



Рис. 1. Гистограмма связывания пропидия иодида с ДНК клеток осадка мочи.

осадка мочи с использованием технологии проточной цитофлуориметрии. Проведено обследование первых порций утренней мочи здоровых доноров, а также моча пациентов со злокачественными новообразованиями различных локализаций (уротелиальный рак, почечно-клеточный рак, рак предстательной железы).

Полученные данные по изучению пloidности ДНК в клеточном осадке мочи (рис.1) с использованием иодида пропидия позволяют четко дифференцировать клетки с диплоидным и анеуплоидным набором ДНК. Помимо определения перерожденных клеток подобные данные несут информацию об интенсивности восстановления эпителия мочевыделительной системы.

Кроме того, проводится исследование клеточного цикла в осадке мочи здоровых доноров. В клинической практике используется анализ клеточного осадка на основании окрашивания его пропидием иодидом и мечеными флуорохромом антителами к ki-67.

Данные, полученные в результате проведенной работы можно использовать в качестве контрольных показателей при дальнейших исследованиях. Кроме того, результаты клеточного анализа может быть использованы для поиска ранних маркеров диагностики опухолей мочеполовой системы, а также при изучении закономерностей развития и прогрессирования патологий, затрагивающих мочевой пузырь и почки. Кроме того, предполагается актуальным использование описанных данных при исследовании эффективности терапии рака мочевого пузыря.

Литература

1. Модестов А.А., Сафонцев И.П., Зуков Р.А., Слепов Е.В., Клименок М.П., Гаас Е.Н. Онкологическая заболеваемость в Красноярском крае // Российский онкологический журнал. – 2016. – Т. 21, № 1-2. – С. 76-80.
2. Разрешение на применение новой медицинской технологии ФСН№2009/114 от 27.05.2009г. Диагностика рака мочевого пузыря на основании клеточного цикла осадка мочи методом проточной цитофлуориметрии. (медицинская технология) выдано ФГУ «Российский научный центр рентгенодиагностики федерального агентства по высокотехнологичной медицинской помощи» Росмедтехнологий.
3. Семёнов Э.В., Мазаев А.В., Зуков Р.А., Куртасова Л.М. Факторы прогноза у больных раком мочевого пузыря // Сибирское медицинское обозрение. – 2015. – № 5. – С. 13-22.
4. Chien T., Kao J. T., Lin P. C. et al. Urine sediment examination: a comparison of automated urinalysis systems and manual microscopy // Clin. Chim. Acta. – 2007. – Vol. 384. – p. 28-34.

©ЯКУНИНА Е. Ю., МОШЕВ А. В., МОДЕСТОВ А. А.

УДК 616.24-006.04:575.224.234

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МУТАЦИИ ГЕНА EGFR У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Е. Ю. Якунина¹, А. В. Мошев¹, А. А. Модестов^{1,2}

¹КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А. И. Крыжановского»;

²ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого,

Резюме. Рак легкого является одной из самых распространенных онкологических патологий. Определение молекулярно-биологических маркеров в опухоли предоставляет информацию о скорости ее роста, способности к инвазии и метастазированию, устойчивости к химиопрепаратам и т. п. Кроме того, в настоящее время отбор больных немелкоклеточным раком легкого для терапии низкомолекулярными ингибиторами тирозинкиназ проводится на основании наличия или отсутствия мутаций гена EGFR. В исследовании показано, что из общего числа пациентов с аденокарциномой легкого 25% несут изученные активирующие мутации гена.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, аденокарцинома легкого, EGFR, мутация, пролиферация.

DEFINING EGFR MUTATIONS FOR PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER

E. Yu. Yakunina, A. V. Moshev, A. A. Modestov

Abstract. Lung cancer is one of the most common oncological pathologies. Definition of molecular biomarkers in cancer, aimed at the individualization of treatment, provides information on the speed of its growth, the ability to invasion and metastasis, resistance to chemotherapy, etc. Detection of EGFR gene mutations carried out for the selection of patients on therapy with low molecular weight inhibitors of tyrosine kinase. The study shows that 25% of patients with lung adenocarcinoma have an activating mutation of the gene.

Key words: lung cancer, EGFR, mutation, proliferation.

Рак легкого (РЛ) — одно из самых распространенных злокачественных новообразований в мире. Ежегодно РЛ заболевает около 1,3 млн. и умирает 1,2 млн. человек. В Красноярском крае РЛ находится на первом месте в структуре онкозаболеваемости — в 2015 году выявлено 1 418 новых случаев заболевания. По показателю смертности наш край занимает четвертое место среди всех регионов РФ, а в Сибирском Федеральном округе - первое (48,7 на 100 тыс. населения) [1, 2, 4].

Определение молекулярно-биологических маркеров в опухоли и здоровых тканях может давать дополнительную информацию о биологическом поведении опухоли: о скорости ее роста, способности к инвазии и метастазированию, устойчивости к химиопрепаратам. EGFR - трансмембранный рецептор, активирующийся при связывании с эпидермальным фактором роста. При активации EGFR запускаются внутриклеточные сигнальные каскады, приводящие к повышению пролиферации клеток, росту опухоли, стимуляции процессов инвазии, патологического ангиогенеза и метастазирования. При этом рост опухолевых клеток, несущих мутацию гена EGFR, в большей степени зависит от передачи сигнала по внутриклеточному сигнальному пути, активируемому фактором роста, чем рост клеток, не имеющих подобных отклонений [3].

Цель исследования: изучить частоту мутаций гена EGFR у больных с аденокарциномой легкого.

В КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского» в рамках проекта «Совершенствование системы молекулярно-генетической диагностики онкологических заболеваний в Российской Федерации» проводится молекулярно-генетическое тестирование пациентов со злокачественными новообразованиями, в т.ч. выявление мутаций гена EGFR для отбора больных на терапию низкомолекулярными ингибиторами тирозинкиназ. Материалом для исследования являются парафиновые блоки, содержащие опухолевую ткань. Депарафинизацию, а также выделение ДНК из блоков проводили на микроколонках с использованием набора реагентов ROCHE (Швейцария). Амплификацию проводили с использованием набора реагентов для определения соматических мутаций в гене EGFR на амплификаторе в режиме реального времени Rotor-Gene Q (QIAGEN, США).

Перечень мутаций, выявляемых на сегодняшний день в гене EGFR существующими методами и имеющих практическую значимость, ограничивается точечными заменами, делециями и инсерциями в участке ДНК, кодирующем тирозинкиназный домен рецептора (рис. 1).

В настоящий момент в КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А. И. Крыжановского» протестировано 167 пациентов с немелкоклеточным РЛ. Из всех изученных образцов выявлено 42 образца (25%), положительных на наличие мутаций в гене EGFR. Из обнаруженных мутаций 17 (39%) относились к делециям 19 экзона гена EGFR, 15 (34%) относились к замене L858R, 7 (16%) - замена G719X, 1 (2%) — замена T790M и по 2 мутации (по 4,5%) приходилось на замену S768I и инсерции в 20 экзоне, соответственно.

Внедрение в клиническую практику онкологического диспансера новых прогрессивных методов молекулярно-генетической диагностики способно оказать положительное влияние на повышение качества оказываемых медицинских услуг. Возможности применения таргетной терапии благоприятно сказываются на повышении эффективности лечения и увеличении продолжительности жизни больных немелкоклеточным раком легкого.

Замены аминокислот в белке (нуклеотидов в гене)	Экзон
p. Gly719Ser (c.2155G>A)	18
p. Gly719Cys (c.2155G>T)	18
p. Gly719Ala (c.2156G>C)	18
Делеции, не приводящие к сдвигу рамки считывания	19
p. Thr790Met (c.2369C>T)	20
Инсерции, не приводящие к сдвигу рамки считывания	20
p. Leu858Arg (c.2573T>G)	21
p. Leu861Gln (c.2582T>A)	21

Рис. 1. Перечень мутаций гена EGFR.

Литература

1. Модестов А.А., Сафонцев И.П., Зуков Р.А., Слепов Е.В., Клименок М.П., Гаас Е.Н. Онкологическая заболеваемость в Красноярском крае // Российский онкологический журнал. — 2016. — Т. 21, № 1-2. — С. 76-80.

2. Сафонцев И.П., Зуков Р.А., Модестов А.А., Дыхно Ю.А., Наркевич А.Н., Тонконогов А.С. Анализ заболеваемости раком легкого в Красноярском крае // Российский

онкологический журнал. 2015. — Т. 20, № 6. — С. 38-42.

3. Совершенствование молекулярно-генетической диагностики в Российской Федерации / практическое руководство для врачей. — М., 2010. — 10 с.

4. Состояние онкологической помощи населению России в 2014 году / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. - М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2015. — 236 с.

© ЯКУНИНА Е. Ю., СЕМЕНОВ Э. В., МАЗАЕВ А. В., КОЗИНА Ю. В., МОДЕСТОВ А. А.

УДК 616.61-006.04:616-091.811

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ КЛЕТОК ПО ФАЗАМ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА В НЕИЗМЕНЕННОЙ И ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ПРИ УРОТЕЛИАЛЬНОМ РАКЕ

Е. Ю. Якунина¹, Э. В. Семенов^{1,2}, А. В. Мазаев¹, Ю. В. Козина¹, А. А. Модестов^{1,2}

КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А. И. Крыжановского»;

¹ФГБОУ ВО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого,

Резюме. Рак мочевого пузыря входит в число ведущих онкоурологических заболеваний. Изучение нарушений регуляции фаз клеточного цикла способно предоставить ценные данные по биологии развития данного заболевания. В представленной работе проведено сравнение распределения клеток по различным фазам клеточного цикла у больных раком мочевого пузыря в опухолевой и неизменной ткани. Обнаружено, что основная часть клеток находится в синтетической фазе. Кроме того, в опухолевой ткани больше клеток находится в пресинтетической фазе и фазе покоя.
Ключевые слова: рак мочевого пузыря, уротелиальный рак, клеточный цикл, пролиферация.

DISTRIBUTION OF CELLS IN VARIOUS CELL CYCLE PHASES IN INTACT TISSUE AND UROTHELIAL CELL CARCINOMA

E. Yu. Yakunina, E. V. Semenov, A. V. Mazaev, Yu. V. Kozina, A. A. Modestov

Abstract. Bladder cancer is one of the leading oncurological diseases. The study of disorders of cell cycle phase's regulation is able to provide data on the biology of the disease. In this study, a comparison of distribution of different phases in the cell cycle with cancer cells in the urothelial CELL carcinoma and intact tissue. Has been found that most of the cells are in a synthetic phase. In tumor cells in G1- and G0-phase more, than in intact tissue.

Key words: bladder cancer, urothelial CELL carcinoma, cell cycle, proliferation.

Рак мочевого пузыря (РМП) является полиэтиологическим заболеванием, однако основную причину его развития связывают с длительным влиянием мочи, содержащей канцерогенные вещества. Частота РМП составляет 2–5% всех злокачественных новообразований. За последние 10 лет его распространённость выросла почти на 17%. Причем 9% от числа больных с впервые в жизни установленным диагнозом выявляются в ходе профилактических осмотров — этот показатель увеличился за 10 лет в 3 раза. В 2014 году количество впервые в жизни диагностированных случаев РМП в России составило 14 908. В Красноярском крае за последний год выявлен 351 новый случай заболевания (12,29 случаев на 100 000 населения), по данному показателю регион находится на 2 месте в Сибирском Федеральном округе после Новосибирской области (385 случаев — 12,8 на 100 тыс. населения) [3, 4, 5].

Клеточный цикл является периодом жизни клетки от одного деления до другого или от деления до смерти. Он состоит из интерфазы и самого клеточного деления. Если клетка собирается делиться, то интерфаза будет состоять из 3-х периодов. Сразу после выхода из митоза клетка вступает в пресинтетический (G1) период, далее переходит в синтетический или S-период и потом — в постсинтетический (G2) период. G2-периодом заканчивается интерфаза и после нее клетка вступает в следующий митоз. Благодаря регуляции клеточного цикла в норме осуществляется точный контроль за дубликацией ДНК и последующим делением клетки и предупреждается потеря генетической информации. Клеточный цикл имеет ряд контрольных точек, играющих важную роль в защите нормального генома от повреждения. В настоящий момент человечеством