBRSL1
0,00115035	66,66667	Гиперметилирован	FBRSL1
0,00429003	59,09091	Гиперметилирован	GOLGA3
$4,1428 \times 10^{-11}$	100	Гиперметилирован	TSPAN11
$2,7038 \times 10^{-5}$	100	Гиперметилирован	TSPAN9
0,002935	50,50215	Гиперметилирован	COL2A1
0,00150931	66,66667	Гиперметилирован	ASB8
0,0046486	70	Гиперметилирован	KRT77
0,00584319	54,54545	Гиперметилирован	ATP5MC2
0,00356326	64,70588	Гиперметилирован	KICS2
0,00164536	73,24675	Гиперметилирован	COL4A2-AS1
0,0006391	76,96078	Гиперметилирован	COL4A2-AS1
$2,6685 \times 10^{-8}$	100	Гиперметилирован	LOC100506016
0,00041206	79,04762	Гиперметилирован	ATP11A-AS1

$3,6257 \times 10^{-5}$	43,47826	Гиперметилирован	MCF2L
0,00251744	34,71782	Гиперметилирован	ADPRHL1
0,00712639	53,125	Гиперметилирован	ADPRHL1
0,00769062	57,14286	Гиперметилирован	TMCO3
0,00112695	83,33333	Гиперметилирован	TFDP1
0,00737835	70	Гиперметилирован	TFDP1
0,00194041	39,91297	Гиперметилирован	GAS6-AS1
$2,6599 \times 10^{-5}$	46,73551	Гиперметилирован	GAS6-AS1
0,00456468	37,57042	Гиперметилирован	GAS6-AS1
0,00770925	56,25	Гиперметилирован	CDC16
0,00253368	70,91503	Гиперметилирован	LINC00424
0,00854088	58,33333	Гиперметилирован	ANKRD20A19P
$5,5921 \times 10^{-5}$	90,90909	Гиперметилирован	SPATA13
0,00200178	66,66667	Гиперметилирован	SLC7A1
0,00701001	66,66667	Гиперметилирован	ARL11
0,00973455	64,28571	Гиперметилирован	ARL11
0,00060409	71,77419	Гиперметилирован	DLEU2
0,00950207	52,94118	Гиперметилирован	DHRS12
0,00567082	50,34014	Гиперметилирован	SLC15A1
0,00244336	72,91667	Гиперметилирован	SLC25A47
0,00166589	39,93784	Гиперметилирован	BEGAIN
0,0002712	90	Гиперметилирован	AMN
0,00975174	60	Гиперметилирован	AMN
0,00150042	40	Гиперметилирован	LBHD2
0,0048943	58,82353	Гиперметилирован	XRCC3
$1,0379 \times 10^{-6}$	100	Гиперметилирован	CEP170B
0,00313594	58,94886	Гиперметилирован	PLD4
$7,4675 \times 10^{-13}$	93,75	Гиперметилирован	PLD4
0,00127615	56,75676	Гиперметилирован	NUDT14
0,00886286	38,46154	Гиперметилирован	NPAS3
0,00161738	26,08696	Гиперметилирован	MDGA2
0,00693878	47,22222	Гиперметилирован	JDP2
$5,5138 \times 10^{-5}$	74	Гиперметилирован	LOC105370619
$1,6023 \times 10^{-6}$	81,25	Гиперметилирован	C14orf132
0,00587172	29,57018	Гиперметилирован	BCL11B
0,00987141	75	Гиперметилирован	ADAMTS17
$3,9498 \times 10^{-5}$	47,36842	Гиперметилирован	UBE2Q2P13
0,00050919	72,72727	Гиперметилирован	NBEAP1
0,00011705	80	Гиперметилирован	NBEAP1
0,00568404	61,26126	Гиперметилирован	LTK
0,00686985	63,15789	Гиперметилирован	SPPL2A
$3,0705 \times 10^{-5}$	92,30769	Гиперметилирован	LINC01413
$4,7544 \times 10^{-10}$	100	Гиперметилирован	NOX5

0,00027291	75	Гиперметилирован	THSD4
0,00653467	40	Гиперметилирован	PKM
0,00136681	70	Гиперметилирован	ISLR2
$2,6302 \times 10^{-7}$	76,47059	Гиперметилирован	MIR4313
0,00046835	62,5	Гиперметилирован	LINGO1
0,00011459	50	Гиперметилирован	GOLGA6FP
0,00033569	68,2598	Гиперметилирован	GOLGA6FP
0,00457772	65,45455	Гиперметилирован	GOLGA6FP
$2,7068 \times 10^{-5}$	93,33333	Гиперметилирован	ABHD17C
$4,4304 \times 10^{-5}$	73,33333	Гиперметилирован	GOLGA6L3P
0,00041922	55	Гиперметилирован	MIR3529
0,00658489	51,13122	Гиперметилирован	MIR9-3HG
0,00129483	60,72261	Гиперметилирован	ANPEP
$5,1816 \times 10^{-6}$	92,30769	Гиперметилирован	RGMA
0,00649412	58,06452	Гиперметилирован	LYSMD4
$2,0903 \times 10^{-8}$	100	Гиперметилирован	SSTR5
$1,0364 \times 10^{-5}$	100	Гиперметилирован	GNPTG
0,00183405	53,84615	Гиперметилирован	NUBP2
0,00725211	55,63063	Гиперметилирован	HBQ1
0,00672507	60	Гиперметилирован	ERN2
0,00491624	69,23077	Гиперметилирован	PRKCB
0,00272252	53,84615	Гиперметилирован	CACNG3
0,00266785	83,97436	Гиперметилирован	MIR4721
0,00160018	50	Гиперметилирован	ZSCAN10
0,00847757	32,22222	Гиперметилирован	MIR6769A
0,00363814	65,38462	Гиперметилирован	ZNF423
0,00289502	47,36842	Гиперметилирован	SALL1
0,00323177	54,54545	Гиперметилирован	LINC02140
0,00087523	61,11111	Гиперметилирован	METRN
0,00049873	90,90909	Гиперметилирован	LOC100129617
0,00242173	53,84615	Гиперметилирован	MIR3182
0,00014605	80	Гиперметилирован	HSBP1
0,00119716	76,62338	Гиперметилирован	SLC38A8
$4,7891 \times 10^{-5}$	85,29412	Гиперметилирован	SLC38A8
0,00089679	25,47605	Гиперметилирован	MIR6774
0,00578659	70	Гиперметилирован	LINC01082
0,00134876	66,98718	Гиперметилирован	JPH3
0,00568404	69,56522	Гиперметилирован	JPH3
0,00647918	63,33333	Гиперметилирован	JPH3
0,00342365	58,33333	Гиперметилирован	BANP
$7,8025 \times 10^{-6}$	100	Гиперметилирован	BANP
0,00034999	47,27273	Гиперметилирован	BANP
$9,3011 \times 10^{-7}$	44,72898	Гиперметилирован	BANP

$5,5813 \times 10^{-5}$	75	Гиперметилирован	LINC02182
0,00041206	76,19048	Гиперметилирован	ZFPM1-AS1
0,00795904	45,83333	Гиперметилирован	ZC3H18-AS1
0,00496937	30	Гиперметилирован	IL17C
0,00023775	52,57048	Гиперметилирован	IL17C
0,00117149	40	Гиперметилирован	IL17C
0,00189912	54,54545	Гиперметилирован	IL17C
0,00520305	60	Гиперметилирован	SPATA33
0,00584319	44,84127	Гиперметилирован	ZNF276
$5,5739 \times 10^{-8}$	73,80952	Гиперметилирован	LMF1-AS1
$1,7432 \times 10^{-6}$	58,82353	Гиперметилирован	MPG
0,00306051	40,29851	Гиперметилирован	LINC02091
0,00287192	65,51724	Гиперметилирован	TMEM98
0,00444139	40,54054	Гиперметилирован	SLFN13
0,00271605	41,133	Гиперметилирован	SLFN13
0,0004949	41,5873	Гиперметилирован	SLFN13
0,00864271	50,12755	Гиперметилирован	ITGAE
0,00441226	69,44444	Гиперметилирован	MIR6779
$5,5921 \times 10^{-5}$	75,60976	Гиперметилирован	CAMKK1
0,00023639	62,5	Гиперметилирован	GSDMB
0,00608995	75,90909	Гиперметилирован	KRT36
0,0090157	46,875	Гиперметилирован	LINC00910
0,0009947	85,71429	Гиперметилирован	SOST
0,00962202	56,25	Гиперметилирован	ALOX15
0,00536687	66,66667	Гиперметилирован	PDK2
0,00425747	83,33333	Гиперметилирован	CACNA1G-AS1
0,00014538	84,61538	Гиперметилирован	LOC105371855
0,00041206	68,75	Гиперметилирован	TLCD3A
0,00525635	56,52174	Гиперметилирован	LINC00469
0,0005899	28,053	Гиперметилирован	GEMIN4
$7,5544 \times 10^{-5}$	64,58333	Гиперметилирован	GEMIN4
0,0002712	90	Гиперметилирован	MXRA7
0,00029213	61,11111	Гиперметилирован	DNAH17
$5,9128 \times 10^{-11}$	100	Гиперметилирован	RBFOX3
0,00819847	35	Гиперметилирован	ENPP7
0,00170264	57,06522	Гиперметилирован	CBX8
0,00231926	52,97619	Гиперметилирован	CBX8
0,00053696	46,15385	Гиперметилирован	CBX4
0,00148263	69,44444	Гиперметилирован	RNF213
0,00577156	54,26065	Гиперметилирован	RPTOR
$6,2231 \times 10^{-7}$	100	Гиперметилирован	LOC101928855
$1,4524 \times 10^{-8}$	85,58201	Гиперметилирован	LOC101928855
0,0005184	68,42105	Гиперметилирован	LOC101928855

$3,1671 \times 10^{-6}$	76,10294	Гиперметилирован	PER1
0,00386966	47,91667	Гиперметилирован	TBCD
0,00362358	60	Гиперметилирован	TBCD
$2,4452 \times 10^{-5}$	80,55556	Гиперметилирован	NTN1
0,00454163	83,21678	Гиперметилирован	MIR5190
0,00477938	63,63636	Гиперметилирован	AQP4
0,00497561	58,01714	Гиперметилирован	MIR4744
0,00686146	64,88294	Гиперметилирован	ATP8B1
0,00873432	54,54545	Гиперметилирован	PHLPP1
0,00899247	31,81818	Гиперметилирован	BCL2
$6,7124 \times 10^{-6}$	50,99161	Гиперметилирован	SALL3
$1,2431 \times 10^{-5}$	32,3666	Гиперметилирован	KCNG2
0,00011804	69,23077	Гиперметилирован	HSBP1L1
0,0092875	67,80488	Гиперметилирован	MIR4748
$1,0364 \times 10^{-5}$	100	Гиперметилирован	C19orf53
0,00387311	65,625	Гиперметилирован	CPAMD8
0,00018659	50	Гиперметилирован	MRPL34
0,00026617	92,30769	Гиперметилирован	UNC13A
0,00256297	62,22222	Гиперметилирован	B3GNT3
0,00987141	75	Гиперметилирован	ISYNA1
0,00987141	75	Гиперметилирован	COMP
0,00636034	60,97561	Гиперметилирован	HAPLN4
$2,3197 \times 10^{-6}$	60,90909	Гиперметилирован	AP3D1
0,00635625	78,88889	Гиперметилирован	TIMM13
$6,4367 \times 10^{-9}$	85,61321	Гиперметилирован	S1PR4
0,00551698	66,66667	Гиперметилирован	MIER2
0,00029764	78,57143	Гиперметилирован	FAM187B
$4,5046 \times 10^{-5}$	50	Гиперметилирован	FFAR1
0,00273716	45,45455	Гиперметилирован	ARHGAP33
$4,161 \times 10^{-6}$	88,54167	Гиперметилирован	LOC105372383
0,00495299	66,66667	Гиперметилирован	PIP5K1C
0,00145847	71,79487	Гиперметилирован	GGN
$5,4047 \times 10^{-5}$	80,76923	Гиперметилирован	C2CD4C
0,00059937	72,32143	Гиперметилирован	C2CD4C
0,00050165	71,875	Гиперметилирован	PSG4
$6,448 \times 10^{-6}$	72,22222	Гиперметилирован	TEX101
0,00287192	40,65934	Гиперметилирован	SHC2
0,00971897	59,25926	Гиперметилирован	PLIN5
0,00114494	68,57143	Гиперметилирован	MYPOP
0,00065078	68,75	Гиперметилирован	PGLYRP1
0,00849774	36,17021	Гиперметилирован	SPHK2
$6,983 \times 10^{-6}$	62,9717	Гиперметилирован	KCNA7
0,00997557	51,4881	Гиперметилирован	KDM4B

0,0094833	37,5	Гиперметилирован	SPACA6-AS1
0,00107489	55,06993	Гиперметилирован	CACNG6
0,00617397	60,39216	Гиперметилирован	SHISA7
0,00271816	44,19382	Гиперметилирован	ISOC2
0,00112988	36,84211	Гиперметилирован	ISOC2
0,0094226	65	Гиперметилирован	INSR
0,00143459	70,96774	Гиперметилирован	MED16
0,00820887	64,51613	Гиперметилирован	MED16
0,00345515	69,72705	Гиперметилирован	MED16
0,00458948	66,66667	Гиперметилирован	MED16
0,00362823	42,85714	Гиперметилирован	ARID3A
0,00287192	61,11111	Гиперметилирован	RRM2
$1,646 \times 10^{-5}$	100	Гиперметилирован	MIR4261
0,00199027	60	Гиперметилирован	IL18R1
$4,3751 \times 10^{-5}$	83,33333	Гиперметилирован	RGPD3
$1,136 \times 10^{-5}$	91,66667	Гиперметилирован	RGPD3
$1,6023 \times 10^{-6}$	90,32258	Гиперметилирован	RGPD3
$2,7038 \times 10^{-5}$	100	Гиперметилирован	CD8B2
$1,075 \times 10^{-6}$	84,61538	Гиперметилирован	SH3RF3
$1,5476 \times 10^{-7}$	100	Гиперметилирован	SH3RF3
$3,1451 \times 10^{-9}$	84,21053	Гиперметилирован	KCNF1
0,00477938	68,72727	Гиперметилирован	IL1B
0,0012663	48,94118	Гиперметилирован	PAX8
$5,891 \times 10^{-7}$	43,38061	Гиперметилирован	DPP10
0,00223438	62,63889	Гиперметилирован	LOC107985939
0,00051962	70,07752	Гиперметилирован	LOC107985939
0,00382671	69,16667	Гиперметилирован	LOC107985939
0,00049873	73,68421	Гиперметилирован	LOC107985939
0,00106781	71,29187	Гиперметилирован	LOC107985939
0,00073007	74,83766	Гиперметилирован	LOC107985939
$2,7068 \times 10^{-5}$	82,75862	Гиперметилирован	LOC107985939
0,00022124	69,48052	Гиперметилирован	LOC107985939
0,00775073	32,75862	Гиперметилирован	LINC01101
0,00256297	63,63636	Гиперметилирован	TRIB2
0,00290764	75,65217	Гиперметилирован	ARHGEF4
0,00014946	66,66667	Гиперметилирован	NCKAP5-AS2
0,00014946	66,66667	Гиперметилирован	NCKAP5-AS2
$4,1738 \times 10^{-5}$	78,78788	Гиперметилирован	LINC01804
0,00685906	66,66667	Гиперметилирован	LINC01804
$9,9862 \times 10^{-5}$	76,92308	Гиперметилирован	LINC01124
$1,646 \times 10^{-5}$	100	Гиперметилирован	LINC01376
0,00093052	77,23404	Гиперметилирован	GDF7
0,00320397	73,72093	Гиперметилирован	GDF7

0,00261191	68,18182	Гиперметилирован	GDF7
0,00651095	64,10256	Гиперметилирован	GDF7
0,00873432	63,63636	Гиперметилирован	GDF7
0,00267552	83,75	Гиперметилирован	GDF7
0,00737154	74,73684	Гиперметилирован	GDF7
0,00369812	70	Гиперметилирован	GDF7
0,00063184	76,47059	Гиперметилирован	ATIC
0,0094833	64,00709	Гиперметилирован	SPEGNB
$2,9764 \times 10^{-10}$	100	Гиперметилирован	ACSL3
0,00256276	47,05882	Гиперметилирован	SNORA75
$3,5416 \times 10^{-5}$	80	Гиперметилирован	GBX2
$2,7038 \times 10^{-5}$	90,90909	Гиперметилирован	LINC01107
0,00450372	52,77778	Гиперметилирован	MGC16025
0,00940366	76,92308	Гиперметилирован	LOC150935
$1,5812 \times 10^{-5}$	42,96296	Гиперметилирован	GPR35
0,00279408	80	Гиперметилирован	BOK-AS1
0,00272252	72,72727	Гиперметилирован	FOSL2-AS1
0,00066302	85,35354	Гиперметилирован	LCLAT1
$1,0515 \times 10^{-13}$	96	Гиперметилирован	LINC01250
0,00147763	53,33333	Гиперметилирован	PPM1B
0,00287192	61,11111	Гиперметилирован	MCFD2
0,00451281	48	Гиперметилирован	BCL11A
0,00030283	45	Гиперметилирован	LINC01800
0,00814621	68,61538	Гиперметилирован	GFPT1
0,00873432	70,58824	Гиперметилирован	LINC01143
0,00325218	57,20588	Гиперметилирован	LINC01939
$2,9454 \times 10^{-6}$	88,23529	Гиперметилирован	SLC24A3
0,00195103	72,99465	Гиперметилирован	LINC00237
$4,0451 \times 10^{-14}$	90,90909	Гиперметилирован	GGTL1
0,00957118	57,57576	Гиперметилирован	CST7
0,00021345	85,71429	Гиперметилирован	CPXM1
0,0088685	64,39394	Гиперметилирован	TMEM239
$5,9128 \times 10^{-11}$	94,44444	Гиперметилирован	EFCAB8
$1,5307 \times 10^{-6}$	90	Гиперметилирован	EFCAB8
0,00143045	36,95529	Гиперметилирован	MMP9
$7,2557 \times 10^{-9}$	100	Гиперметилирован	LINC01522
0,00298941	53,65854	Гиперметилирован	PTGIS
0,00477938	63,63636	Гиперметилирован	LINC01273
0,00049873	90,90909	Гиперметилирован	LINC01271
0,00123004	56,52174	Гиперметилирован	RTF2
0,00119716	71,42857	Гиперметилирован	LINC01742
$5,5245 \times 10^{-5}$	77,27273	Гиперметилирован	APCDD1L-DT
0,00023006	50	Гиперметилирован	PHACTR3

0,0090157	46,875	Гиперметилирован	MIR4758
0,00072882	87,5	Гиперметилирован	DPH3P1
0,0086908	30,43478	Гиперметилирован	SLC17A9
0,0009947	74,07407	Гиперметилирован	LINC00029
0,00041206	68,75	Гиперметилирован	LINC00029
0,0048943	58,82353	Гиперметилирован	LINC00029
0,00416176	67,64706	Гиперметилирован	LINC00029
0,00387311	65,625	Гиперметилирован	LINC00029
0,00648269	54,60317	Гиперметилирован	CHRNA4
0,00093057	42,85714	Гиперметилирован	HELZ2
0,00929834	48,29001	Гиперметилирован	TNFRSF6B
0,00025668	76,04396	Гиперметилирован	ZBTB46
0,00321192	66,81034	Гиперметилирован	MRAP
0,00888154	38,88889	Гиперметилирован	CLIC6
0,00953988	56,5407	Гиперметилирован	UMODL1-AS1
$6,6088 \times 10^{-5}$	90	Гиперметилирован	PDE9A
$1,2639 \times 10^{-6}$	90	Гиперметилирован	PKNOX1
0,00234166	54,14747	Гиперметилирован	PKNOX1
0,00313594	53,84615	Гиперметилирован	AATBC
0,00383884	71,42857	Гиперметилирован	PTTG1IP
$1,4402 \times 10^{-8}$	91,30435	Гиперметилирован	LINC00316
$3,4811 \times 10^{-8}$	62,60004	Гиперметилирован	LINC00316
$1,949 \times 10^{-6}$	100	Гиперметилирован	PCBP3
0,00954612	42,10526	Гиперметилирован	COL6A2
$1,8701 \times 10^{-5}$	50,58824	Гиперметилирован	HDHD5
0,00356326	64,86486	Гиперметилирован	PRAMENP
0,00151563	68,29268	Гиперметилирован	PRAMENP
0,00369812	43,61702	Гиперметилирован	NEFH
0,00973455	64,28571	Гиперметилирован	PISD
$5,0529 \times 10^{-5}$	63,63636	Гиперметилирован	YWHAH-AS1
0,00012027	78,36538	Гиперметилирован	CSF2RB
0,00378566	70,58824	Гиперметилирован	IL2RB
0,0071684	40,90909	Гиперметилирован	LINC01315
0,00777292	61,11111	Гиперметилирован	PAC SIN2
0,00545879	61,66667	Гиперметилирован	ARHGAP8
$2,5859 \times 10^{-6}$	76,47059	Гиперметилирован	LINC01589
0,00017801	60,49383	Гиперметилирован	LOC339685
$9,2121 \times 10^{-5}$	55,55556	Гиперметилирован	LOC339685
0,00095756	48	Гиперметилирован	LOC339685
0,00106865	76,92308	Гиперметилирован	EPIC1
$1,3973 \times 10^{-6}$	94,73684	Гиперметилирован	MIR3201
0,00160918	81,25	Гиперметилирован	CRELD2
0,00020965	70,58824	Гиперметилирован	IL17REL

0,00215368	70,37037	Гиперметилирован	ARHGAP31-AS1
0,00465585	41,66667	Гиперметилирован	RUVBL1-AS1
0,00649412	38,46154	Гиперметилирован	RUVBL1-AS1
0,00015747	75,59913	Гиперметилирован	HDAC11
0,00730579	47,61905	Гиперметилирован	GK5
0,0094226	41,66667	Гиперметилирован	GK5
$1,3145 \times 10^{-5}$	100	Гиперметилирован	LINC00880
0,00100482	81,81818	Гиперметилирован	TMEM44-AS1
$2,6756 \times 10^{-8}$	100	Гиперметилирован	XXYLT1-AS1
0,00261795	73,91304	Гиперметилирован	LINC00885
0,00036244	71,88811	Гиперметилирован	VILL
0,00148263	60,71429	Гиперметилирован	SCN5A
$1,3427 \times 10^{-5}$	95,45455	Гиперметилирован	SUMF1
0,00519414	40,74074	Гиперметилирован	EGOT
0,00290764	58,73016	Гиперметилирован	TREX1
$1,4402 \times 10^{-8}$	100	Гиперметилирован	NCKIPSD
0,00015303	31,49847	Гиперметилирован	COL25A1
0,00737154	58,19209	Гиперметилирован	CTBP1-AS
0,00092359	76,92308	Гиперметилирован	LINC02270
0,00089816	75	Гиперметилирован	SNHG27
0,00575239	37,5	Гиперметилирован	SNHG27
0,00062747	29,96894	Гиперметилирован	SNHG27
$5,4411 \times 10^{-6}$	31,26126	Гиперметилирован	SNHG27
$4,629 \times 10^{-5}$	44,52055	Гиперметилирован	SNHG27
0,00528809	38,7204	Гиперметилирован	NKX1-1
0,00369812	70	Гиперметилирован	AADAT
0,00477938	63,63636	Гиперметилирован	CLDN24
$3,7496 \times 10^{-5}$	31,25	Гиперметилирован	F11
0,00121865	59,09091	Гиперметилирован	ZFYVE28
0,00120264	65,35519	Гиперметилирован	NOP14
0,00416176	67,64706	Гиперметилирован	HTT-AS
0,0035554	71,66667	Гиперметилирован	RGS12
0,00551334	76,47059	Гиперметилирован	LOC101928279
0,00170147	84,52381	Гиперметилирован	PIGG
0,00032412	60	Гиперметилирован	GSX2
0,00019771	81,81818	Гиперметилирован	JAKMIP1
$4,0309 \times 10^{-6}$	76	Гиперметилирован	PPP2R2C
0,00014849	72,72727	Гиперметилирован	PPP2R2C
0,00308126	61,53846	Гиперметилирован	PPP2R2C
0,00627858	46,15385	Гиперметилирован	LOC100129931
0,00411206	32,91246	Гиперметилирован	PCGF3
0,00154805	74,01961	Гиперметилирован	PCGF3-AS1
0,00039189	63,37209	Гиперметилирован	MIR4274

0,00308511	56,38528	Гиперметилирован	DRD5
0,00050165	50	Гиперметилирован	DAP
0,00369812	52,38095	Гиперметилирован	EPB41L4A-DT
0,00794838	39,94795	Гиперметилирован	TERLR1
0,00479346	55,90909	Гиперметилирован	PDLIM4
0,00267294	36,36364	Гиперметилирован	CXXC5
0,00266785	58,58824	Гиперметилирован	PCDHGB5
0,0013693	66,66667	Гиперметилирован	OTULIN-DT
0,00451281	65,85366	Гиперметилирован	IL17B
$1,2442 \times 10^{-8}$	100	Гиперметилирован	MIR1294
$4,8392 \times 10^{-5}$	90	Гиперметилирован	WWC1
0,00038115	80	Гиперметилирован	PANK3
$1,0364 \times 10^{-5}$	100	Гиперметилирован	SPDL1
0,00106636	60	Гиперметилирован	KCNIP1
0,00536687	45,45455	Гиперметилирован	KCNIP1
0,00144526	65,85366	Гиперметилирован	MIR12118
$3,2555 \times 10^{-6}$	85,12586	Гиперметилирован	LINC01485
0,00568404	61,11111	Гиперметилирован	MIR4634
0,00143459	70,96774	Гиперметилирован	HK3
$3,1857 \times 10^{-6}$	64,44444	Гиперметилирован	DBN1
0,00033769	61,64835	Гиперметилирован	DBN1
$8,988 \times 10^{-7}$	100	Гиперметилирован	DDX41
0,00592584	66,35945	Гиперметилирован	PHYKPL
0,00274626	75,71429	Гиперметилирован	PHYKPL
$8,6004 \times 10^{-5}$	68,75	Гиперметилирован	COL23A1
0,00812177	61,70213	Гиперметилирован	PDCD6-DT
0,00940366	76,92308	Гиперметилирован	LSP1P3
$2,3208 \times 10^{-7}$	100	Гиперметилирован	LINC01377
0,00794024	80	Гиперметилирован	EXOC3-AS1
0,00329918	66,66667	Гиперметилирован	GPX8
0,00104684	55,10753	Гиперметилирован	PIK3R1
$9,9124 \times 10^{-6}$	90,90909	Гиперметилирован	PIK3R1
0,00706856	29,81728	Гиперметилирован	OTP
$5,8549 \times 10^{-7}$	100	Гиперметилирован	SCAMP1-AS1
0,0064761	50	Гиперметилирован	DMGDH
0,00030178	43,47826	Гиперметилирован	TFAP2A
0,00724527	64,16084	Гиперметилирован	TRAF3IP2
0,00634246	66,66667	Гиперметилирован	LOC285762
0,00268405	66,66667	Гиперметилирован	MYCT1
$4,7269 \times 10^{-14}$	100	Гиперметилирован	SYNJ2
0,00025902	53,19149	Гиперметилирован	TCP10L3
0,00379106	64,28571	Гиперметилирован	FRMD1
0,00115035	33,33333	Гиперметилирован	SMOC2

$9,8725 \times 10^{-8}$	87,30435	Гиперметилирован	LOC154449
$9,0498 \times 10^{-8}$	100	Гиперметилирован	BTN3A2
$2,2458 \times 10^{-10}$	47,7673	Гиперметилирован	RIPK1
0,00057128	67,74194	Гиперметилирован	MDGA1
0,00814621	47,82609	Гиперметилирован	FAM50B
0,00288677	57,14286	Гиперметилирован	LOC102724096
$8,2838 \times 10^{-8}$	50	Гиперметилирован	GNMT
0,00292455	64,28571	Гиперметилирован	LINC02533
0,00215368	70,37037	Гиперметилирован	SCIRT
0,0089667	42,85714	Гиперметилирован	RUNX2
0,00949541	77,57576	Гиперметилирован	PPP1R3G
0,00487146	41,66667	Гиперметилирован	IRF4
$3,4547 \times 10^{-6}$	84,21053	Гиперметилирован	MIR5683
0,00057882	52,94118	Гиперметилирован	RREB1
$4,599 \times 10^{-5}$	80,30303	Гиперметилирован	RREB1
0,00693878	66,66667	Гиперметилирован	SSR1
0,00616976	57,14286	Гиперметилирован	UFSP1
0,00072433	53,84615	Гиперметилирован	UFSP1
0,00479729	47,36842	Гиперметилирован	WASL
$3,1141 \times 10^{-13}$	83,14607	Гиперметилирован	MIR593
0,00488364	36,05991	Гиперметилирован	CCDC136
0,00568461	46,15385	Гиперметилирован	UNCX
0,00393472	63,63636	Гиперметилирован	ZNF398
0,00987141	75	Гиперметилирован	LINC01003
$1,0514 \times 10^{-11}$	77,14286	Гиперметилирован	CNPY1
0,00136469	72,30769	Гиперметилирован	NOM1
0,00261341	54,54545	Гиперметилирован	MNX1-AS1
0,00057056	54,83376	Гиперметилирован	MIR153-2
0,00110368	55,56338	Гиперметилирован	MIR153-2
$5,1636 \times 10^{-6}$	73,15668	Гиперметилирован	PTPRN2-AS1
$1,6306 \times 10^{-8}$	74,90196	Гиперметилирован	PTPRN2-AS1
0,00195813	67,85714	Гиперметилирован	MIR595
0,00374256	30,35382	Гиперметилирован	DYNC2I1
$1,6079 \times 10^{-6}$	57,14286	Гиперметилирован	LINC00689
0,00259344	55,95238	Гиперметилирован	LINC00689
$7,881 \times 10^{-5}$	70,23593	Гиперметилирован	LINC00689
0,00049045	72,72727	Гиперметилирован	CRHR2
0,00263652	66,66667	Гиперметилирован	PDE1C
0,00011563	83,33333	Гиперметилирован	PDE1C
0,00936707	66,66667	Гиперметилирован	LINC01450
0,00567082	35,71429	Гиперметилирован	ADCY1
$6,983 \times 10^{-6}$	75,60976	Гиперметилирован	RADIL
0,00454471	81,81818	Гиперметилирован	COBL

0,00146444	90	Гиперметилирован	LOC107986794
$2,1627 \times 10^{-7}$	100	Гиперметилирован	LOC107986794
$6,3881 \times 10^{-7}$	85,71429	Гиперметилирован	SLC29A4
0,0015439	57,83476	Гиперметилирован	EGFR
0,00146444	90	Гиперметилирован	EGFR
0,00551698	54,11255	Гиперметилирован	LOC401357
0,00859224	61,22449	Гиперметилирован	MIR4283-1
0,00325218	58,33333	Гиперметилирован	SPDYE21
0,00128177	54,54545	Гиперметилирован	CLDN4
0,00215162	26,19048	Гиперметилирован	ADAP1
0,00287559	29,38988	Гиперметилирован	ADAP1
0,00154297	26,31579	Гиперметилирован	ADAP1
0,00056457	42,72727	Гиперметилирован	ADAP1
0,00875349	61,90476	Гиперметилирован	ADAP1
$1,168 \times 10^{-6}$	75	Гиперметилирован	EXT1
0,00568404	69,56522	Гиперметилирован	TRIB1
0,00206185	81,81818	Гиперметилирован	SLC45A4
$4,4483 \times 10^{-5}$	75	Гиперметилирован	SLC45A4-AS1
0,00340513	62,96296	Гиперметилирован	MIR4472-1
$3,6103 \times 10^{-5}$	65,71429	Гиперметилирован	GML
0,00378566	48,67925	Гиперметилирован	PSD3
0,00638542	67,99242	Гиперметилирован	PSD3
0,00061564	70	Гиперметилирован	STMN4
$7,431 \times 10^{-7}$	100	Гиперметилирован	ZNF596
0,0089667	49,91087	Гиперметилирован	DUSP4
0,00219543	50	Гиперметилирован	DUSP4
0,00410514	47,61905	Гиперметилирован	DUSP4
$6,522 \times 10^{-10}$	91,17647	Гиперметилирован	LINC03021
0,0086908	43,63395	Гиперметилирован	ZNF703
0,00649412	42,72727	Гиперметилирован	ADGRA2
0,00686985	75	Гиперметилирован	HTRA4
0,00873432	54,54545	Гиперметилирован	PENK-AS1
$4,161 \times 10^{-6}$	73,33333	Гиперметилирован	STAU2-AS1
0,00143459	80,95238	Гиперметилирован	KLF4
$1,3552 \times 10^{-6}$	68,20728	Гиперметилирован	ZNF618
$3,3429 \times 10^{-8}$	100	Гиперметилирован	TLR4
0,00986947	43,75	Гиперметилирован	GSN
0,00329918	73,33333	Гиперметилирован	MORN5
0,00313606	52	Гиперметилирован	MVB12B
0,00607076	45,83333	Гиперметилирован	FCN1
0,00820348	56,41026	Гиперметилирован	LINC02907
$6,0567 \times 10^{-5}$	91,66667	Гиперметилирован	KCNT1
0,00011813	64,28571	Гиперметилирован	CIMIP2A

$8,1516 \times 10^{-5}$	74,28571	Гиперметилирован	TUBBP5
0,00852241	30,56315	Гиперметилирован	BNC2
0,00781269	30,5914	Гиперметилирован	BNC2
0,00256276	53,20911	Гиперметилирован	ACER2
0,00070721	36,75958	Гиперметилирован	FAM27E2
0,00938616	68,51852	Гиперметилирован	FAM27C
$7,7146 \times 10^{-6}$	92,30769	Гиперметилирован	KANK1
0,00329918	66,66667	Гиперметилирован	FOXB2
0,00618251	55,55556	Гиперметилирован	DMAC1
0,00014549	79,47154	Гиперметилирован	MIR548AU
0,00112988	62,73713	Гиперметилирован	MIR548AU
0,00057056	70,83333	Гиперметилирован	LINC02603

Таблица Б2 – Дифференциально гипометилированные регионы ДНК пациентов, демонстрирующих ответ на терапию против пациентов, не демонстрирующих ответ на терапию

FDR	Разница метилирования (meth.diff)	Статус метилирования	Ген
0,00592	-53,0702	Гипометилирован	TNFRSF4
0,000818	-58,3333	Гипометилирован	AADACL4
0,005039	-61,2727	Гипометилирован	KAZN
0,000149	-84,8485	Гипометилирован	TMEM51-AS2
0,000164	-88,8889	Гипометилирован	TMEM51-AS2
$4,21 \times 10^{-5}$	-78,5714	Гипометилирован	HAX1
$1,24 \times 10^{-5}$	-55,6437	Гипометилирован	TMEM240
0,002422	-50	Гипометилирован	MIR765
0,00794	-80	Гипометилирован	HSPB7
$6,09 \times 10^{-6}$	-78,5714	Гипометилирован	EPHA2
0,000724	-37,196	Гипометилирован	FCGR2A
$9,78 \times 10^{-5}$	-34,3266	Гипометилирован	FCGR2A
$7,97 \times 10^{-5}$	-34,3895	Гипометилирован	FCGR2A
0,002784	-61,7647	Гипометилирован	UCK2
0,00296	-50,6211	Гипометилирован	ARHGEF10L
0,003624	-54,5455	Гипометилирован	PAX7
$9,68 \times 10^{-7}$	-83,7838	Гипометилирован	FCAMR
0,003708	-51,2821	Гипометилирован	PRKCZ
$3,71 \times 10^{-12}$	-94	Гипометилирован	RD3
$4,84 \times 10^{-5}$	-90	Гипометилирован	DUSP10
0,002337	-74,4108	Гипометилирован	TP53BP2
$3,59 \times 10^{-5}$	-90,9091	Гипометилирован	CNIH3
$1,38 \times 10^{-8}$	-97,4359	Гипометилирован	OBSCN-AS1
$6,22 \times 10^{-7}$	-96,5517	Гипометилирован	RAB4A
0,007252	-55,6306	Гипометилирован	LOC100129534
$5,36 \times 10^{-7}$	-89,5299	Гипометилирован	MTR
0,000402	-77,7778	Гипометилирован	SELENON
0,003361	-77,451	Гипометилирован	CRYBG2
0,00175	-71,2074	Гипометилирован	MATN1-AS1
0,001703	-83,3333	Гипометилирован	MIR4251
$1,05 \times 10^{-7}$	-63,6364	Гипометилирован	MIR4251
0,003384	-60,8696	Гипометилирован	DFFB
$1,23 \times 10^{-5}$	-100	Гипометилирован	DFFB
0,00145	-68,9655	Гипометилирован	DFFB

0,008719	-55	Гипометилирован	HIVEP3
$4,96 \times 10^{-5}$	-79,4643	Гипометилирован	PTPRF
0,004332	-66,6667	Гипометилирован	AJAP1
0,000355	-69,2308	Гипометилирован	AJAP1
0,00726	-62,0536	Гипометилирован	MIR4689
$1,53 \times 10^{-7}$	-63,5942	Гипометилирован	LOC101928626
0,006494	-69,4737	Гипометилирован	DOCK7
$4,61 \times 10^{-7}$	-90	Гипометилирован	LINC01758
0,00864	-75,5682	Гипометилирован	CCDC18-AS1
0,002002	-72,3776	Гипометилирован	PTBP2
0,009069	-65,8307	Гипометилирован	PAX2
2×10^{-5}	-71,4286	Гипометилирован	IDI2-AS1
$3,93 \times 10^{-7}$	-90	Гипометилирован	ACTR1A
0,004381	-57,1429	Гипометилирован	FAM53B-AS1
0,000486	-71,7608	Гипометилирован	CTBP2
$4,47 \times 10^{-5}$	-89,6552	Гипометилирован	ADAM12
0,003143	-72,488	Гипометилирован	INSYN2A
0,005255	-64,1026	Гипометилирован	INSYN2A
$4,16 \times 10^{-6}$	-88,5417	Гипометилирован	LINC02667
$1,47 \times 10^{-9}$	-91,3043	Гипометилирован	LINC02667
$3,59 \times 10^{-7}$	-46,3721	Гипометилирован	GLRX3
0,006494	-68,1818	Гипометилирован	MIR378C
$8,79 \times 10^{-7}$	-96,875	Гипометилирован	TCERG1L
$1,33 \times 10^{-5}$	-68,3794	Гипометилирован	NKX6-2
$2,25 \times 10^{-6}$	-53,5783	Гипометилирован	LINC01166
0,001021	-49,6865	Гипометилирован	LINC01166
$2,14 \times 10^{-5}$	-54,6695	Гипометилирован	LINC01166
$7,97 \times 10^{-9}$	-61,9424	Гипометилирован	LINC01166
$1,3 \times 10^{-10}$	-59,8845	Гипометилирован	LINC01168
$2,16 \times 10^{-7}$	-50,0415	Гипометилирован	LINC01168
$3,88 \times 10^{-8}$	-53,1737	Гипометилирован	LINC01168
$6,85 \times 10^{-10}$	-58,3529	Гипометилирован	LINC01168
0,001482	-35,2079	Гипометилирован	LINC01168
0,002668	-34,6484	Гипометилирован	LINC01168
$9,04 \times 10^{-5}$	-42,6154	Гипометилирован	LINC01168
0,002154	-43,4122	Гипометилирован	LINC01168
0,000691	-40,2816	Гипометилирован	ADGRA1-AS1
$7,44 \times 10^{-6}$	-51,4286	Гипометилирован	ADGRA1-AS1
0,009869	-33,3333	Гипометилирован	ADGRA1-AS1
0,005176	-47,2222	Гипометилирован	ADAM8
0,005718	-31,4286	Гипометилирован	ADARB2-AS1
0,003299	-60,8696	Гипометилирован	FRMD4A
0,0024	-61,1111	Гипометилирован	FRMD4A

0,008202	-62,5	Гипометилирован	FRMD4A
$6,61 \times 10^{-7}$	-61,9544	Гипометилирован	ADARB2-AS1
0,000117	-65,7018	Гипометилирован	ADARB2-AS1
0,004562	-59,7222	Гипометилирован	ADARB2-AS1
0,007175	-34,557	Гипометилирован	ADARB2-AS1
0,009372	-41,1765	Гипометилирован	ADARB2-AS1
0,000691	-55,3306	Гипометилирован	ADARB2-AS1
0,004985	-42,1053	Гипометилирован	ADARB2-AS1
0,009502	-52,9412	Гипометилирован	ADARB2-AS1
0,009224	-50	Гипометилирован	LINC00837
$3,9 \times 10^{-7}$	-100	Гипометилирован	PFKP
0,005839	-61,5385	Гипометилирован	ARHGAP22
0,006598	-53,8462	Гипометилирован	WDFY4
0,002723	-72,7273	Гипометилирован	LASTR
0,00766	-50,6306	Гипометилирован	PFKFB3
$7,81 \times 10^{-9}$	-92	Гипометилирован	C10orf55
0,003562	-63,9583	Гипометилирован	VDAC2
0,002668	-83,3333	Гипометилирован	TSPAN14
$4,53 \times 10^{-6}$	-100	Гипометилирован	BTAF1
0,003226	-60	Гипометилирован	BTAF1
0,000222	-66,6667	Гипометилирован	HHEX
0,00143	-58,3333	Гипометилирован	CYP26A1
0,001942	-84,1176	Гипометилирован	BIRC3
0,0005	-88,2353	Гипометилирован	GALNT18
0,005752	-56,6667	Гипометилирован	BCL9L
0,000265	-80,6452	Гипометилирован	APLP2
0,003624	-72,0779	Гипометилирован	NTM-IT
0,000232	-61,1111	Гипометилирован	GLB1L2
$2,01 \times 10^{-5}$	-83,871	Гипометилирован	B3GAT1-DT
0,00429	-66,6667	Гипометилирован	LINC03031
0,005513	-76,4706	Гипометилирован	OR7E12P
$4,69 \times 10^{-8}$	-94	Гипометилирован	TP53I11
0,000704	-64,2857	Гипометилирован	MRPL16
$1,22 \times 10^{-8}$	-80	Гипометилирован	ASRGL1
$6,77 \times 10^{-6}$	-100	Гипометилирован	SCGB1A1
$2,88 \times 10^{-9}$	-96,4286	Гипометилирован	SLC22A12
$5,99 \times 10^{-8}$	-88,7879	Гипометилирован	RIN1
0,004578	-54,7368	Гипометилирован	CCS
0,00794	-80	Гипометилирован	FAM86C2P
0,005935	-72,2222	Гипометилирован	TCIRG1
$8,04 \times 10^{-6}$	-49,2063	Гипометилирован	FGF3
0,000707	-46,6667	Гипометилирован	ANO1
0,00217	-51,0684	Гипометилирован	ANO1

0,004073	-70,4301	Гипометилирован	DHCR7
0,005774	-53,2197	Гипометилирован	ALG1L9P
0,004013	-27,5862	Гипометилирован	TALDO1
0,00023	-60,7143	Гипометилирован	WNT11
$9,97 \times 10^{-5}$	-80	Гипометилирован	LRRC32
$4,58 \times 10^{-5}$	-76	Гипометилирован	PRCP
0,009404	-69,5652	Гипометилирован	NT5DC3
$7,05 \times 10^{-8}$	-100	Гипометилирован	SSH1
0,000424	-63,6364	Гипометилирован	SSH1
0,00467	-45,4545	Гипометилирован	ALKBH2
0,005774	-52,6316	Гипометилирован	LHX5-AS1
0,000549	-74,0741	Гипометилирован	LINC01234
0,002563	-60,8333	Гипометилирован	DIABLO
0,000571	-46,0031	Гипометилирован	ZNF664
0,000117	-72,2222	Гипометилирован	MIR6880
$6,98 \times 10^{-6}$	-92,5926	Гипометилирован	LINC00943
$6,26 \times 10^{-6}$	-41,2973	Гипометилирован	RIMBP2
0,0025	-80	Гипометилирован	RIMBP2
0,002623	-43,5606	Гипометилирован	RIMBP2
0,002723	-72,7273	Гипометилирован	LINC02370
0,001351	-67,1795	Гипометилирован	ULK1
$6,96 \times 10^{-5}$	-61,5819	Гипометилирован	LOC101928416
0,005922	-26,6667	Гипометилирован	GOLGA3
0,000112	-86,9565	Гипометилирован	MCRS1
$6,97 \times 10^{-7}$	-100	Гипометилирован	TMBIM6
0,00119	-73,062	Гипометилирован	KRT83
0,000647	-73,5294	Гипометилирован	KRT5
0,000116	-77,1429	Гипометилирован	KRT71
0,001197	-63,6364	Гипометилирован	NINJ2
0,002668	-83,3333	Гипометилирован	MIR5700
0,008343	-64,1509	Гипометилирован	MIR8073
0,00099	-63,5417	Гипометилирован	ATP11A-AS1
$6,98 \times 10^{-6}$	-84,6154	Гипометилирован	ATP11A-AS1
$2,35 \times 10^{-5}$	-81,6327	Гипометилирован	MCF2L
0,002461	-60	Гипометилирован	RASA3
$2,68 \times 10^{-5}$	-90	Гипометилирован	PARP4
0,001684	-65,8974	Гипометилирован	ATP12A
0,000118	-68,1818	Гипометилирован	GPR12
0,000616	-63,3333	Гипометилирован	DLK1
$2,83 \times 10^{-5}$	-57,1429	Гипометилирован	C14orf180
$8,56 \times 10^{-8}$	-71,7391	Гипометилирован	BRF1
0,002136	-75	Гипометилирован	AKAP6
0,002199	-62,5	Гипометилирован	MIR7843

$1,06 \times 10^{-9}$	-97,7273	Гипометилирован	BBOF1
0,002346	-90	Гипометилирован	NGB
0,000667	-39,1355	Гипометилирован	RIN3
0,00687	-66,6667	Гипометилирован	BCL11B
0,006695	-54,5455	Гипометилирован	SETD3
0,000945	-71,0526	Гипометилирован	HHIPL1
0,004257	-83,3333	Гипометилирован	HHIPL1
0,007688	-56,8182	Гипометилирован	ADAMTS17
0,001322	-60	Гипометилирован	SNORD115-37
0,009168	-43,6206	Гипометилирован	GABRB3
$8,2 \times 10^{-6}$	-64,1667	Гипометилирован	KNSTRN
0,007798	-40	Гипометилирован	LOC105370802
0,009407	-66,1538	Гипометилирован	HDC
$9,16 \times 10^{-6}$	-86,4865	Гипометилирован	SNORD13D
0,005429	-39,3275	Гипометилирован	LOC101928988
0,001063	-72,2222	Гипометилирован	ADPGK-AS1
0,003743	-49,0196	Гипометилирован	INSYN1
0,000134	-83,3333	Гипометилирован	TSPAN3
$3,75 \times 10^{-6}$	-90,9091	Гипометилирован	DNAJA4
$5,03 \times 10^{-8}$	-100	Гипометилирован	CLEC16A
0,001021	-78,125	Гипометилирован	LINC02130
$1,6 \times 10^{-8}$	-93,8776	Гипометилирован	MIR3177
$1,14 \times 10^{-5}$	-84,7866	Гипометилирован	MIR3177
0,003299	-76,4706	Гипометилирован	XYLT1
$1,89 \times 10^{-5}$	-94,1176	Гипометилирован	GPRC5B
0,000345	-66,6667	Гипометилирован	ACSM2B
0,001305	-65,7143	Гипометилирован	COG7
0,000347	-85,7143	Гипометилирован	KCTD5
$8,15 \times 10^{-11}$	-94,1176	Гипометилирован	KCTD5
0,00469	-46,1538	Гипометилирован	SNX29P2
0,00012	-48,1013	Гипометилирован	ZNF668
0,002195	-63,7255	Гипометилирован	SLX4
$5,59 \times 10^{-5}$	-67,2727	Гипометилирован	DNASE1
0,00049	-71,4286	Гипометилирован	LINC02861
0,007669	-65,5172	Гипометилирован	UBALD1
0,007967	-53,0242	Гипометилирован	ZNF423
0,000742	-68,617	Гипометилирован	EEF2KMT
0,002422	-50	Гипометилирован	MIR5587
0,002872	-61,1111	Гипометилирован	SLC6A2
$6,36 \times 10^{-7}$	-81,5385	Гипометилирован	WFIKKN1
0,002492	-54,7697	Гипометилирован	CDH16
$7,1 \times 10^{-5}$	-60	Гипометилирован	ADAMTS18
0,002479	-70	Гипометилирован	HSBP1

0,005955	-60	Гипометилирован	GSE1
0,002561	-45,5556	Гипометилирован	ZCCHC14
$1,01 \times 10^{-5}$	-90,2439	Гипометилирован	LOC400553
$1,15 \times 10^{-8}$	-95,9184	Гипометилирован	LOC400553
$3,09 \times 10^{-6}$	-96,2963	Гипометилирован	LOC400553
0,001518	-62,9032	Гипометилирован	LINC02182
0,0015	-56,6017	Гипометилирован	ZC3H18
0,004542	-56,993	Гипометилирован	LINC00304
0,005527	-54,8387	Гипометилирован	DBNDD1
0,00286	-43,7879	Гипометилирован	DBNDD1
0,00459	-31,25	Гипометилирован	LMF1-AS1
0,000557	-74,359	Гипометилирован	CCDC144A
0,003394	-60,4167	Гипометилирован	CCDC144A
$6,45 \times 10^{-5}$	-66,0232	Гипометилирован	LOC105371485
$1,98 \times 10^{-5}$	-58,6429	Гипометилирован	CCDC144NL
0,000898	-61,5385	Гипометилирован	SGSM2
0,007495	-59,2879	Гипометилирован	KSR1
$1,86 \times 10^{-10}$	-85	Гипометилирован	LOC101927911
$2,52 \times 10^{-6}$	-71,4286	Гипометилирован	LIG3
0,001336	-73,8095	Гипометилирован	CTNS
0,006279	-46,1538	Гипометилирован	AOC3
$2,71 \times 10^{-7}$	-84,6154	Гипометилирован	FAM215A
0,000294	-80	Гипометилирован	PELP1-DT
0,002723	-52,9412	Гипометилирован	HOXB1
0,005922	-38,0952	Гипометилирован	HOXB1
0,002668	-83,3333	Гипометилирован	TTLL6
0,002534	-70,915	Гипометилирован	TTLL6
0,003603	-53,8462	Гипометилирован	COL1A1
0,007071	-68,3794	Гипометилирован	AXIN2
$1,26 \times 10^{-6}$	-90	Гипометилирован	LOC101928251
0,000232	-83,3333	Гипометилирован	RPL38
0,007541	-58,9744	Гипометилирован	SLC16A5
0,001015	-59,1837	Гипометилирован	WBP2
0,000957	-80	Гипометилирован	METTL23
0,008951	-58,9286	Гипометилирован	MGAT5B
$2,9 \times 10^{-7}$	-90,3226	Гипометилирован	LOC105371899
$1,26 \times 10^{-6}$	-88,8889	Гипометилирован	LOC105371899
$2,42 \times 10^{-6}$	-95	Гипометилирован	LOC105371899
0,007134	-70,8333	Гипометилирован	RBFOX3
$1,98 \times 10^{-9}$	-54,1506	Гипометилирован	RBFOX3
0,008146	-47,3684	Гипометилирован	CNTROB
$4,6 \times 10^{-5}$	-76,4706	Гипометилирован	LOC101928855
0,000795	-58,2447	Гипометилирован	BAIAP2

0,001684	-55,9184	Гипометилирован	CCDC137
0,001684	-51,1429	Гипометилирован	MIR6787
$9,04 \times 10^{-5}$	-50	Гипометилирован	CD7
0,006622	-65	Гипометилирован	CD7
0,000995	-85,7143	Гипометилирован	SECTM1
$7,26 \times 10^{-9}$	-78,125	Гипометилирован	UTS2R
$6,89 \times 10^{-5}$	-58,9286	Гипометилирован	UTS2R
0,00687	-75	Гипометилирован	NARF
$3,12 \times 10^{-5}$	-36,87	Гипометилирован	MIR8078
$6,5 \times 10^{-5}$	-40,6667	Гипометилирован	MIR8078
0,000102	-66,6667	Гипометилирован	MIR8078
$3,77 \times 10^{-5}$	-67,4827	Гипометилирован	MIR8078
0,001212	-66,7989	Гипометилирован	MIR8078
0,001136	-71,7391	Гипометилирован	ZNF519
0,002908	-75,6522	Гипометилирован	B4GALT6
0,009386	-68,5185	Гипометилирован	FHOD3
0,00252	-46,1538	Гипометилирован	NEDD4L
0,002934	-46,1538	Гипометилирован	NEDD4L
$4,01 \times 10^{-5}$	-80	Гипометилирован	PHLPP1
0,001916	-77,3077	Гипометилирован	CNDP2
0,000643	-63,6364	Гипометилирован	MBP
$9,24 \times 10^{-5}$	-66,6667	Гипометилирован	MBP
$1,89 \times 10^{-8}$	-87,5	Гипометилирован	SALL3
0,004073	-37,0149	Гипометилирован	NFATC1
$2,98 \times 10^{-5}$	-68,0882	Гипометилирован	NFATC1
0,004105	-70,2703	Гипометилирован	NFATC1
$2,32 \times 10^{-7}$	-72,9167	Гипометилирован	NFATC1
$8,61 \times 10^{-8}$	-96,875	Гипометилирован	CTDP1
0,005557	-58,4135	Гипометилирован	CTDP1
0,001077	-68,75	Гипометилирован	KCNG2
0,001356	-58,5478	Гипометилирован	KCNG2
0,003898	-68	Гипометилирован	HSBP1L1
0,004589	-61,1111	Гипометилирован	HSBP1L1
0,000724	-78,7879	Гипометилирован	IER2
0,008891	-25,3799	Гипометилирован	PWWP3A
0,008882	-26,7411	Гипометилирован	PWWP3A
0,002613	-29,5338	Гипометилирован	PWWP3A
0,00199	-34,6154	Гипометилирован	MRI1
0,003007	-39,5334	Гипометилирован	MRI1
0,001075	-40,5848	Гипометилирован	MRI1
0,000221	-39,1304	Гипометилирован	MRI1
$2,04 \times 10^{-6}$	-46,0311	Гипометилирован	MRI1
$6,01 \times 10^{-5}$	-39,5032	Гипометилирован	MRI1

0,001521	-34,7164	Гипометилирован	MRI1
0,00286	-51,3324	Гипометилирован	C19orf53
0,000706	-78,3784	Гипометилирован	ILVBL
0,000408	-75	Гипометилирован	ILVBL
0,000987	-62,8842	Гипометилирован	PLK5
$1,98 \times 10^{-5}$	-68,6275	Гипометилирован	OR10H2
0,000146	-70,9677	Гипометилирован	CPAMD8
0,002913	-56,1762	Гипометилирован	LSM4
0,000105	-80,7692	Гипометилирован	LOC101929124
0,00258	-70,9677	Гипометилирован	GADD45B
0,008522	-52,1073	Гипометилирован	MIR7850
0,000156	-58,8235	Гипометилирован	DMKN
0,001789	-50	Гипометилирован	NPHS1
0,000354	-66,6667	Гипометилирован	CACTIN-AS1
$4,21 \times 10^{-5}$	-29,3517	Гипометилирован	LOC100134317
0,000242	-53,0612	Гипометилирован	MIR4530
0,000258	-61,5385	Гипометилирован	MIR637
$4,47 \times 10^{-7}$	-53,8095	Гипометилирован	C2CD4C
0,005153	-63,4615	Гипометилирован	PSG5
0,00276	-56,25	Гипометилирован	PLAUR
0,000773	-79,1667	Гипометилирован	IGSF23
0,004589	-47,9412	Гипометилирован	SPACA4
$5,19 \times 10^{-8}$	-75,9353	Гипометилирован	KDM4B
0,00032	-68,3995	Гипометилирован	RCN3
$4,53 \times 10^{-5}$	-100	Гипометилирован	CPT1C
0,00026	-44,8485	Гипометилирован	KDM4B
$1,66 \times 10^{-5}$	-69,8718	Гипометилирован	C19orf81
0,00303	-61,8619	Гипометилирован	KLK12
0,008691	-72,7273	Гипометилирован	CAPS
$6,07 \times 10^{-8}$	-90,5556	Гипометилирован	RNF126
0,009912	-60,303	Гипометилирован	PRSS57
0,00038	-68,1818	Гипометилирован	INSR
0,003085	-69,3182	Гипометилирован	MISP
0,001684	-63,4615	Гипометилирован	LRRC8E
0,004778	-59,5238	Гипометилирован	ZNF414
0,008209	-54,6595	Гипометилирован	ZNF414
0,007835	-69,4444	Гипометилирован	ZNF414
0,004916	-51,2195	Гипометилирован	WDR18
0,001298	-72,7273	Гипометилирован	TRIB2
0,000731	-50	Гипометилирован	ERCC3
0,00013	-90	Гипометилирован	HS6ST1
0,003888	-80	Гипометилирован	LINC01124
$1,65 \times 10^{-5}$	-100	Гипометилирован	ITGA6

0,002668	-84,6154	Гипометилирован	ITGA6
0,000618	-70,0246	Гипометилирован	MIR1302-4
0,001085	-75	Гипометилирован	MOGAT1
0,004257	-83,3333	Гипометилирован	LOC729968
$5,28 \times 10^{-6}$	-90	Гипометилирован	USP40
0,004545	-55,4902	Гипометилирован	SPP2
$2,77 \times 10^{-5}$	-71,4286	Гипометилирован	SH3BP4
0,001435	-71,4286	Гипометилирован	ESPNL
0,001682	-55,1579	Гипометилирован	KLHL30
0,003786	-66,875	Гипометилирован	KLHL30
$2,48 \times 10^{-12}$	-70,3743	Гипометилирован	OTOS
0,008643	-64,2857	Гипометилирован	GPC1-AS1
$2,63 \times 10^{-5}$	-85,4167	Гипометилирован	SF3B6
$3,16 \times 10^{-5}$	-64,2857	Гипометилирован	AGXT
$8,14 \times 10^{-8}$	-68,2616	Гипометилирован	STK25
1×10^{-5}	-88,8889	Гипометилирован	DTYMK
$3,3 \times 10^{-12}$	-96,0784	Гипометилирован	DTYMK
$1,25 \times 10^{-5}$	-81,8182	Гипометилирован	ING5
$1,9 \times 10^{-7}$	-75,5556	Гипометилирован	D2HGDH
0,00151	-65,3846	Гипометилирован	ITSN2
0,004565	-61,1111	Гипометилирован	MIR1301
0,000149	-76,0784	Гипометилирован	LINC01250
0,005397	-82,8571	Гипометилирован	PKDCC
0,000548	-49,0819	Гипометилирован	LINC01874
0,009871	-56,5934	Гипометилирован	BCYRN1
0,003867	-64,8148	Гипометилирован	SPRED2
0,004155	-62,6667	Гипометилирован	LOC284950
0,006853	-56,5517	Гипометилирован	CD8B
0,005688	-35	Гипометилирован	LINC01115
0,003108	-68,1818	Гипометилирован	TEKT4
0,003719	-44,4138	Гипометилирован	CNNM3
0,005718	-58,3333	Гипометилирован	VWA3B
0,001967	-80	Гипометилирован	BANF2
0,00023	-69,3878	Гипометилирован	PDYN-AS1
4×10^{-6}	-100	Гипометилирован	CST4
0,000232	-60	Гипометилирован	SYNDIG1
0,000724	-78,7879	Гипометилирован	APMAP
0,008522	-50	Гипометилирован	CPXM1
0,000359	-76,7442	Гипометилирован	SLC4A11
$9,52 \times 10^{-12}$	-97,1429	Гипометилирован	BLCAP
0,006843	-62,2549	Гипометилирован	VSTM2L
0,000552	-80,1282	Гипометилирован	PLCG1
0,006965	-44,9689	Гипометилирован	SLC9A8

0,001832	-61,1111	Гипометилирован	ATP9A
0,002625	-56,25	Гипометилирован	GPCPD1
0,007126	-53,125	Гипометилирован	CTCFL
0,000421	-61,8182	Гипометилирован	LOC729296
0,001367	-62,7807	Гипометилирован	LOC729296
$5,03 \times 10^{-5}$	-70,7018	Гипометилирован	CDH4
0,000125	-74,5833	Гипометилирован	CDH4
0,000706	-78,3784	Гипометилирован	LOC100128310
$5,03 \times 10^{-7}$	-92,3077	Гипометилирован	LOC100128310
$3,25 \times 10^{-7}$	-100	Гипометилирован	PSMA7
$9,46 \times 10^{-7}$	-82,0513	Гипометилирован	MIR4758
$4,33 \times 10^{-7}$	-97,1429	Гипометилирован	CABLES2
$6,56 \times 10^{-6}$	-93,5484	Гипометилирован	RBBP8NL
0,00687	-66,6667	Гипометилирован	DIDO1
$1,08 \times 10^{-8}$	-94,8718	Гипометилирован	SLC17A9
$2,61 \times 10^{-8}$	-62,963	Гипометилирован	ANKRD20A11P
$9,16 \times 10^{-10}$	-64,6241	Гипометилирован	ANKRD20A11P
$6,51 \times 10^{-10}$	-64,036	Гипометилирован	ANKRD20A11P
$1,25 \times 10^{-13}$	-68,0403	Гипометилирован	ANKRD20A11P
$7,78 \times 10^{-10}$	-63,186	Гипометилирован	ANKRD20A11P
$2,91 \times 10^{-7}$	-59,1828	Гипометилирован	ANKRD20A11P
$6,47 \times 10^{-10}$	-64,2165	Гипометилирован	ANKRD20A11P
$2,57 \times 10^{-8}$	-62,5481	Гипометилирован	ANKRD20A11P
$1,09 \times 10^{-5}$	-55,8706	Гипометилирован	ANKRD20A11P
$6,03 \times 10^{-5}$	-54,9811	Гипометилирован	ANKRD20A11P
0,002502	-63,6735	Гипометилирован	ANKRD20A11P
0,000534	-81,8182	Гипометилирован	RUNX1
0,008111	-56,25	Гипометилирован	LOC105369306
0,001795	-75	Гипометилирован	HLCS
0,008383	-68,75	Гипометилирован	PCSEAT
$1,59 \times 10^{-5}$	-93,75	Гипометилирован	PRDM15
0,007199	-29,4118	Гипометилирован	LINC01679
$3,9 \times 10^{-6}$	-75,2381	Гипометилирован	KRTAP10-11
$5,48 \times 10^{-6}$	-66,6667	Гипометилирован	COL18A1
$1,01 \times 10^{-5}$	-55,5556	Гипометилирован	COL18A1
0,004506	-58,8803	Гипометилирован	PCBP3
0,009374	-28	Гипометилирован	PCBP3
0,001295	-39,6825	Гипометилирован	LOC101928796
0,001661	-36,2963	Гипометилирован	PCNT
0,005229	-38,6856	Гипометилирован	MIR10396A
0,00028	-76,555	Гипометилирован	PSLNR
0,008743	-53,5385	Гипометилирован	PEX26
0,004381	-50	Гипометилирован	TSSK2

0,003589	-45,1613	Гипометилирован	TXNRD2
0,004838	-57,7664	Гипометилирован	MED15
0,006374	-68	Гипометилирован	P PIL2
0,00562	-73,1225	Гипометилирован	ASPHD2
0,000627	-72,7273	Гипометилирован	LINC01638
0,006189	-39,1822	Гипометилирован	MN1
0,0033	-53,9455	Гипометилирован	MIR3199-1
0,002794	-80	Гипометилирован	UQCR10
0,000144	-86,2069	Гипометилирован	RFPL2
0,003085	-60	Гипометилирован	CIMIP4
$2,51 \times 10^{-8}$	-95	Гипометилирован	CIMIP4
0,009065	-53,1469	Гипометилирован	IL2RB
0,008209	-54,6595	Гипометилирован	LOC100506271
$8,53 \times 10^{-8}$	-84	Гипометилирован	SCUBE1-AS2
0,003873	-70	Гипометилирован	PARVB
0,002328	-62,5641	Гипометилирован	PARVB
$4,37 \times 10^{-8}$	-89,4737	Гипометилирован	SHISAL1
0,001999	-59,7701	Гипометилирован	CELSR1
			TBC1D22A-
0,000304	-68,4874	Гипометилирован	AS1
0,000117	-42,6885	Гипометилирован	MIR3667
$6,45 \times 10^{-6}$	-74,9082	Гипометилирован	CRELD2
$9,63 \times 10^{-7}$	-56,5217	Гипометилирован	PANX2
0,00201	-55,2564	Гипометилирован	PANX2
$7,41 \times 10^{-6}$	-60	Гипометилирован	SYCE3
0,000169	-77,7778	Гипометилирован	TATDN2
$8,99 \times 10^{-7}$	-90,9091	Гипометилирован	SLC6A1
$4,53 \times 10^{-5}$	-100	Гипометилирован	SLC6A1
0,006407	-64,7368	Гипометилирован	CD200
0,009681	-64,7059	Гипометилирован	CAND2
0,003146	-65,9091	Гипометилирован	LINC01565
0,004247	-34,1463	Гипометилирован	FAM86HP
$5,97 \times 10^{-10}$	-100	Гипометилирован	IQSEC1
0,009455	-70	Гипометилирован	RAB6B
0,001475	-60	Гипометилирован	SLCO2A1
$5,28 \times 10^{-6}$	-92,8571	Гипометилирован	EPHB1
$1,4 \times 10^{-7}$	-87,234	Гипометилирован	SNORA93
0,000271	-57,1429	Гипометилирован	LINC01267
0,004879	-56,7742	Гипометилирован	PRKCI
0,00326	-69,0236	Гипометилирован	LINC00578
0,00682	-37,5332	Гипометилирован	CLCN2
$7,73 \times 10^{-5}$	-100	Гипометилирован	LINC01840
0,000302	-63,5294	Гипометилирован	TMEM44

0,009069	-70	Гипометилирован	LINC01983
0,005513	-58,8235	Гипометилирован	DLG1
0,001618	-57,1429	Гипометилирован	ANKRD18DP
0,000511	-73,3833	Гипометилирован	ANKRD18DP
0,000393	-72	Гипометилирован	ANKRD18DP
0,000253	-73,6842	Гипометилирован	ANKRD18DP
$1,74 \times 10^{-6}$	-91,1765	Гипометилирован	GPD1L
0,005684	-69,5652	Гипометилирован	GLB1
$6,18 \times 10^{-5}$	-80	Гипометилирован	XYLB
0,000772	-69,5076	Гипометилирован	TRAK1
$3,07 \times 10^{-6}$	-100	Гипометилирован	LINC02009
0,009585	-62,1622	Гипометилирован	TCTA
0,002328	-63,6364	Гипометилирован	GBE1
0,000412	-73,5484	Гипометилирован	LINC01061
$3,46 \times 10^{-5}$	-90	Гипометилирован	INTU
0,00562	-45,6552	Гипометилирован	SNHG27
$1,04 \times 10^{-6}$	-77,5	Гипометилирован	TACC3
$1,86 \times 10^{-5}$	-77,1429	Гипометилирован	FAT1
0,006035	-46,875	Гипометилирован	LINC02508
0,001217	-67,8571	Гипометилирован	MIR12115
0,00493	-60	Гипометилирован	ZFYVE28
$2,86 \times 10^{-6}$	-92,5926	Гипометилирован	RGS12
0,002967	-83,7662	Гипометилирован	RGS12
0,000518	-53,056	Гипометилирован	LRPAP1
$1,14 \times 10^{-5}$	-47,1847	Гипометилирован	LINC00955
$1,79 \times 10^{-5}$	-56,3322	Гипометилирован	LINC00955
0,000149	-50	Гипометилирован	LINC00955
$2,24 \times 10^{-5}$	-75,8687	Гипометилирован	FAM86EP
0,004779	-68,7273	Гипометилирован	OTOP1
$7,75 \times 10^{-8}$	-97,2973	Гипометилирован	CRMP1
$1,1 \times 10^{-5}$	-91,3043	Гипометилирован	JAKMIP1
$3,58 \times 10^{-7}$	-100	Гипометилирован	UBA6-DT
0,002506	-53,1348	Гипометилирован	PCGF3
$6,39 \times 10^{-7}$	-51,3932	Гипометилирован	PCGF3
0,009407	-66,1538	Гипометилирован	PCGF3
0,006855	-54,7368	Гипометилирован	PCGF3-AS1
0,006795	-71,5789	Гипометилирован	MIR4274
0,000222	-86,4035	Гипометилирован	LOC389199
0,00969	-45,4545	Гипометилирован	LINC02517
0,00609	-71,3675	Гипометилирован	DSPP
0,009585	-53,6364	Гипометилирован	PPM1K-DT
0,003935	-63,6364	Гипометилирован	HMX1
0,004914	-57,8947	Гипометилирован	TERT

0,006469	-38,2979	Гипометилирован	VTRNA2-1
0,009632	-35,4167	Гипометилирован	VTRNA2-1
0,008302	-40	Гипометилирован	VTRNA2-1
			ARHGAP26-
0,004542	-83,2168	Гипометилирован	AS1
0,009456	-44,8571	Гипометилирован	SYNPO
$6,39 \times 10^{-7}$	-93,75	Гипометилирован	MYO10
0,000527	-69,7674	Гипометилирован	FGF18
0,003959	-42,1053	Гипометилирован	STK10
0,000527	-60	Гипометилирован	UBTD2
0,005547	-65,0641	Гипометилирован	CEP192P1
0,001295	-70,5882	Гипометилирован	N4BP3
$1,47 \times 10^{-6}$	-83,3333	Гипометилирован	N4BP3
0,008972	-46,3793	Гипометилирован	SCGB3A1
0,00666	-61,1111	Гипометилирован	LRRC14B
0,000114	-51,3978	Гипометилирован	CCDC127
0,006525	-59,8499	Гипометилирован	CCDC127
0,000898	-37,8205	Гипометилирован	PDCD6-DT
$1,77 \times 10^{-6}$	-93,75	Гипометилирован	LSP1P3
0,003232	-73,262	Гипометилирован	LSP1P3
0,002723	-69,5733	Гипометилирован	LSP1P3
0,004545	-65,2439	Гипометилирован	LSP1P3
0,00164	-58,3333	Гипометилирован	LSP1P3
0,007378	-70	Гипометилирован	CAPSL
0,003354	-64,4444	Гипометилирован	AHRR
$7,2 \times 10^{-6}$	-95,8333	Гипометилирован	GDNF-AS1
0,002615	-52,6652	Гипометилирован	EGFLAM
0,00326	-69,0236	Гипометилирован	ZDHHC11B
$2,94 \times 10^{-6}$	-62,963	Гипометилирован	LHFPL2
0,000353	-70,8333	Гипометилирован	ARRDC3
0,000537	-70,0957	Гипометилирован	PDE7B-AS1
0,00038	-73,3333	Гипометилирован	NHSL1-AS1
$6,72 \times 10^{-10}$	-83,3333	Гипометилирован	MIR12131
$6,88 \times 10^{-8}$	-81,8182	Гипометилирован	MIR12131
0,000412	-73,6842	Гипометилирован	MIR1202
0,006859	-63,6364	Гипометилирован	TTLL2
0,001603	-72,7273	Гипометилирован	SMOC2
$7,19 \times 10^{-6}$	-80,6452	Гипометилирован	LOC102724511
0,000158	-73,0769	Гипометилирован	LINC01624
0,007024	-48,9681	Гипометилирован	MIR4644
0,000241	-83,871	Гипометилирован	CARMIL1
$6,77 \times 10^{-6}$	-100	Гипометилирован	MIR4462
0,006494	-64,2857	Гипометилирован	FAM50B

0,002163	-71,0956	Гипометилирован	LOC101929555
0,004829	-75	Гипометилирован	CCND3
0,009071	-66,6667	Гипометилирован	LINC01512
0,008209	-47,0588	Гипометилирован	LOC101927189
0,000154	-83,7838	Гипометилирован	B3GAT2
0,008643	-76,9231	Гипометилирован	LOC101928540
0,008643	-73,5577	Гипометилирован	LMOD2
0,000641	-57,1429	Гипометилирован	MICALL2
$2,71 \times 10^{-5}$	-93,3333	Гипометилирован	GIMAP4
0,001379	-61,5385	Гипометилирован	AGAP3
0,000319	-75,7919	Гипометилирован	PAXIP1-AS2
0,006024	-55,5556	Гипометилирован	SHH
0,008157	-50	Гипометилирован	LOC389602
0,000189	-69,0476	Гипометилирован	MIR153-2
0,000101	-54,0799	Гипометилирован	MIR153-2
0,00687	-63,1579	Гипометилирован	PTPRN2-AS1
0,000773	-35,9954	Гипометилирован	PTPRN2-AS1
0,001159	-36,8421	Гипометилирован	PTPRN2-AS1
0,000459	-63,9706	Гипометилирован	PTPRN2-AS1
$2,8 \times 10^{-7}$	-79,078	Гипометилирован	PTPRN2-AS1
$2,93 \times 10^{-6}$	-67,0455	Гипометилирован	MIR595
0,001897	-55,7391	Гипометилирован	VIPR2
$5,51 \times 10^{-5}$	-40,1938	Гипометилирован	MIR4655
0,004545	-65	Гипометилирован	MAD1L1
0,002549	-74,1935	Гипометилирован	SNHG26
$2,41 \times 10^{-5}$	-74,6606	Гипометилирован	SNORD65C
0,006879	-64,7059	Гипометилирован	TTYH3
0,009367	-66,6667	Гипометилирован	TTYH3
$1,52 \times 10^{-5}$	-68,5714	Гипометилирован	WIPF3
0,000116	-53,5473	Гипометилирован	CARD11
$1,24 \times 10^{-5}$	-49,4172	Гипометилирован	LOC442497
0,001193	-63,0357	Гипометилирован	BMPER
$2,85 \times 10^{-6}$	-67,8261	Гипометилирован	LOC442497
0,006342	-66,6667	Гипометилирован	HERPUD2
0,003563	-67,402	Гипометилирован	HERPUD2
0,000714	-55,1316	Гипометилирован	LOC105375131
0,009404	-33,8231	Гипометилирован	LOC105375131
0,002053	-80	Гипометилирован	MIR4656
0,000211	-62,8571	Гипометилирован	LOC401357
0,000773	-33,3333	Гипометилирован	GUSBP10
0,002484	-72,2222	Гипометилирован	MIR4283-2
0,000567	-74	Гипометилирован	GRID2IP
$2,66 \times 10^{-6}$	-85,1064	Гипометилирован	ZNF853

0,000579	-64,2857	Гипометилирован	LINC00174
0,004728	-61,5385	Гипометилирован	KCTD7
0,001684	-79,2857	Гипометилирован	ZNF12
$1,59 \times 10^{-5}$	-93,75	Гипометилирован	TMEM270
0,008882	-30,1329	Гипометилирован	PRKAR1B
0,00726	-64,8019	Гипометилирован	ODF1
0,006078	-36,3636	Гипометилирован	LINC00536
0,009518	-66,3818	Гипометилирован	HAS2-AS1
0,000155	-86,3636	Гипометилирован	ZHX2
0,003958	-72,4138	Гипометилирован	ZHX2
0,008537	-57,8947	Гипометилирован	LINC00964
0,000729	-83,3333	Гипометилирован	MIR5194
$1,01 \times 10^{-7}$	-73,3333	Гипометилирован	ZFAT-AS1
0,001998	-56,7766	Гипометилирован	ZFAT-AS1
0,000117	-75	Гипометилирован	CHRAC1
0,002764	-44,4444	Гипометилирован	CHRAC1
0,000531	-61,6667	Гипометилирован	SLC45A4-AS1
0,005495	-50	Гипометилирован	MIR1302-7
0,00609	-78,5714	Гипометилирован	MINCR
0,000595	-80	Гипометилирован	MINCR
$1,79 \times 10^{-5}$	-91,6667	Гипометилирован	MINCR
0,000242	-86,9565	Гипометилирован	MINCR
0,000571	-83,3333	Гипометилирован	MINCR
0,000131	-88,2353	Гипометилирован	EPPK1
0,001193	-64,2424	Гипометилирован	ARHGAP39
0,00379	-61,5385	Гипометилирован	CSGALNACT1
0,000804	-91,6667	Гипометилирован	LINC03023
0,009983	-60,307	Гипометилирован	GFRA2
$7,44 \times 10^{-5}$	-75	Гипометилирован	LOC105379331
0,000116	-90,4762	Гипометилирован	DPYSL2
0,002737	-42,1189	Гипометилирован	PNOC
0,002872	-69,2308	Гипометилирован	LINC03021
0,00252	-32,1705	Гипометилирован	ZNF596
0,000271	-83,3333	Гипометилирован	ZMAT4
0,007258	-68,9655	Гипометилирован	VIRMA
0,001069	-76,9231	Гипометилирован	LAPTM4B
0,003422	-62,8571	Гипометилирован	PSMB7
0,002668	-83,3333	Гипометилирован	WDR38
0,00864	-75,5682	Гипометилирован	RPL35
0,007967	-53,0242	Гипометилирован	SLC25A25
0,000149	-75	Гипометилирован	KYAT1
0,009145	-53,8462	Гипометилирован	QRFP
$4,61 \times 10^{-6}$	-87,5	Гипометилирован	NTNG2

$9,93 \times 10^{-5}$	-71,6981	Гипометилирован	NTNG2
$3,89 \times 10^{-6}$	-75,5102	Гипометилирован	GTF3C4
$8,43 \times 10^{-9}$	-97,561	Гипометилирован	LINC02247
$1,85 \times 10^{-6}$	-92,1053	Гипометилирован	RXRA
0,004154	-68,3333	Гипометилирован	COL5A1
0,00332	-47,0588	Гипометилирован	MIR3689C
0,004101	-54,5455	Гипометилирован	LOC401557
0,005688	-57,5881	Гипометилирован	OBP2A
0,001795	-74,0741	Гипометилирован	QSOX2
0,001232	-63,2308	Гипометилирован	C9orf163
0,001747	-55,814	Гипометилирован	LCNL1
0,009871	-75	Гипометилирован	CLIC3
0,000222	-58,9026	Гипометилирован	EXD3
$9,3 \times 10^{-7}$	-73,1481	Гипометилирован	EXD3
$9,91 \times 10^{-6}$	-40,6873	Гипометилирован	LOC651337
0,008967	-42,8571	Гипометилирован	MIR602
0,005787	-70	Гипометилирован	IFNA1
0,008691	-72,7273	Гипометилирован	POLR1E
$1,07 \times 10^{-6}$	-94,1176	Гипометилирован	GLIS3
0,005495	-50	Гипометилирован	FOXD4L5
0,000645	-69,2308	Гипометилирован	BARX1
0,007671	-30,6044	Гипометилирован	COL15A1
0,000908	-66,6667	Гипометилирован	LOC105375972