

периоде больным проводилась повторная химиотерапия и в некоторых случаях наружная лучевая терапия.

Выводы. Возникновения рецидива опухоли находится в прямой зависимости от начальной распространенности злокачественного процесса. Большое значение имеет проведение предоперационной химиотерапии, радикальность выполненной операции, а также четкая

диспансеризация с наблюдением в первые три года каждые 3 мес, а затем до 5 лет каждые 6 мес, что способствует своевременному выявлению рецидива. При рецидивах рака вульвы показана химиотерапия с попыткой оперативного вмешательства в объеме максимально возможного иссечения опухоли и последующим химиолучевым лечением, что значительно увеличивает продолжительность жизни больных.

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ПОЛНОЙ ФРАКЦИИ РНК ИЗ ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ТКАНИ

Е.Г. НИКИТИНА, Д.Е. КУЛЬБАКИН

НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск

Актуальность. Молекулярный анализ биоматериала имеет множество приложений для исследовательских работ, а также для применения в клинической практике. Ученые всего мира используют операционный, биопсийный, архивный материал, а также биологические жидкости, пытаясь найти наиболее информативные и менее травматичные пути для диагностики и мониторинга различных заболеваний. Новым и весьма многообещающим классом для диагностики онкологических заболеваний явились микроРНК, которые относятся к классу малых РНК длиной 19–24 нуклеотида. Открытие этих регуляторных молекул стало, пожалуй, самой громкой сенсацией биологии конца XX века. В силу своего малого размера и биологических особенностей микроРНК являются весьма стабильными молекулами и обнаруживаются во всех тканях и жидкостях организма, что делает их ценными биомаркерами для молекулярного анализа. В зарубежной литературе описаны разные методы выделения полной фракции РНК (в ее составе и микроРНК) из различных видов биоматериала.

Целью исследования явилась проверка возможности применения этих методов и выбор оптимального для работы с образцами эпителия опухолей головы и шеи.

Материал и методы. В качестве исходного материала в работе были использованы образцы опухолевой и прилежащей морфологически не измененной ткани, а также образцы архивного материала пациентов отделения опухолей голо-

вы и шеи НИИ онкологии СО РАМН 2004–2005 гг. В работе использовался операционный материал от 17 пациентов и 10 архивных образцов. Операционный материал транспортировался и хранился в пробирках со средой *RNAlater* (Sigma, Missouri, USA). Сравнение методов проводили на 14 образцах. Для выделения РНК из биоматериала использовали *Trizol Reagent* (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) и набор реагентов *mirVana™* (Ambion, Carlsbad, CA, USA), согласно стандартным протоколам. Качество и количество РНК оценивали на спектрофотометре NanoDrop 1000.

Результаты. При сравнении двух методов выделения полной фракции РНК показано, что колоночный метод обеспечивает в среднем больший выход продукта и лучшие показатели чистоты РНК (средний выход РНК – 216,0 нг/мкл против 182,4 нг/мкл, коэффициент $A_{260/280}$ – 1,97 против 1,75, для *mirVana™* и *Trizol Reagent*, соответственно). При работе с реагентом *Trizol* выявлено, что выход конечного продукта зависит от размера образца, условий и полноты гомогенизации. Так, при выделении РНК из ткани объемом около 6 мм³ и средней степени гомогенизации образца (ножницами) выход тотальной РНК составил 173,3 нг/мкл с коэффициентом чистоты выделения $A_{260/280}$ 1,73. Однако выход продукта из ткани размером 2–3 мм³ при полной гомогенизации (микродиссемебратор) образца составил 128,6 нг/мкл ($A_{260/280}$ 1,75). Показано, что гомогенизация в присутствии буфера с ингибитором нуклеаз повышает выход РНК до

среднего значения 273,8 нг/мкл ($A_{260/280}$ 1,83). Выход РНК из нормальной ткани при всех типах гомогенизации был ниже, чем из опухолевой, что согласуется с литературными данными. При использовании колоночного метода mirVana™ выход продукта составил в среднем 216,1 нг/мкл с коэффициентом чистоты выделения $A_{260/280}$ 1,97. Выход РНК в образцах опухолевой ткани был выше, чем в нормальной ткани (248,3 нг/мкл против 168,2 нг/мкл соответственно).

Выводы. При выделении тотальной фракции РНК из архивного материала среднее значение

выхода продукта составило 187,9 нг/мкл, при чистоте выделения $A_{260/280}$ 1,68.

Согласно результатам проведенной работы предпочтительным для выделения тотальной фракции РНК является колоночный метод mirVana™, в силу большего выхода и чистоты продукта. Однако полученная тотальная РНК требует дополнительной проверки полимеразной цепной реакцией, что позволит судить о качестве продукта и, следовательно, дать оценку методу выделения, который был использован.

РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ГЛИОМ ГОЛОВНОГО МОЗГА С УЧЕТОМ ФАКТОРОВ ПРОГНОЗА

И.К. ОСИНОВ

НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск

Актуальность. Злокачественные глиомы (мультиформная глиобластома (МГБ), анапластическая астроцитома (АА)) являются наиболее часто встречающимися первичными опухолями головного мозга у взрослых в 50–60 %. Результаты лечения данной категории новообразований, несмотря на комплексный подход, во многом определяются прогностическими факторами, такими как возраст, объем остаточной опухоли, статус по Карновскому.

Цель исследования. Изучить влияние факторов прогноза на выживаемость до прогрессирования после комплексного лечения больных злокачественными глиомами головного мозга с использованием химиолучевой терапии с Темодалом (Темозоломид) в режиме 75 мг/м² и 200 мг/м² и ломустином (CCNU) в режиме 100 мг/м².

Материал и методы. В исследование включены 111 больных (70 мужчин и 41 женщина) со злокачественными глиомами головного мозга: АА – у 59 пациентов, МГБ – 51. С учетом прогностических факторов все больные были распределены в группы благоприятного – 59 больных (возраст менее 50 лет, диаметр остаточной опухоли менее 4 см, статус по Карновскому ≥ 70 %) и неблагоприятного прогноза – 52 больных (возраст более 50 лет, диаметр остаточной опу-

холи более 4 см, статус по Карновскому < 70 %). Всем пациентам через 14–21 день после операции назначалась ДГТ в режиме ротации, 5 раз в нед, РОД 2,0 Гр, до СОД 56–60,0 Гр. По режиму химиотерапии больные были распределены на три группы. I группа (35 человек) – ХЛТ с Темодалом, per os, в режиме 200 мг/м² по схеме 5 дней, каждые 28 дней. II группа (21 больной) – ХЛТ с Темодалом, per os, в режиме радиосенсибилизации по 75 мг/м² в течение всего курса лучевой терапии. После окончания курса ХТ продолжали по схеме 200 мг/м², 5 дней каждые 28. III группа (20 больных) – ХЛТ с ломустином (CCNU), per os, из расчета разовой дозы 100 мг/м² раз в 6 недель. Группа IV (35 больных) – ДГТ в стандартном режиме СОД 56–60 Гр.

Результаты. Медиана выживаемости до прогрессирования в I группе больных АА с благоприятным прогнозом – $14,0 \pm 6,0$ мес, во II – $10,0 \pm 4,2$ мес по сравнению с больными тех же групп, но с неблагоприятным прогнозом – $4,0 \pm 1,5$ и $5,0 \pm 0,5$ мес соответственно ($p < 0,05$). Для больных с МГБ с благоприятным прогнозом I и II групп получены аналогичные результаты: в I группе – $35,5 \pm 9,8$ мес; во II – $10,0 \pm 2,3$ мес в сравнении с неблагоприятным прогнозом – $6,0 \pm 0,8$ и $4,5 \pm 1,0$ ($p < 0,05$). В группе III различия в выживаемости до прогрессирования в за-