

адекватно и в более ранние сроки оценить эффективность проводимого курса химиотерапии

и, соответственно, спланировать дальнейшую тактику лечения.

## МЕТОД ЛОКАЛЬНОЙ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ В ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ КУЛЬТЫ РЕЗЕЦИРОВАННОГО БРОНХА У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО ПОСЛЕ КОМБИНИРОВАННОГО ЛЕЧЕНИЯ

Н.В. ПОЛЯКОВА<sup>1</sup>, В.А. ЕВТУШЕНКО<sup>1</sup>, Н.Н. БУЛГАКОВА<sup>2</sup>, О.В. ЧЕРЕМИСИНА<sup>1</sup>

*НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск<sup>1</sup>  
ИОФ РАН им. А.М. Прохорова, г. Москва<sup>2</sup>*

**Актуальность.** Рак легкого занимает лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости и смертности в большинстве индустриально развитых стран. Несмотря на постоянное совершенствование методов лечения, прогноз у данной группы пациентов остается неблагоприятным. Традиционными методами оценки эффекта лечения рака легкого и выявления рецидива опухоли являются рентгенологическое и эндоскопическое исследование. Среди методов раннего выявления рака перспективным на сегодняшний день является аутофлуоресцентная диагностика (АФД). АФД основана на различиях в интенсивности и спектральном составе собственной флуоресценции здоровой и патологически измененной ткани. Одним из способов исследования аутофлуоресценции (АФ) слизистой оболочки бронхов является метод локальной флуоресцентной спектроскопии (ЛФС), который позволяет получать количественную информацию при измерениях спектров лазер-индуцированной аутофлуоресценции биологических тканей.

**Цель исследования** – повысить эффективность ранней диагностики патологических изменений в культе резецированного бронха у больных, получивших комбинированное лечение по поводу рака легкого.

**Материал и методы.** Проведено динамическое наблюдение за 68 больными, получившими комбинированное лечение по поводу немелкоклеточного рака легкого. Всем пациентам в послеоперационном периоде с целью раннего выявления патологических изменений в культе резецированного бронха проводилась традици-

онная фибробронхоскопия, которая дополнялась измерением лазер-индуцированной аутофлуоресценции слизистой оболочки бронхов методом ЛФС. После проведения спектрально-флуоресцентных измерений выполнялся забор материала слизистой оболочки бронхиального дерева для морфологического исследования.

**Результаты.** При обследовании больных раком легкого после комбинированного лечения в слизистой оболочке культы резецированного бронха было выявлено: в 3 случаях – рецидив рака, в 40 – воспаление слизистой оболочки, при этом хроническое воспаления отмечались у 34, острое – у 6 пациентов, в 12 наблюдениях патологических изменений не отмечалось. При проведении ЛФС в патологически не измененной слизистой оболочке культы резецированного бронха регистрировалась интенсивная аутофлуоресценция, значения спектрально-флуоресцентного диагностического параметра  $D_f$  были стабильны и варьировали в пределах  $D_f$  от 0,8 до 1,0. В участках слизистой оболочки с признаками острого воспаления наблюдалось достоверное падение интенсивности АФ в максимуме спектра и возрастание параметра  $D_f$  по отношению к показателям в нормальной слизистой оболочке. В случаях диагностированного рецидива злокачественной опухоли в культе резецированного бронха, регистрировалось резкое падение интенсивности АФ относительно здоровой слизистой оболочки и возрастание величины спектрально-флуоресцентного диагностического параметра  $D_f$  более 1,4.

**Выводы.** Проведенное исследование АФ слизистой оболочки культы резецированного

бронха методом локальной флуоресцентной спектроскопии выявило достоверные отличия

в показателях АФ при раке, остром воспалении и нормальной слизистой оболочке.

## АНАЛИЗ СТАТУСА МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНА ОПУХОЛЕВОЙ СУПРЕССИИ ГЕНА RAR $\beta$ 2 В ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ДНК КРОВИ ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО

А.А. ПОНОМАРЕВА<sup>1</sup>, Т.Э. СКВОРЦОВА<sup>2</sup>, А.Ю. ДОБРОДЕЕВ<sup>1</sup>

*НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск<sup>1</sup>*

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск<sup>2</sup>*

**Актуальность.** Рак легких (РЛ) занимает одно из ведущих мест в структуре общей летальности от онкологических заболеваний. Важнейшим условием успешного лечения РЛ является обнаружение опухолевого процесса на ранних стадиях. Известно, что инактивация ряда генов опухолевой супрессии в результате aberrантного гиперметилирования их промоторных областей является одним из наиболее распространенных и ранних событий, приводящих к опухолевому перерождению клеток. С высокой частотой в опухолевой ткани при раке легкого выявлено aberrантное метилирование гена RAR $\beta$ 2 (в 80% случаев). Обнаружение эпигенетических изменений в циркулирующих ДНК (цирДНК) плазмы/сыворотки, идентичных изменениям ДНК в клетках опухоли (Fleischhacker M. et al., 2007), открывает большие возможности для разработки чувствительных методов ранней малоинвазивной диагностики рака легких. Недавние исследования показали, что использование цирДНК, связанных с поверхностью форменных элементов клеток крови в ПЦР, специфичной к метилированию (метПЦР), повышает чувствительность метода выявления ДНК-онкомаркеров по сравнению с использованием цирДНК плазмы (Skvortsova T. et al., 2006; Kolesnikova E. et al., 2008).

**Цель исследования** – сравнительный анализ в норме и при раке легкого уровня метилирования гена RAR $\beta$ 2 во внеклеточных ДНК в различных фракциях крови методом количественной метил-специфичной ПЦР в реальном времени.

**Материал и методы.** В работе использованы образцы крови здоровых индивидуумов и боль-

ных раком легкого. Кровь разделяли на плазму и клетки крови, фракцию внДНК, связанных с клеточной поверхностью, получали последовательной обработкой клеток фосфатным буфером, содержащим ЭДТА, и раствором трипсина. Уровень метилирования гена опухолевой супрессии RAR $\beta$ 2 оценивали методом ПЦР.

**Результаты.** Показано, что метилированные формы промоторов генов RAR $\beta$ 2 могут быть детектированы в 75–84% случаев в опухолевой ткани и плазме крови у больных раком легкого и в 23% случаев в ткани и плазме крови у индивидуумов, не обнаруживающих симптомов развития онкозаболеваний (Hsu H.S. et al., 2007; Brait M. et al., 2009). В силу этого необходимым условием создания методов анализа, позволяющих диагностировать рак, является не только качественная, но и количественная оценка уровня метилирования промоторных областей генов в норме и при развитии злокачественных опухолей. Методом количественной ПЦР нами показано, что уровень метилирования гена RAR $\beta$ 2 в цирДНК крови достоверно выше при раке легкого, чем в норме. При этом количество метилированных форм гена RAR $\beta$ 2 в цирДНК в плазме и цирДНК, связанных с клеточной поверхностью, представлено в соотношении 1:1.

**Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о том, что определение уровня метилирования последовательностей генов опухолевой супрессии в циркулирующих ДНК крови может быть использовано для поиска и верификации новых диагностических ДНК-маркеров, ассоциированных с развитием РЛ.