

## ИССЛЕДОВАНИЕ СТАТУСА МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ ОПУХОЛЕВОЙ СУПРЕССИИ ВО ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК КРОВИ ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА

Е.В. КОЛЕСНИКОВА<sup>1</sup>, П.П. ЛАКТИОНОВ<sup>1</sup>, П.И. ШЕЛЕСТЮК<sup>2</sup>, С.А. ТУЗИКОВ<sup>3</sup>,  
В.В. ВЛАСОВ<sup>1</sup>, Е.Ю. РЫКОВА<sup>1</sup>

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАМН, г. Новосибирск<sup>1</sup>  
ГУЗ «Областной онкологический диспансер», г. Новосибирск<sup>2</sup>  
ГУ «НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН»<sup>3</sup>*

**Актуальность.** Рак желудка (РЖ) занимает одно из ведущих мест в структуре общей летальности от онкологических заболеваний. Важнейшим условием успешного лечения РЖ является обнаружение опухолевого процесса на ранних стадиях. Известно, что инактивация ряда генов опухолевой супрессии в результате aberrантного метилирования их промоторных областей является одним из наиболее распространенных и ранних событий, приводящих к опухолевому перерождению клеток, а анализ статуса метилирования промоторных областей этих генов позволяет выявить опухолевый процесс на ранних этапах трансформации нормального фенотипа клетки в раковый.

**Цель исследования** – поиск ДНК маркеров, пригодных для диагностики и мониторинга РЖ.

**Материал и методы.** Циркулирующие ДНК из элюатов с поверхности форменных элементов крови здоровых доноров (n=20) и больных раком желудка II–IV стадии (n=22) выделяли коммерческим набором (blood DNA isolation kit, BioSilica, Russia). Исследование метилирования промоторных областей генов MGMT, p15, hMLH1 в цирДНК производили при помощи

метода ПЦР, специфичной к метилированию (метПЦР)

**Результаты.** Гиперметилирование промоторных участков генов MGMT, p15 и hMLH1 было обнаружено в образцах цирДНК, выделенных из элюатов с поверхности форменных элементов крови больных раком желудка в 70, 50, 25 % случаев соответственно. Изменение статуса метилирования хотя бы одного из генов встречалось у 74 % больных. Гиперметилирование промоторных участков генов MGMT, p15 и hMLH1 в образцах, связанных с клеточной поверхностью цирДНК здоровых доноров, наблюдалось у 36, 18 и 9 % соответственно. Изменение статуса метилирования хотя бы одного из генов встречалось у 45 % здоровых доноров.

**Выводы.** Метод, основанный на определении aberrантного метилирования промоторных областей генов MGMT, p15 и hMLH1 в цирДНК, элюированных с поверхности клеток крови, позволяет диагностировать рак желудка с чувствительностью 74 % и специфичностью 55 %. При использовании пары генов p15 и hMLH1 специфичность диагностики возрастает до 72 %, однако чувствительность снижается до 65 %.

## ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПАКЛИТАКСЕЛА

О.В. КОЛОТОВА, Е.П. ФЕДОРОВА, Л.А. ЕРМОЛАЕВА, А.А. ЧУРИН

*ГУ «НИИ фармакологии Томского научного центра СО РАМН»*

**Актуальность.** В наше время онкопатология входит в число наиболее распространенных причин смерти населения всех возрастных групп.

Несмотря на достигнутый прогресс в лечении онкологических заболеваний с помощью современных противоопухолевых препаратов, таких

как паклитаксел, остается значимой проблема повреждения клеток здоровых тканей вследствие низкой селективности антибластомных средств. Следовательно, актуальным является поиск препаратов, снижающих побочное токсическое действие цитостатиков.

**Цель исследования.** Изучение гено-, гемато- и гепатотоксичности паклитаксела, а также, возможности коррекции выявленных эффектов.

**Материал и методы.** Эксперименты проведены на 80 мышах-самцах и самках – линии СВА/СаЛас и 100 беспородных крысах-самках. Паклитаксел мышам вводили однократно внутрибрюшинно в максимально переносимой дозе (МПД) 40,0 мг/кг, крысам однократно внутривенно в МПД – 5,0 мг/кг. В качестве позитивного контроля мышам вводили однократно внутрибрюшинно циклофосфан в дозе 20 мг/кг, в качестве негативного контроля использовали физиологический раствор. Для снижения генотоксичности совместно с паклитакселом мышам вводили тиофан (полифункциональный антиоксидант) в дозе 30 мг/кг внутривенно однократно или курсом в течение 5 дней. Для оценки цитогенетических нарушений через 6, 12, 24, 48 ч и на 5-е, 14-е сут исследовали состояние хромосом метафазных пластинок костного мозга (содержание поврежденных метафаз, число aberrantных хромосом, полиплоидные клетки) по модифицированному методу Форда. Изучение показателей кроветворных органов проводили стандартными гематологическими методами. Показатели форменных элементов в периферической крови определяли на гематологическом анализаторе Abacus. Цитологические препараты окрашивали комбинированно фиксатором-красителем Май-Грюнвальда и азур-П-эозином по Нохту. Исследования печени крыс проводили с помощью морфологических и биохимических методов. Результаты обрабатывали, используя критерий Вилкоксона–Манна–Уитни.

**Результаты.** На цитогенетических препаратах костного мозга через 24 ч после внутрибрюшинного введения паклитаксела у мышей наблюдалось достоверное увеличение доли поврежденных клеток за счет хроматидных разрывов хромосом. В остальные сроки наблюдения число структурных изменений хромосом оставалось на уровне контрольных значений. На 6-м ч наблюдения после введения препарата

значительно возрастал процент полиплоидных клеток, и максимальное их накопление отмечалось через 48 ч. Под влиянием циклофосфана в метафазных пластинках костного мозга наблюдалось достоверное повышение доли клеток с aberrациями хромосом по сравнению с негативным контролем. Сравнение с циклофосфаном показало, что генотоксичное действие паклитаксела менее выражено и носит обратимый характер.

Через 24 ч после сочетанного применения корректора тиофана с паклитакселом обнаружено снижение доли поврежденных генетических структур клеток костного мозга до уровня контрольных значений и достоверное повышение количества полиплоидных клеток по сравнению с группой животных, которым был введен паклитаксел. Курсовое введение тиофана, предшествующее введению паклитаксела, вызывало достоверное снижение количества aberrantных метафаз, количество полиплоидных клеток осталось без изменений.

Введение паклитаксела в МПД в ранние сроки у крыс вызывало развитие гипоплазии костного мозга: снижение содержания незрелых и зрелых гранулоцитов, эритронобластов и лимфоцитов. В периферической крови в этот период наблюдалось развитие лейкопении за счет снижения абсолютного числа сегментоядерных нейтрофилов. На 30-е сут после введения препарата все показатели костного мозга достигали уровня контрольных значений. В периферической крови абсолютное количество лейкоцитов оставалось сниженным в течение всего периода исследования. Введение тиофана снижало токсическое действие паклитаксела, увеличивая общую клеточность костного мозга. Наблюдалось повышение числа сегментоядерных лейкоцитов на 5-е сут и лимфоцитов на 30-е сут наблюдения.

Однократное внутривенное введение паклитаксела вызывает в печени крыс изменения, соответствующие острому токсическому гепатиту. При гистологическом исследовании обнаружены: воспалительная инфильтрация паренхимы и портальных трактов, моноцеллюлярные некрозы, жировая дистрофия гепатоцитов. Биохимическое исследование показало увеличение активности ферментов АлАТ, АсАТ, щелочной фосфатазы,  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы и

маркера ПОЛ – МДА в сыворотке крови. Наиболее выраженные нарушения отмечались на 10-е, 15-е сут после инъекции паклитаксела. Введение тиофана приводило к снижению воспалительной инфильтрации паренхимы печени, усиливало процессы регенерации, уменьшало выраженность жировой дистрофии гепатоцитов и устраняло явления отека печеночных балок. Тиофан эффективно снижал гиперферментацию, вызванную введением паклитаксела.

Таким образом, применение в качестве фармакологического корректора тиофана приводит к снижению неспецифического токсического действия паклитаксела, повреждающее действие противоопухолевого препарата на генетические структуры становится менее выраженным. Введение тиофана способствует нормализации процессов кроветворения, улучшению метаболизма и регенерации печени крыс.

## КОМБИНИРОВАННОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА С ПРИМЕНЕНИЕМ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ И ОПЕРАТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ С ЛИМФОДИССЕКЦИЕЙ D2

А.В. КОМИССАРОВ, К.В. СЕМИКОПОВ, В.Г. МАСЛОВ, И.Р. АХМЕТОВ,  
А.А. АНТОНОВ, Е.А. ШЕМЕТОВ

*ГЛПУ «Челябинский областной онкологический диспансер»*

**Цель исследования.** Изучить влияние комбинации предоперационной лучевой терапии и расширенных оперативных вмешательств с лимфодиссекцией D2 на непосредственные и отдаленные результаты лечения больных раком желудка.

**Материал и методы.** На выборке из 153 больных раком желудка не старше 65 лет, получавших лечение в 2003–2006 гг., проведен анализ выживаемости по Каплану–Майеру с учетом влияния основных прогностических факторов: стадии заболевания, регионарного метастазирования, формы роста, морфологической структуры и локализации опухоли. Выделены следующие группы: 1-я группа – предоперационная лучевая терапия (ЛТ) и операция с ЛД D0–1 – 56 больных, 2-я группа – ЛТ и ЛД D2 (основная группа) – 37 больных, 3-я – без ЛТ с ЛД D2 – 31 пациент, 4-я – без ЛТ с ЛД D0–1 – 29 больных. Предоперационная ЛТ проводилась средними фракциями по 5 Гр в течение 5 дней до СОД 25 Гр.

**Результаты.** При инфильтративно-язвенной форме роста общая и безрецидивная 3-летняя выживаемость в 1-й группе составили 51,9 % и 43,2 %, во 2-й группе – 94,7 %, в 3-й группе – 85,7 %, в 4-й группе – 46,3 % ( $p=0,028$  и  $p=0,02$ ). При низкодифференцированной аденокарцино-

ме эти показатели составили в 1 группе – 34,4 % и 29,5 %, во 2-й – 88,9 %, в 3-й – 53,1 % и 53,2 %, в 4-й – 29,2 % ( $p=0,223$  и  $p=0,187$ ). При N+ в 1-й группе – 19,9 % и 11 %, во 2-й – 58,5 %, в 3-й – 25,9 % и 38,2 %, в 4-й – 29,2 % и 51,3 % ( $p=0,521$  и  $p=0,478$ ). Анализ непосредственных результатов показал, что в 1-й группе частота осложнений и летальность составили 34,2 % и 1,3 % соответственно, во 2-й группе – 26,5 % и 4 %, в 3-й группе – 23,7 % и 5,3 %, в 4-й группе – 20,9 % и 4,5 % ( $p>0,05$ ). Не отмечено достоверных различий между группами в структуре послеоперационных осложнений, в том числе и по гнойно-септическим процессам. В частности, группы оказались сопоставимы по частоте таких наиболее грозных осложнений, как несостоятельность швов анастомоза и культы двенадцатиперстной кишки.

**Выводы.** Предоперационная ЛТ не оказалась альтернативой ЛД D2 при наличии таких прогностически неблагоприятных факторов, как инфильтративно-язвенная форма роста, низкодифференцированная аденокарцинома, N+. Комбинация предоперационной ЛТ и ЛД D2 не привела к увеличению частоты и изменению структуры послеоперационных осложнений и летальности.