



МЕЖДУНАРОДНЫЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ ПО ОНКОЛОГИИ

# ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ ОПУХОЛИ

Том 8 #3 • 2018

СПЕЦВЫПУСК

## МАТЕРИАЛЫ XXII РОССИЙСКОГО ОНКОЛОГИЧЕСКОГО КОНГРЕССА

**13 – 15 ноября 2018**  
**Москва**

шение уровня рРТФ ( $3,5 \pm 0,8$  мкг/мл), ИЛ-6 колебался от 0 до  $4,1$  пг/мл ( $2,4 \pm 0,4$  пг/мл). ГП25 ( $2,7 \pm 0,4$  нг/мл) и ПРОГП ( $12,3 \pm 0,4$  нг/мл) были значительно ниже нормы; вторая (27 чел) – с железodefицитным эритропозом (ЖДЭ) отличалась от первой группы значительной концентрацией ФР ( $219,1 \pm 36,1$  нг/мл); третья (28 чел.) – с функциональным дефицитом железа (ФДЖ), характеризовалась высокой концентрацией ФР ( $359,4 \pm 99,3$  нг/мл) и рРТФ ( $1,7 \pm 0,4$  мкг/мл). Показатели ГП25 ( $45,0 \pm 7,1$  нг/мл), ПРОГП ( $745,0 \pm 22,1$  нг/мл) и ИЛ-6 ( $24,3 \pm 5,5$  пг/мл) были достоверно выше, чем у больных с ЖДА и ЖДЭ. Анализ показателей ЭПО выявил повышение более  $100$  мЕ/мл у 31 (35,6%) человек с колебаниями от 57 до 229 мЕ/мл. У 56 (64,4%) больных ЭПО колебался от 3,2 до 43,0 мЕ/мл ( $18,1 \pm 3,8$  мЕ/мл), медиана –  $10,7$  мЕ/мл, т. е. был неадекватным степени тяжести анемии. Более низкая продукция ЭПО отмечалась у всех больных с ФДЖ, в меньшей степени – у пациентов с ЖДЭ и ЖДА.

**Заключение.** Показатели экспрессии ГП25, ПРОГП, ИЛ-6 позволяют выделить среди микроцитарных гипохромных анемий особый вариант АС с функциональным дефицитом железа. Это, в свою очередь, будет способствовать адекватному назначению препаратов железа, гЕРО, возможно, антагонистов ИЛ-6, ГП25 и, соответственно, оптимальной эффективности терапии.

### **Использование трансартериальной масляной химиоэмболизации при неэффективности системной химиотерапии у больных колоректальным раком с метастатическим поражением печени**

*В. Б. Каушанский, А. Н. Иванов, Б. Н. Садилов, Р. М.-А. Ширалиев, Н. В. Доронин*

**Место работы:** ГБУЗ «Клинический Онкологический Диспансер №1» МЗ Краснодарского Края, Краснодар  
**e-mail:** [kkvb61@nm.ru](mailto:kkvb61@nm.ru)

**Цель.** Оценить эффективность применения метода трансартериальной химиоэмболизации (ТАХЭ) при неэффективности системной химиотерапии у больных колоректальным раком с метастатическим поражением печени.

**Материалы и методы.** В нашем лечебном учреждении за период с 2014 по 2017 г. выполнено 340 трансартериальных химиоэмболизаций (ТАХЭ). Из них – 163 пациентам с метастатическим поражением печени при колоректальной локализации опухолевого процесса. У большинства 112 (68,1%) из них метастатическое поражение печени носило множественный, чаще билобарный, характер с отрицательной динамикой после неоднократных курсов системной химиотерапии. Размеры узлов варьировали от 3–4 до 17 см. В зависимости от объема поражения, характера кровоснабжения опухолей и ответа на лечения больным выполнялось от 1 до 5 сеансов ТАХЭ: у 60 пациентов – одна ТАХЭ, у 44 – две, у 26 – три, у 9 – четыре и у 6 – пять ТАХЭ, курсы повторялись через 3–4 недели.

Эндovasкулярные вмешательства выполнялись в рентгеноперационной на рентген-установке «С-Дуга» PHILIPS BV-Pulsera. Через микрокатетер 2.8 F проводилась сегментарная или долевая дистальная эмболизация ветвей печеночной артерии. В качестве эмболизирующей составляющей использовались: липиодол 5–10 мл – в 124 случаях, различные микросферы (насыщаемые и не насыщаемые, от 100 до 500 мкр) – в 28 случаях, и в 8 ТАХЭ были использованы комбинации представленных эмболизирующих материалов.

В качестве химиопрепарата выступал в большинстве случаев доксорубин в дозировке 100 мг или иринотекан 100 мг.

**Результаты.** Все пациенты переносили курсы ТАХЭ печени относительно удовлетворительно. Длительность наблюдения за пациентами после проведения ТАХЭ была от 2 до 64 месяцев. Медиана наблюдения составила 12,8 месяцев. Проведенный анализ лечения показал: у 71 (43,5%) больных достигнут положительный эффект после курсов ТАХЭ – новообразование уменьшилось в размерах, у 59 (36,1%) – стабилизация процесса, у 33 (20,2%) проводимое лечение не привело к ожидаемому эффекту – отрицательная динамика.

**Заключение.** Использование ТАХЭ печени при метастатическом поражении печени у больных привело к объективному ответу или стабилизации процесса у 130 (79,7%) пациентов. Данный метод позволяет увеличить общую выживаемость больных и хорошо переносим.

### **Выявление генов, регулирующих чувствительность клеток рака поджелудочной железы к платиновым препаратам, с помощью технологии CRISPR/Cas9**

*В. С. Скрипова, И. А. Асцатуров, Р. Г. Киямова*

**Место работы:** Казанский федеральный университет, Казань; Fox Chase Cancer Center, Филадельфия, США  
**e-mail:** [vsk190@gmail.com](mailto:vsk190@gmail.com)

**Цель.** В связи с актуальностью проблемы устойчивости опухолей поджелудочной железы к химиотерапии и выявления регулирующих ее механизмов целью работы было выявление генов, продукты которых потенциально могут изменять чувствительность клеток рака поджелудочной железы (РПЖ) к платиновым препаратам.

**Материалы и методы.** Была применена технология CRISPR/Cas9 в формате высокопроизводительного скрининга с использованием библиотек генов гРНК (гРНК). В работе были использованы две лентивирусные библиотеки гРНК: 1) к генам ядерных белков и белков регуляции клеточного цикла (4716 генов, 50 тыс. гРНК); 2) полногеномная библиотека (18164 генов, 90 тыс. гРНК). Клетки рака поджелудочной железы MIA PaCa-2/Cas9, трансдуцированные лентивирусами, содержащими гРНК, культивировали в присутствии  $1 \mu\text{g/ml}$  доксицилина для индукции экспрессии Cas9 и обрабатывали  $1 \mu\text{M}$  оксалиплатина или  $3 \mu\text{M}$  цисплатина в течение 9 клеточных делений (12 суток). В качестве контроля использовали клетки, не обработанные лекарством. Из образцов выделяли геномную ДНК для подготовки проб и проведения глубокого секвенирования нового поколения с целью получения информации об изменении распределения количества гРНК.

**Результаты.** Было выявлено 130 генов-кандидатов, нокаут которых влиял на чувствительность клеток MIA PaCa-2 к платиновым препаратам, из которых 16 генов кодируют известные маркеры чувствительности к платиновым препаратам, 11 генов, нокаут которых уменьшал чувствительность, и 119 генов, нокаут которых повышал чувствительность к исследуемым препаратам. Анализ распределения отобранных генов по функциям показал, что эти гены участвуют в регуляции клеточного цикла (46), репликации и репарации ДНК (43), клеточных дефектах (15), структурной организации и морфологии клетки (48). Анализ сети взаимодействий продуктов отобранных генов показал, что продукты 74 генов взаимодействуют между собой напрямую и участвуют в процессах регуляции клеточного цикла и репарации ДНК.

## ОНКОГИНЕКОЛОГИЯ

**Заключение.** Генетические CRISPR/Cas9 скрининги библиотеки гидовых РНК в клетках рака поджелудочной железы MIAPaCa-2 в присутствии платиновых препаратов позволили выявить 130 генов-кандидатов, потенциально участвующих в регуляции ответа на платиновые препараты. Полученные данные планируется использовать для дальнейшей работы по выявлению механизмов регуляции чувствительности клеток РПЖ к препаратам платины.

**Благодарность.** Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентной способности Казанского (При-волжского) федерального университета.

### Детекция мутаций в гене KRAS при аденокарциноме толстой кишки методом Digital Droplet PCR

*Я. С. Енин, Ю. А. Геворкян, Л. Ю. Владимирова, О. И. Кит*  
**Место работы:** ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону  
*e-mail: Dendro51@yandex.ru*

**Целью** настоящего исследования была детекция соматических мутаций во втором экзоне гена KRAS методом Digital Droplet PCR в сравнении с RT-PCR. Скрининг мутаций в гене KRAS служит традиционным маркером эффективности проведения таргетной терапии колоректального рака. Мутации в 12 кодоне второго экзона гена KRAS присутствуют в 40% колоректальных опухолей, и мониторинг мутационного статуса вместе с уровнем мутантной ДНК представляет большой клинический интерес. Однако уровень чувствительности традиционно используемого метода полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-PCR) в некоторых случаях (например, жидкостная биопсия) оказывается не достаточным (Andersen et al., 2015).

**Материалы и методы.** В данное исследование были включены 134 пациента с аденокарциномой толстой кишки, получавших плановое лечение в ФГБУ «РНИОИ» МЗ РФ. Наличие или отсутствие семи активирующих мутаций во втором экзоне гена KRAS в образцах FFPE блоков детектировали методом RT-PCR с использованием набора реактивов «Real-time-PCR-KRAS-7M» (Биолинк, Новосибирск) и методом Digital Droplet PCR с использованием набора «KRAS Screening Multiplex kit» (Bio-Rad, USA). Исследование проведено с соблюдением принципов ICH GCP.

**Результаты.** Для всех 134 образцов, отобранных для исследования, был выявлен WT-статус гена KRAS методом RT-PCR. Технология Digital Droplet PCR предполагает определение прямого количества мутантных копий ДНК по каналу FAM и прямого количества копий ДНК дикого типа по каналу HEX (задано набором KRAS Screening Multiplex kit). По результатам проведения DD-PCR для 131 образца был получен положительный ответ амплификации с количеством событий более 200. Количество ампликонов на образец колебалось от 312 до 117917, медиана составила 2940 копий. Мутационные события, превышающие 5% от общего числа ампликонов, были обнаружены в 12, 9% случаев. В тоже время в остальной выборке только у пяти пациентов (3,8%) полностью отсутствовали мутантные копии. Таким образом, по нашему мнению, в исследованной выборке опухоли 17 пациентов имеют ген KRAS с активирующей мутацией во втором экзоне.

**Заключение.** Метод Digital Droplet PCR показал гораздо более высокую аналитическую чувствительность для обнаружения SNP мутаций в сравнении с Real-Time PCR, что может иметь критически важное значение при назначении препаратов таргетной терапии.

### Уровень экспрессии эстрогеновых рецепторов альфа и бета в ткани рака яичников прогнозирует эффективность химиотерапии препаратами платины и таксанов

*А.А. Башарина, Т.А. Богуш, О.М. Рябинина, Е.А. Богуш, А.С. Тюляндина, С.А. Тюляндин*  
**Место работы:** ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва  
*e-mail: basharinaa@inbox.ru*

**Цель.** Поиск патогенетически обоснованных подходов к повышению эффективности противоопухолевых препаратов является одним из важных трендов развития лекарственной терапии опухолей, в том числе и рака яичников. Основанием для проведения настоящего исследования послужили две группы фактов. С одной стороны, в клинических исследованиях показано, что эффективность платиносодержащей химиотерапии рака яичников обратно коррелирует с пролиферативной активностью опухоли. С другой стороны, доказано участие эстрогеновых рецепторов разных типов – ER $\alpha$  и ER $\beta$ , в регуляции пролиферации опухолевых клеток.

**Цель исследования** – количественная характеристика уровня экспрессии ER $\alpha$  и ER $\beta$  в ткани рака яичников с последующей корреляцией полученных показателей с продолжительностью безрецидивного течения болезни после завершения первой линии адъювантной химиотерапии препаратами платины и таксанов.

**Материалы и методы.** Иммунофлуоресцентным методом, ассоциированным с проточной цитометрией, исследовано 74 хирургических образца первичного серозного рака яичников III стадии. В работе использованы первичные моноклональные, специфичные к ER $\alpha$  (SP1, ab16660) и к ER $\beta$  (14C8, ab288) и вторичные – конъюгированные с DyLight650 (ab98510 и ab98729). Уровень экспрессии маркера – как доля (%) специфически флуоресцирующих клеток относительно контроля (после инкубации только с вторичными антителами). Оценка корреляции продолжительности безрецидивного периода после завершения первой линии стандартной химиотерапии препаратами платины и таксанов и количественными показателями уровня экспрессии ER $\alpha$  и/или ER $\beta$  проведена с помощью кривых Каплана-Майера (log-rank test). Срок наблюдения – 43 мес. Уровень значимости  $p \leq 0,05$ .

**Результаты.** 1. Ткань рака яичников характеризуется коэкспрессией эстрогеновых рецепторов разных типов – ER $\alpha$  и ER $\beta$ , с выраженными индивидуальными различиями в уровне экспрессии каждого из маркеров. В 80% исследованных опухолей (в 67 из 74 случаев) уровень экспрессии ER $\beta$  значительно превышает показатель для ER $\alpha$ , по среднему значению – более чем в 1,5 раза (43,9 vs 26,8%,  $p < 0,001$ ). Согласно принятым в клинических исследованиях правилам, деление на группы с высокой и низкой экспрессией ER $\alpha$  или ER $\beta$  проведена по медиане уровня экспрессии маркера по всей группе исследованных образцов опухолей, которая для ER $\alpha$  составляет 25%, для ER $\beta$  – 44%.

2. При построении кривых Каплана – Майера выявлено статистически значимое различие между продолжительностью безрецидивного течения рака яичников после завершения платиносодержащей химиотерапии у пациентов с высоким и низким уровнем экспрессии одного из маркеров – ER $\alpha$  или ER $\beta$ , а также одновременно двух – ER $\alpha$  и ER $\beta$ : медиана продолжительности безрецидивного периода в группе