

УДК 616.33-006.6-07:577.2.088

*А.Ж. Муктубаева, Н.А. Шаназаров, А.Х. Сабиров, М.В. Антонов***МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ КАРТИНА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА***ГОУ ВПО Тюменская государственная медицинская академия Росздрава***Контактная информация***Сабиров Ахат Халимович, д-р мед. наук, доцент кафедры онкологии с курсом ЛД и ЛТ***адрес:** 625039, Тюмень, ул. Одесская, д. 54; **тел.** +7(3452)41-09-36, **моб.** +7(912)921-22-22;**e-mail:** sabirov58@mail.ru

Статья поступила: 23.12.2010, принята к печати 18.03.2011.

Резюме

В работе представлены результаты исследования молекулярно-генетического статуса, уровней экспрессии свободно-растворимой формы рецептора эпидермального фактора роста EGFR и сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF, определяемых у больных раком желудка, которые рассматриваются в качестве перспективных маркеров, характеризующих биологическое поведение опухоли и позволяющих индивидуализировать подходы к назначению терапии больных раком желудка.

Показана корреляция мутаций в некоторых онкогенах с гистологическим вариантом опухоли, их диагностическая и прогностическая значимость.

Ключевые слова: мутация онкогенов, рецепторы факторов роста, пролиферативная активность, онкомаркеры.

*A.Zh. Muktubaeva, N.A. Shanazarov, A.H. Sabirov, M.V. Antonov***The molecular-genetic status in patients with gastric cancer***Tumen State Medical Academy***Abstract**

In this paper we present the alterations in molecular-genetic status, and expression levels of freely soluble forms of epidermal growth factors' receptor EGFR and vascular endothelial growth factor VEGF, to estimate their prognostic significance in patients with gastric cancer. EGFR and VEGF considered as markers characterizing tumor's behavior and help us to individualize approaches to therapy.

Here we show the correlation between the mutations in certain oncogenes with histological variant of tumor in gastric cancer patients.

We also estimate the diagnostic and prognostic significance of these markers.

Key words: oncogene mutations, growth factors' receptors, proliferative activity, tumor markers.

Введение

В структуре смертности онкологические заболевания занимают 2 место, уступая лишь заболеваниям сердечно-сосудистой системы. При этом 30 % умерших от онкологических новообразований составляют лица трудоспособного возраста [4].

Одной из наиболее актуальных проблем современной онкологии является рак желудка, это обусловлено высокой частотой выявления заболевания и высоким удельным весом распространенности и запущенности.

Длительное время рак желудка являлся одной из ведущих причин смертности во всем мире, за последние десятилетия частота этого заболевания постепенно снижается.

В Тюменской области показатель заболеваемости раком желудка за 10 лет снизился [2; 3] с 20,3 до 17,53 на 100 000 населения (1998–2008 гг.).

До сих пор не решены проблемы ранней диагностики и рационального комбинированного лечения опухолевого процесса.

Поэтому изучение диагностической значимости частоты выявления изменений некоторых онкогенов и определение уровней экспрессии свободно-растворимой формы рецептора EGFR и VEGF при раке желудка у человека является весьма актуальной.

Изучение молекулярно-генетического статуса, а именно изменения в онкогенах p53 (5–8 ex), C-kit, B-raf, APC, K-ras, E-caderin, DPDY, p16 и определение

уровней экспрессии свободно-растворимой формы EGFR и VEGF рассматривается в качестве перспективных маркеров, характеризующих биологическое поведение опухоли и позволяющих индивидуализировать подходы к назначению терапии больным раком желудка [1].

Но несмотря на значительное количество исследований, однозначного ответа на вопрос о значении изменений в онкогенах p53 (5; 6; 7; 8 ex), C-kit, B-raf, APC, K-ras, E-caderin, DPDY, p16 при развитии опухолевого процесса у человека до настоящего времени пока не получено.

Цель работы – изучить молекулярно-генетические изменения у больных раком желудка.

Задачи исследования

1. Определить характер мутаций в ДНК больных раком желудка, выделенной из парафиновых образцов; оценить их прогностическое значение.
2. Определить характер мутаций в ДНК при раке желудка, выделенной из плазмы и клеток крови; оценить их прогностическое значение.
3. Определить уровень экспрессии свободно-растворимой формы EGFR и VEGF; в динамике оценить их прогностическое значение.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе ООО «Центр молекулярно-генетической диагностики Сабирова А.Х.». Объектом служили 47 больных раком желудка, проходившие обследование и лечение в Тюменском областном онкологическом диспансере и центре молекулярно-генетической диагностики с июля 2008 по сентябрь 2010 гг., из которых в исследование были включены пациенты после оперативного лечения и с наиболее полной молекулярно-генетической картиной (n=11). Определение уровня экспрессии свободнорастворимой формы EGFR и эндотелиального фактора роста VEGF в сыворотке крови проводили с помощью ИФА в модификации ELISA. Материалом для молекулярно-генетического исследования послужили клетки опухоли, плазма и клетки крови больных. Выделение ДНК проводили с помощью метода фенол-хлороформной экстракции. Наличие мутаций определяли в онкогенах p53 (5-8 ex), C-kit, B-raf, APC, K-ras, E-caderin, PDY и p16 с использованием специально подобранных праймеров. Результаты верифицировали прямым секвенированием полученных фрагментов.

Результаты

Среди 47 больных раком желудка 11 были после оперативного лечения и с наиболее полной молекулярно-генетической картиной (n=11). 7 больным (63,6 %) была выполнена радикальная операция (дистальная субтотальная резекция желудка, проксимальная субтотальная резекция желудка, гастрэктомия), 3 пациента (27,3 %) были прооперированы паллиативно (гастрэктомия, дистальная субтотальная резекция желудка, гастростомия) и 1 больному (9,1 %) операция была выполнена с диагностической целью. При молекулярно-генетическом исследовании в ДНК парафиновых образцов, как и в ДНК плазмы крови, наибольшее количество мутаций определяется при низкодифференцированном варианте опухоли (n=7) в генах p53 (5; 6; 7; 8 ex), C-kit, E-caderin, K-ras, APC, p16 и сопровождается высоким индексом пролиферативной активности опухолевых клеток Ki-67=71,25 %; при умеренно-дифференцированном варианте опухоли (n=2) мутации были выявлены в генах p53 7ex, B-raf, C-kit; несколько меньшее число мутаций выявлено при высокодифференцированном варианте опухоли (n=2) – изменения в генах p53 6ex, p53 7ex, APC (см. таблицу). В ДНК, выделенной из клеток крови, подобные изменения не выявлены.

Максимальное количество мутаций приходится на ген p53 в 7ex, что может рассматриваться в качестве маркера агрессивности опухолевых клеток, плохо отвечающих на химиотерапию.

У радикально прооперированных больных молекулярно-генетические изменения в ДНК, выделенной из плазмы крови, наблюдались в следующих онкогенах – p53 5ex(n=1), p53 6ex(n=1), p53 7ex(n=4), p53 8ex(n=1), C-kit(n=3), E-caderin(n=2), APC(n=1), B-raf(n=1), то есть не была констатирована молекулярная ремиссия, что следует учитывать для выбора дальнейшей тактики химиотерапии.

В 81,7 % случаев (9 человек) химиотерапия была назначена сразу же после оперативного лечения или после проведенного молекулярно-генетического обследования. В 18,2 % случаев (2 человека) химиотерапия не была назначена, а по результатам молекулярно-генетического исследования наблюдались мутации некоторых онкогенов и гиперэкспрессия свободнорастворимой формы рецептора эпидермального фактора роста и сосудистого эндотелиального фактора роста.

При проведении молекулярно-генетического исследования и иммуноферментного анализа в модификации ELISA после двух курсов химиотерапии достоверного снижения количества мутаций не было отмечено, что говорит о том, что молекулярная ремиссия не была достигнута и должна учитываться для выбора дальнейшей тактики проведения ХТ.

При определении уровня экспрессии свободнорастворимой формы EGFR в сыворотке крови у 11 больных раком желудка среднее значение его уровня составило 4,38 ммоль/л, что превышает пороговое значение нормы 3,6 ммоль/л.

Уровень экспрессии VEGF составил 0,5 ммоль/л, что в два раза превышает нормальные значения, 0,25 ммоль/л, и является показанием для назначения таргетной терапии.

Отдаленные результаты среди 11 прооперированных больных в 2006–2010 гг.:

- через 6 мес. после оперативного лечения удовлетворительное состояние отмечается у 100% (11) больных;
- через 1 год после проведенного оперативного лечения смертность составила – 27,3 % (3) больных;
- через 2 года – 18,2 % (2) человека;
- в настоящее время удовлетворительное состояние – у 54,5 % (6) больных.

Т а б л и ц а

Молекулярно-генетический статус больных раком желудка (n=11)

Аденокарцинома	n	ДНК по парафиновым образцам тканей	ДНК по плазме
Низкодифференцированная	7	p53 5ex(n=2) p53 6ex(n=1) p53 7ex(n=4) p53 8ex(n=1) C-kit(n=4) E-caderin(n=1) APC(n=1) p16(n=1)	p53 5ex(n=2) p53 6ex(n=1) p53 7ex(n=4) p53 8ex(n=1) C-kit(n=4) E-caderin(n=2) K-ras(n=1) APC(n=1)
Умеренно-дифференцированная	2	p53 7ex(n=1) C-kit(n=1) B-raf(n=1)	p53 7ex(n=1) C-kit(n=1) B-raf(n=1)
Высокодифференцированная	2	p53 6ex(n=2) p53 7ex(n=1) APC(n=1)	p53 7ex(n=1) APC(n=1)

Выводы

1. Наиболее частыми мутациями у больных раком желудка в ДНК, выделенной из парафиновых образцов, являются *p53* 5ex, *p53* 6ex, *p53* 7ex, C-kit, APC, что коррелирует с низкой дифференцировкой опухолевых клеток и сопровождается высоким индексом пролиферативной активности Ki-67=71,25 %.
2. При исследовании ДНК плазмы крови наиболее частые мутации встречаются в

- p53* 5ex, *p53* 7ex, C-kit, E-caderin, что также коррелирует с низкой дифференцировкой опухолевых клеток и высоким индексом пролиферативной активности. Подобные изменения в ДНК клеток крови не определяются.
3. Средний уровень экспрессии свободно-растворимой формы EGFR в сыворотке крови пациентов составил 4,38 ммоль/л, VEGF – 0,5 ммоль/л, что встречается при различных вариантах дифференцировки опухоли желудка.

Литература

1. Сабиров А.Х., Шаназаров Н.А., Федоров Н.М. Первый опыт применения молекулярно-генетических маркеров в оценке лечения рака желудка // Медицинская наука и образование Урала. – 2009. – №4. – С. 43–5.
2. О состоянии онкологической помощи в Тюменской области за 2003 г. – Тюмень: ООО «Издательский центр Академия», 2004. – С. 14–5.
3. О состоянии онкологической помощи в Тюменской области за 2008 г. – Тюмень: ООО «Издательский центр Академия», 2009. – С. 12–3.
4. Состояние онкологической помощи населению России в 2008 году. Под ред. Чиссова В.И., Старинского В.В., Петровой В.Г. – М.: ФГУ МНИОИ им. П.А. Герцена Росздрава, 2009. – С. 64–7.

УДК 616.33-006.6:615.281.9.036

*М.А. Сеньчукова^{1,2}, О.В. Мельников², Д.Ю. Воронов², Д.В. Глухов², С.О. Митряков²***СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОТДАЛЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРОВЕДЕНИЯ ДО ОПЕРАЦИИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ**¹Оренбургская государственная медицинская академия, Оренбург²Оренбургский областной клинический онкологический диспансер, Оренбург**Контактная информация**

Сеньчукова Марина Алексеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры онкологии

адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Советская, 6; тел.: 8(906)831-24-13

e-mail: masenchukova@yandex.ru

Статья поступила 27.10.2010., принята к печати 18.03.2011.

Резюме

Изучены отдаленные результаты лечения 59 радикально оперированных больных раком желудка в зависимости от наличия в анамнезе антибактериальной терапии. Было установлено, что назначение в прегоспитальном периоде антибактериальной терапии достоверно улучшает отдаленные результаты лечения больных раком желудка с метастазами в регионарных лимфатических узлах. Необходимы дальнейшие исследования для уточнения роли антибактериальной терапии в лечении больных с инвазивным раком желудка.

Ключевые слова: рак желудка, антибактериальная терапия, отдаленные результаты лечения*М.А. Senchukova^{1,2}, O.V Melnikov², D.Y. Voronov², D.V. Gluhov², S.O. Mitraykov²***COMPARISON OF THE LONG-TERM TREATMENT RESULTS OF PATIENTS WITH GASTRIC CANCER DEPENDING ON CARRYING OUT BEFORE OPERATION OF ANTIBACTERIAL THERAPY**¹Orenburg state medical academy¹²Orenburg regional clinical oncological dispensary²**Abstract**

We have studied the long-term treatment results of 59 radical operated patients with gastric cancer depending on the presence in the anamnesis the antibacterial therapy. It was established, that management of the antibacterial therapy at a pre-hospital period considerably improved the long-term treatment results of the GC patients with the metastasis in regional lymph nodes. Elucidation of a role of antibacterial agents in treatment invasive GC is the focus of our ongoing work.

Key words: gastric cancer, antibacterial therapy, long-term treatment results**Введение**

В настоящее время клинические и экспериментальные исследования показали, что применение антибактериальных препаратов в комплексной терапии ЗНО может способствовать улучшению

отдаленных результатов лечения. В эксперименте проведение ХТ в комбинации с кларитромицином по поводу перевивной опухоли молочной железы (или назначение кларитромицина после ее хирургического удаления) достоверно увеличивало продолжительность жизни подопытных животных [13].