

Григорук О.Г.^{1,2,3}, Пупкова Е.Э.², Базулина Л.М.², Лазарев А.Ф.^{1,2,3}

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ЛЁГКОГО И РАКА ЯИЧНИКОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦИТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

¹Алтайский филиал ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 656049, г. Барнаул, Россия;

²КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер», 656043, г. Барнаул, Россия;

³ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, 656038, г. Барнаул, Россия

В статье приведены результаты внедрения в практическую онкологию молекулярно-генетических исследований, проведённых с использованием ДНК-клеток опухоли с цитологического материала. Изучена молекулярно-генетическая характеристика образцов цитологического материала 126 пациентов. Мутации гена EGFR при установленном цитологическом диагнозе аденокарциномы лёгкого (n = 80) отмечены в 11,7% наблюдений. Мутации генов KRAS, BRAF и BRCA1/2 определяли у женщин (n = 46) с серозной карциномой яичников. Мутации KRAS в клетках серозной карциномы низкой степени злокачественности обнаружены в 62,5% случаев, BRAF – в 12,5% наблюдений. Мутации BRCA1 у женщин из группы серозной карциномы высокой степени злокачественности обнаружены у 14,3% пациенток. При условии достаточного количества клеток опухоли цитологический материал позволяет провести полноценные молекулярно-генетические исследования. Исследования мутаций гена EGFR при аденогенном раке лёгкого и мутаций генов KRAS, BRAF и BRCA1/2 при серозной карциноме яичника являются обязательными при назначении таргетной терапии.

Ключевые слова: молекулярно-генетические исследования; цитологический материал; аденогенный рак лёгкого; серозный рак яичника; мутации генов EGFR, BRCA1/2, KRAS, BRAF; таргетные препараты.

Для цитирования: Григорук О.Г., Пупкова Е.Э., Базулина Л.М., Лазарев А.Ф. Молекулярно-генетические исследования при диагностике рака лёгкого и рака яичников с использованием цитологического материала. *Российский онкологический журнал*. 2017; 22(4): 214–218. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2017-22-4-214-218>

Для корреспонденции: Григорук Ольга Григорьевна, д-р биол. наук, зав. отделением клинической лабораторной диагностики (для проведения цитологических методов исследования) КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер». E-mail: cytolakod@rambler.ru.

Grigoruk O.G.¹⁻³, Pupkova E.I.², Bazulina L.M.², Lazarev A.F.¹⁻³

MOLECULAR GENETIC TESTING IN DIAGNOSTICS OF LUNG CANCER AND OVARIAN CARCINOMA WITH THE USAGE OF CYTOLOGICAL SPECIMENS

¹Altai Branch of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, 656049, Barnaul, Russian Federation;

²Altai Regional Oncology Dispensary, Barnaul, 656049, Russian Federation;

³The Altai State Medical University, Barnaul, 656038, Russian Federation.

This article presents results of the introduction in practical oncology of molecular genetic investigations performed with the use of tumor DNA cells taken from the cytological specimens. There was investigated the molecular genetic characteristics of cytological specimens from 126 patients. In 80 cases with the proved diagnosis of pulmonary adenocarcinoma (n = 80) EGFR gene mutations were noted in 11.7% cases. KRAS, BRAF and BRCA1/2 gene mutations were determined in 46 women suffering from serous ovarian carcinoma. KRAS gene mutations in cells of ovarian low-grade serous carcinoma were determined in 62.5% of patients, BRAF- in 12.5% cases. BRCA1 gene mutations have been determined in 14.3% cases from the ovarian high-grade serous carcinoma group. In conditions of the presence of the sufficient amount of tumor cells the cytological material is the fully-featured material for molecular genetic investigations. The investigation both of EGFR gene mutations in pulmonary adenocarcinoma cases and KRAS, BRAF, BRCA1/2 gene mutations with serous ovarian carcinoma are mandatory in the appointment of targeted therapy.

Keywords: molecular genetic testing; cytological specimens; pulmonary adenocarcinoma; serous ovarian carcinoma; EGFR; BRCA1/2; KRAS; BRAF gene mutations; targeted preparations

For citation: Grigoruk O.G., Pupkova E.I., Bazulina L.M., Lazarev A.F. Molecular genetic testing in diagnostics of lung cancer and ovarian carcinoma with the usage of cytological specimens. *Rossiyskiy onkologicheskiy zhurnal. (Russian Journal of Oncology)*. 2017; 22(4): 214–218. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2017-22-4-214-218>

For correspondence: Olga G. Grigoruk, MD, PhD, DSc, Head of the Clinical Laboratory Diagnostics Department (for Carrying out Cytological Research Methods) of the Altai Regional Oncological Dispensary; Barnaul, 656049, Russian Federation. E-mail: cytolakod@rambler.ru.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study has no sponsorship.

Received 25 May 2017

Accepted: 22 June 2017

Успешное развитие молекулярной онкологии, накопившийся опыт использования в клинической практике новых таргетных препаратов, позволяющих реализовать персонализированный подход к лечению, требуют точной диагностики с определением наличия мутаций в клетках опухоли. Наиболее существенные успехи достигнуты в таргетной терапии при немелкоклеточном раке лёгкого, колоректальном раке, гастроинтестинальных стромальных опухолях, раке молочной железы, меланоме и других опухолях [1].

В 2004 г. в научной литературе появились сообщения об активирующих соматических мутациях в рецепторе эпидермального фактора роста (*EGFR*). Открытие соматических мутаций гена *EGFR* явилось ключевым моментом в разработке стратегии лечения немелкоклеточного рака лёгкого и привело к появлению нового молекулярного показателя чувствительности опухоли лёгкого к ингибиторам тирозинкиназы [2, 3]. Исследователями обнаружено, что у пациентов (10% от числа всех больных немелкоклеточным раком лёгких), получающих эффект от лечения gefитинибом и эрлотинибом, в ткани опухоли обнаружены мутации гена *EGFR* [2, 4]. Назначение таргетных препаратов эрлотиниб, афатиниб и gefитиниб показано только тем больным, у которых в опухолевых клетках выявляется мишень для действия этих препаратов [2, 5]. Проведение молекулярно-генетических исследований позволяет выделить группу пациентов, для которых наиболее вероятен выраженный клинический ответ на терапию ингибиторами тирозинкиназы. В практическом здравоохранении в настоящее время доступно исследование 29 клинически наиболее значимых мутаций гена *EGFR*, которые локализованы в 18–21-м экзонах, кодирующих тирозинкиназный домен. Особую значимость для персонализированного подхода к выбору терапии имеют делеции 19-го экзона и мутация L858R 21-го экзона, определяющие около 90% спектра мутаций тирозинкиназного домена гена *EGFR*. В настоящее время определение мутаций гена *EGFR* у больных аденогенным раком лёгкого является обязательной диагностической процедурой, клинически и экономически обоснованной.

Одним из первых идентифицированных онкогенов является ген *KRAS*, причастность которого к опухолевому росту открыта в 1980-х годах, мутации гена *KRAS* обнаружены в опухолях различных локализаций: при метастатическом колоректальном раке, немелкоклеточном раке лёгкого, аденокарциноме поджелудочной железы, раке щитовидной железы, меланоме, раке яичника [6]. Мутации гена *BRAF* обнаружены в опухолевых клетках аналогичных образований. Мутационный статус генов *KRAS* и *BRAF* находится во взаимоисключающих отношениях: если в клетках опухоли обнаруживается активация гена *KRAS*, присутствие нарушений в кодоне 600 гена *BRAF* практически не встречается; напротив, если в опухоли наблюдается мутация гена *BRAF*, то статус гена *KRAS* почти всегда остаётся нормальным.

В настоящее время активное использование в клинической практике особенностей канцерогенеза рака яичников даёт основу для разработки таргетных препаратов, воздействующих на относительно часто встречающиеся молекулярные нарушения в опухолевых клетках. Серозный рак яичника низкой сте-

пени злокачественности составляет менее 5% всех карцином яичника. Для этой формы рака характерны в 19% наличие соматических мутаций в гене *KRAS* и в 8% – в гене *BRAF* [7]. Среди женщин с серозным раком яичников низкой степени злокачественности наличие соматических мутаций *KRAS/BRAF* является благоприятным прогностическим фактором [8]. Практическое применение таргетных препаратов, воздействующих на мутации гена *KRAS*, для лечения пациенток этой группы находится в стадии научных и клинических разработок, что становится основной тенденцией в развитии терапии рака яичников. У пациенток, имеющих мутацию V600E гена *BRAF*, ранее получивших несколько линий химиотерапии, лечение вемурафенибом обеспечивает стойкий симптоматический, радиологический и биохимический ответ [9].

Другой изученной мишенью, в частности при высокозлокачественных формах серозного рака яичника, являются мутации генов *BRCA1/2*, которые приводят к повышению риска возникновения рака яичников [10, 11]. По данным разных авторов, при раке яичников герминальные мутации генов *BRCA1/2* выявляются в 10–17% случаев [11, 12]. Кроме того, в течение длительного времени явно недооценивалось значение соматических мутаций *BRCA1/2* при раке яичников, хотя описаны они были давно (Foster K. A., 1996; Berchburk A., 1998). По опубликованным в «The Cancer Atlas» данным, не менее 6% мутаций определяется только в опухолевой ткани яичников, причём в нескольких случаях соматические мутации *BRCA1* сочетались с герминальными в *BRCA2* и наоборот. Эти данные подтверждают необходимость исследования при раке яичников не только клеток крови для поиска герминальных мутаций, но и опухолевой ткани для выявления соматических нарушений [12].

BRCA-ассоциированные раки молочной железы и яичников характеризуются резистентностью к «золотому стандарту» терапии – препаратам из группы таксанов [6]. В то же время рак молочной железы у *BRCA*-гетерозигот демонстрирует исключительно выраженный регресс при лечении цисплатином [6]. Данный факт позволяет персонализировать процесс лечения и определять прогноз заболевания. Назначение новых таргетных препаратов, таких как олапариб, для поддерживающего лечения пациенток с рецидивирующим серозным раком яичников высокой степени злокачественности показано пациенткам с мутацией *BRCA*, у которых регистрировался ответ на терапию препаратами платины [13].

Проведение молекулярно-генетических исследований для выявления данных мишеней стало неотъемлемой частью диагностики в практической работе онкологических диспансеров. Для поиска данных мишеней в настоящее время существуют различные методы: секвенирование, аллель-специфическая полимеразно-цепная реакция, секвенирование следующего поколения и метод мультиплексной полимеразной цепной реакции с лигированием олигонуклеотидных зондов.

Самый чувствительный молекулярно-генетический метод – полимеразная цепная реакция используется для определения точковых мутаций, делеций, инсерций, инверсий, транслокаций, амплификаций и др. генетических аберраций в любом материале, содержащем опухолевые клетки (фрагменты опухоле-

вой ткани, единичные опухолевые клетки, слизь, мокрота, слюна, моча, кал, костный мозг, выделения из молочных желез, сок поджелудочной железы, желчь, асцитическая жидкость и т. д.), и в плазме крови [14].

Наиболее часто для молекулярно-генетического анализа используются фрагменты опухолевой ткани, полученные в ходе операции или биопсии. В тех случаях, когда для исследования доступен только цитологический материал, источником ДНК опухолевых клеток для поиска соматических мутаций могут быть окрашенные цитологические препараты, цитоблоки, цитоспины и т. д. Для проведения молекулярного тестирования обычно достаточно всего одного стекла, содержащего не менее 100–200 опухолевых клеток.

Цель работы: оценить возможности проведения молекулярно-генетических исследований с использованием ДНК клеток опухоли, полученных из цитологических препаратов, при раке лёгкого и яичника.

Материал и методы

Изучены результаты молекулярно-генетических исследований 80 пациентов с аденогенным раком лёгкого и 46 пациенток с серозным раком яичника, пролеченных в КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер» в 2014–2016 гг. Использованы клинические данные пациентов и образцы их ДНК, выделенные из цитологических препаратов, окрашенных по методу Паппенгейма (см. табл.).

В цитологических препаратах оценивали количество опухолевых клеток и их процентное соотношение с остальным клеточным материалом [15]. Отобранные комплексы клеток опухоли на стекло-препарате отмечали маркером. Клеточный материал растворяли каплей лизирующего раствора и отбирали пипеткой в пробирку типа Эппендорф. ДНК, полученную из цитологических препаратов, выделяли с помощью набора QIAamp DNA Mini Kit («Qiagen», Германия) по стандартным протоколам в автоматическом режиме на станции QIAcube. Молекулярно-генетическое исследование материала осуществляли методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. На первом этапе проводили оценку пригодности полученных ДНК-образцов в контрольной ПЦР-реакции (в соответствии со стандартным протоколом производителя). Кривые накопления ПЦР-продукта в

образцах сопоставляли со стандартами ДНК без мутации в исследуемом гене (отрицательный ДНК-стандарт, входящий в набор для постановки ПЦР-реакции, где амплифицируется константный район исследуемого гена). Для учета уровня фона ПЦР-реакции в работе использовали контроль без матрицы (вода). Качество и количество ДНК оценивали по величине C_t , которая соответствует количеству циклов ПЦР, при которых кривая флуоресценции пересекает заданный уровень фона (т. е. не менее 2 нг очищенной ДНК в образце). Для аллель-специфической ПЦР использовали только образцы, ДНК которых имела величину C_t , сопоставимую с C_t отрицательного стандарта. Оценивали статус генов *EGFR*, *BRCA 1/2*, *KRAS*, *BRAF*. В случае исследования генов *BRCA1/2* ПЦР-реакцию проводили в один этап, одновременно сопоставляя с отрицательным и положительным ДНК-стандартами.

Определение статуса гена *EGFR* осуществляли методом аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени с помощью набора *EGFR RGQ PCR Kit* («Qiagen», Германия) на приборе *CFX-96* (США). Исследовали мутации: 18 ex.(G719X); del19 ex.; 20 ex. (T790M, S768I, ins); 21 ex. (L858R, L861Q).

На начальном этапе выполнения работы отобран цитологический материал 20 пациентов с установленным диагнозом рака лёгкого двумя морфологическими методами – гистологическим и цитологическим. Полученные результаты определения мутаций из гистологического и цитологического материала были сопоставимы. В последующем у 60 пациентов определение статуса гена *EGFR* проводили только на образцах ДНК, выделенной из цитологического материала, так как он являлся единственно доступным для исследования.

В группе пациенток с серозной карциномой яичников проводили исследование генов *KRAS*, *BRAF*, *BRCA1/2*. Мутации в генах *KRAS*, *BRAF*, *BRCA1/2* детектировали методом аллель-специфической ПЦР с помощью наборов Real-time PCR производства ООО «Биолинк» (Россия) на приборе *CFX-96* (США). Исследовали следующие мутации: в гене *BRCA1* – 5382insC, 4153delA, 185delAG, T300G; в гене *BRCA2* – 6174delT; в гене *KRAS* – G12C, G12S, G12R, G12V, G12D, G12A, G13D и в гене *BRAF* – V600E.

Результаты

В ходе исследования изучен статус гена *EGFR* у 21 женщины и 59 мужчин с установленным цитологическим диагнозом аденокарциномы лёгкого, в возрасте 43–77 лет ($60,33 \pm 17,13$). Молекулярно-генетический анализ проводили на образцах ДНК, выделенной из цитологического материала, содержащего более 200 опухолевых клеток. Мутации гена *EGFR* обнаружены в 7(11,7%) из 60 наблюдений, в числе которых выявлена точечная мутация L858R (3 наблюдения) и делеции 19 экзона (4 наблюдения) (рис. 1 и 2, см. 4-ю полосу вклейки).

Пациентки с серозной карциномой яичников по цитологической картине разделены на группы высокой ($n = 38$) и низкой ($n = 8$) степени злокачественности. Для генетического исследования пригодным был материал 43 (93,5%) пациенток, так как в 3 случаях концентрация полученной ДНК оказалась недостаточной. Женщины с цитологическими призна-

Использование цитологического материала для молекулярно-генетических исследований

Наименование	Аденогенный рак лёгкого	Серозный рак яичника
Цитологический материал, полученный:		
при бронхоскопии	72	–
из мокроты	1	–
из плевральной жидкости	5	2
из асцитической жидкости	–	30
при пункции через задний свод влагалища	–	8
при пункции лимфатических узлов	2	6
Всего...	80	46

ками высокой степени злокачественности серозной карциномы яичников были почти на 10 лет старше пациенток с раком низкой степени злокачественности, т. е. в возрасте $60,73 \pm 10,47$ и $51,29 \pm 21,35$ года соответственно.

В результате проведённых молекулярно-генетических исследований у 5 (62,5%) из 8 женщин в группе серозной карциномы яичника с низкой степенью злокачественности обнаружена генетическая поломка в гене *KRAS*, в 4 случаях из них выявлена мутация G12V и в одном случае – G12D. Мутация V600E в гене *BRAF* обнаружена в одном (12,5%) наблюдении, мутации генов *BRCA1/2* во всех наблюдениях этой группы пациенток отсутствовали.

В группе пациенток с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности обнаружены только мутации в гене *BRCA1* – 5 случаев из 35 (14,3%), которые были представлены в 3 наблюдениях мутацией 5382insC и по одному случаю – T300G и 4153delA (рис. 3 и 4, см. 4-ю полосу вклейки). В этих случаях судить о соматическом или наследственном происхождении мутаций не представляется возможным, и для заключения об их происхождении необходимо исследовать образцы периферической крови. Мутации генов *KRAS* и *BRAF* во всех наблюдениях этой группы пациенток отсутствовали.

В практической работе использование цитологического материала для молекулярно-генетического тестирования особенно актуально в тех случаях, когда доступен лишь цитологический материал. Получение цитологического образца менее инвазивно, проводится на догоспитальном этапе обследования больного и часто является терапевтической процедурой, например, при удалении жидкости из плевральной и брюшной полости.

Проведённое исследование показало, что цитологический материал в большинстве случаев является достаточным для выявления соматических мутаций у пациентов с аденогенным раком лёгкого (*EGFR*) и серозной карциномой яичника (*KRAS* и *BRAF*). При серозной карциноме яичников в опухолевом материале возможно присутствие как соматических, так и герминальных мутаций гена *BRCA*, а также их сочетания. При обнаружении мутации гена *BRCA* в цитологическом материале необходимо дальнейшее исследование ДНК, выделенной из лимфоцитов периферической крови этих пациенток, для получения информации о соматическом или наследственном происхождении мутаций.

С учётом перспективы дальнейшего проведения молекулярно-генетических исследований специалисты клинической лабораторной диагностики должны знать об ограничениях использования цитологического материала для поиска мутаций в клетках опухоли и рассматривать каждый конкретный случай с акцентом на достаточное количество материала для получения ДНК. При этом необходима дальнейшая стандартизация данного лабораторного теста с использованием цитологического материала в качестве источника ДНК. Чрезвычайно важно для назначения таргетных препаратов установление точного диагноза, при котором взаимодействие между хирургами, химиотерапевтами, гистологами, цитологами и врачами лаборатории молекулярной диагностики имеет решающее значение.

Выводы

1. Использование цитологического материала для поиска соматических мутаций оправданно для пациентов с местно-распространённым или диссеминированным процессом, у которых цитологический материал является единственно доступным морфологическим материалом для исследования.
2. Цитологический материал с наличием достаточного количества клеток опухоли (не менее 200) позволяет провести полноценные молекулярно-генетические исследования.
3. Мутации гена *EGFR* обнаружены в 11,7% наблюдений, в числе которых выявлена точечная мутация L858R (3 наблюдения) и делеции в экзоне 19 (4 наблюдения).
4. В клетках серозной карциномы яичников низкой степени злокачественности мутации гена *KRAS* обнаружены в 62,5% случаев, гена *BRAF* – в 12,5% наблюдений.
5. Мутации гена *BRCA1* отмечены у 14,3% пациенток с серозной карциномой яичников высокой степени злокачественности.
6. При обнаружении мутации гена *BRCA* в цитологическом материале серозной карциномы яичников высокой степени злокачественности необходимо дальнейшее исследование образцов периферической крови этих пациенток для получения информации о соматическом или наследственном происхождении мутаций.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные опухоли. *Международный ежеквартальный научно-практический журнал по онкологии*. 2015; (4, спец. выпуск): 1–456. DOI: 10.18027/2224-5057-2015-4s – 456
2. Paez J.G., Jänne P.A., Lee J.C., Tracy S., Greulich H., Gabriel S. et al. EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science*. 2004; 304(5676): 1497–500.
3. Pao W., Miller V., Zakowski M., Doherty J., Politi K., Sarkaria I. et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from «never smokers» and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004; 101(36): 13306–11.
4. Mok T.S., Wu Y.L., Thongprasert S., Yang C.H., Chu D.T., Saijo N. et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361(10): 947–57. DOI: 10.1056/NEJMoa0810699
5. Rosell R., Carcereny E., Gervais R., Vergnenegre A., Massuti B., Felip E. et al. Spanish Lung Cancer Group in collaboration with Groupe Français de Pneumo-Cancérologie and Associazione Italiana Oncologia Toracica. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012; 13(3): 239–46. DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70393-X
6. Имянитов Е.Н. Наследственный рак молочной железы. *Практическая онкология*. 2010; 11(4): 258–66.
7. Prat J. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Vir-*

- chows Arch. 2012; 460(3): 237–49. DOI: 10.1007/s00428-012-1203-5
8. Kaldawy A., Segev Y., Lavie O., Auslender R., Sopik V., Narod S.A. Low-grade serous ovarian cancer: A review. *Gynecol. Oncol.* 2016; 143(2): 433–8. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.08.320
 9. Combe P., Chauvenet L., Lefrere-Belda M.A., Blons H., Rouseau C., Oudard S., et al. Sustained response to vemurafenib in a low grade serous ovarian cancer with a BRAF V600E mutation. *Invest. New Drugs.* 2015; 33(6): 1267–70. DOI: 10.1007/s10637-015-0297-4
 10. Byrski T., Gronwald J., Huzarski T., Grzybowska E., Budryk M., Stawicka M. et al. Pathologic complete response rates in young women with BRCA1-positive breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(3): 375–9. DOI: 10.1200/JCO.2008.20.7019
 11. Любченко Л.Н., Батенева Е.И., Абрамов И.С., Емельянова М.А., Будик Ю.А., Тюляндина А.С. и др. Наследственный рак молочной железы и яичников. *Злокачественные опухоли.* 2013; (2): 53–61. DOI:10.18027/2224-5057-2013-2-53-61
 12. Демидова И.А. Наследственно обусловленный рак яичников. *Современная онкология.* 2015; 17(3): 70–5.
 13. Ledermann J., Harter P., Gourley C., Friedlander M., Vergote I., Rustin G. et al. Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N. Engl. J. Med.* 2012; 366(15): 1382–92. DOI: 10.1056/NEJMoa1105535
 14. Торопова Н.Е., Закамова Е.В., Тетерина Ю.Ю., Козлов С.В., Тимофеева Н.В., Морoshкина Г.П. и др. Молекулярно-генетические исследования в практике онкологической клиники. *Известия Самарского научного центра РАН.* 2015; (2–3): 690–6.
 15. Consensus for EGFR mutation testing in NSCLC: results of European Workshop. *J. Thorac. Oncol.* 2010; 5: 1706–13.
 - enocarcinoma. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361(10): 947–57. DOI: 10.1056/NEJMoa0810699
 5. Rosell R., Carcereny E., Gervais R., Vergnenegre A., Massuti B., Felip E. et al. Spanish Lung Cancer Group in collaboration with Groupe Francais de Pneumo-Cancérologie and Associazione Italiana Oncologia Toracica. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012; 13(3): 239–46. DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70393-X
 6. Imyanitov E.N. Hereditary Breast cancer. *Journal of Practical oncology.* 2010; 11(4): 258–66. (in Russian)
 7. Prat J. Ovarian carcinomas: five distinct diseases with different origins, genetic alterations, and clinicopathological features. *Virchows Arch.* 2012; 460(3): 237–49. DOI: 10.1007/s00428-012-1203-5
 8. Kaldawy A., Segev Y., Lavie O., Auslender R., Sopik V., Narod S.A. Low-grade serous ovarian cancer: A review. *Gynecol. Oncol.* 2016; 143(2): 433–8. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.08.320
 9. Combe P., Chauvenet L., Lefrere-Belda M.A., Blons H., Rouseau C., Oudard S., et al. Sustained response to vemurafenib in a low grade serous ovarian cancer with a BRAF V600E mutation. *Invest. New Drugs.* 2015; 33(6): 1267–70. DOI: 10.1007/s10637-015-0297-4
 10. Byrski T., Gronwald J., Huzarski T., Grzybowska E., Budryk M., Stawicka M. et al. Pathologic complete response rates in young women with BRCA1-positive breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(3): 375–9. DOI: 10.1200/JCO.2008.20.7019
 11. Lyubchenko L.N., Bateneva E.I., Abramov I.S., Emelyanova M.A., Budik Y.A., Tyulyandina A.S. et al. Hereditary breast and ovarian cancer. *Malignant tumours.* 2013; (2): 53–61. (in Russian) DOI: 10.18027/2224-5057-2013-2-53-61
 12. Demidova I.A. Inherited ovarian cancer. *Sovremennaya onkologiya.* 2015; 17(3): 70–5. (in Russian)
 13. Ledermann J., Harter P., Gourley C., Friedlander M., Vergote I., Rustin G. et al. Olaparib maintenance therapy in platinum-sensitive relapsed ovarian cancer. *N. Engl. J. Med.* 2012; 366(15): 1382–92. DOI: 10.1056/NEJMoa1105535
 14. Toropova N.E., Zakamova E.V., Teterina Yu.Yu., Kozlov S.V., Timofeeva N.V., Moroshkina G.P. et al. Molecular and genetic research in practice of oncology clinic. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra RAN.* 2015; (2–3): 690–6. (in Russian)
 15. Consensus for EGFR mutation testing in NSCLC: results of European Workshop. *J. Thorac. Oncol.* 2010; 5: 1706–13.

Поступила 25.05.17
Принята к печати 22.06.17

К ст. О.Г. Григорук и соавт.

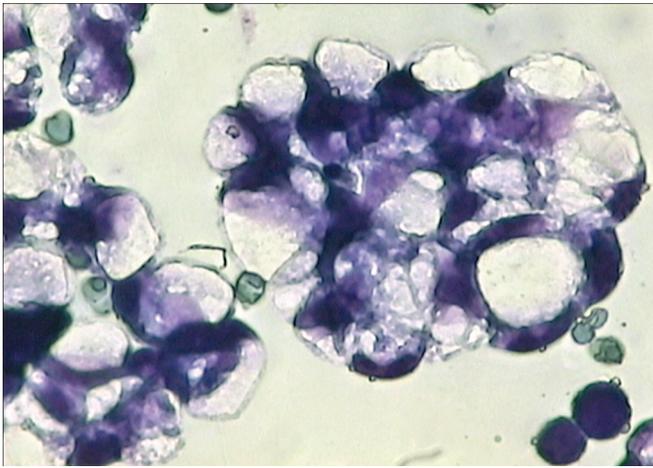


Рис. 1. Цитологический препарат плевральной жидкости: комплекс клеток аденогенного рака лёгкого пациентки 63 лет, у которой обнаружена мутация гена *EGFR* del.19 ex. (окрашивание по Паппенгейму; ув. 1000).

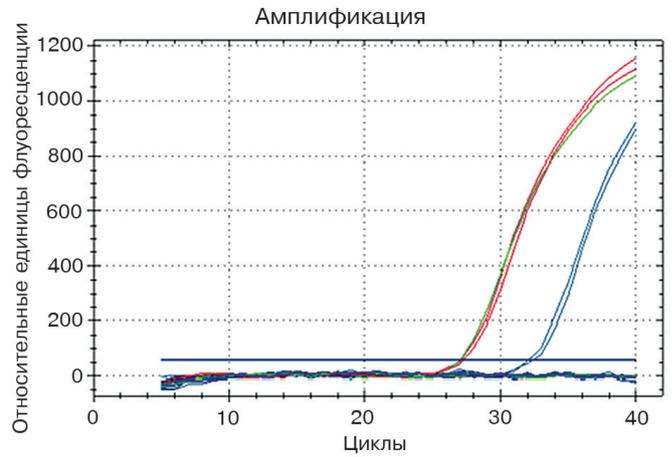


Рис. 2. Мутация гена *EGFR* del.19 ex., выявленная посредством аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени на приборе CFX-96. ДНК выделена с цитологического препарата плевральной жидкости пациентки 63 лет с аденогенным раком лёгкого.

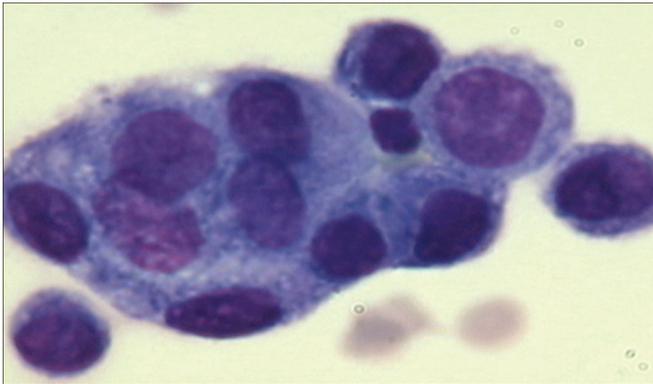


Рис. 3. Цитологический препарат асцитической жидкости: комплексы клеток серозной карциномы высокой степени злокачественности пациентки 44 лет, у которой при молекулярно-генетическом исследовании обнаружена мутация 5382insC гена *BRCA1* (окрашивание по Паппенгейму; ув. 1000).

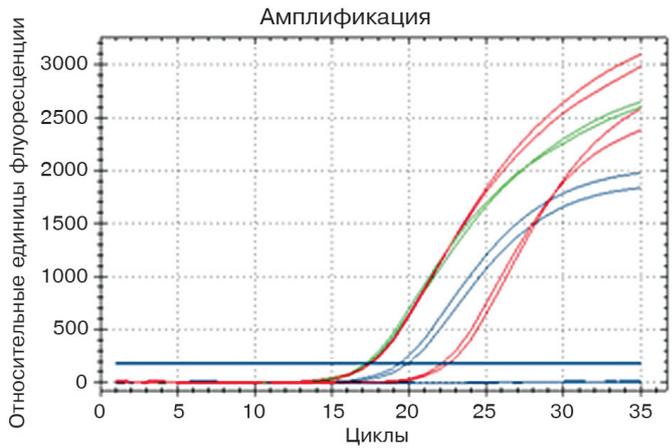


Рис. 4. Мутация 5382insC гена *BRCA1*, выявленная посредством аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени на приборе CFX-96. ДНК выделена с цитологического препарата пациентки 44 лет с серозной карциномой яичника высокой степени злокачественности.

К ст. Т.М. Черданцевой и соавт.

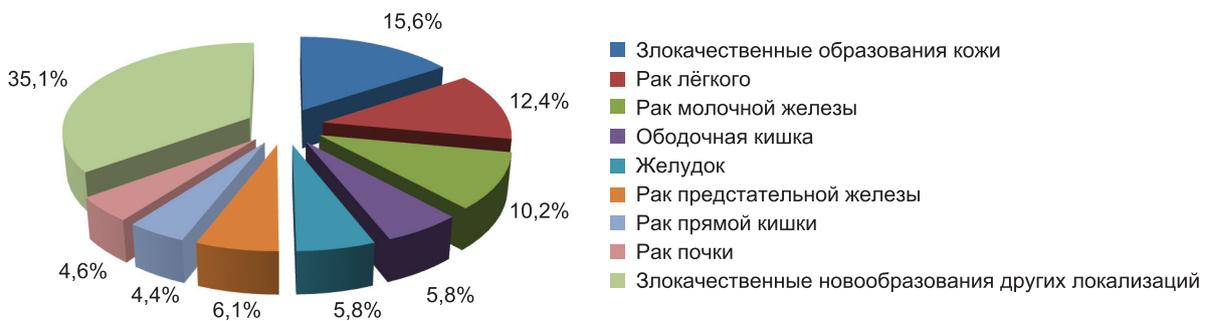


Рис.2. Структура заболеваемости злокачественными заболеваниями в Алтайском крае в 2016 г.