Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт – Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Кашинцев Алексей Ариевич

ЗНАЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО – ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Специальность:

14.01.12 – Онкология

14.01.17 – Хирургия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук профессор Имянитов Евгений Наумович,

доктор медицинских наук профессор Коханенко Николай Юрьевич

Санкт – Петербург - 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ТЕРМИНОВ……4

Введение……6

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ……12

1.1 Актуальность проблемы диагностики и лечения рака поджелудочной железы……..……...12

1.2 Молекулярно-биологические особенности рака поджелудочной железы…….…13

1.2.1 Роль повреждения генетического аппарата в развитии рака поджелудочной железы……16

1.3 Современные методы диагностики рака поджелудочной железы…...21

1.4 Хирургическое лечение рака поджелудочной железы…….…….28

1.5 Химиотерапия в лечении рака поджелудочной железы……...….31

1.6 Значение молекулярно - генетических методов в диагностике и лечении рака поджелудочной железы……...…….34

1.7 Роль супрессорных генов BRCA1, BRCA2 и PALB2 при раке поджелудочной железы……39

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ……...……43

2.1 Характеристика исследованных больных……43

2.2 Оценка чувствительности различных инструментальных методов…….45

2.3 Оценка результатов лечения больных раком поджелудочной железы...45

2.4 Молекулярно – генетические методы……...…….…...47

2.4.1 Выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови……...48

2.4.2 Метод выделения РНК из парафиновых блоков……...…….49

2.4.3 Реакция обратной транскрипции…….50

2.4.4 Выделение ДНК из парафиновых блоков……...…50

2.4.5 Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени……...52

2.5 Статистическая обработка полученных данных…….54

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛИНИКИ, ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ……...55

3.1 Анализ общей группы больных…….……55

3.2 Особенности клинического течения рака поджелудочной железы……..57

3.3 Диагностика заболевания……...60

3.4 Результаты хирургического лечения……62

3.5 Результаты химиотерапевтического лечения……...66

3.6 Значение карбогидратного антигена CA 19-9 в диагностике и прогнозе заболевания при лечении рака поджелудочной железы……...….67

Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЕННЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ……..……73

4.1 Анализ частоты мутации генов BRCA1, BRCA2 у больных раком поджелудочной железы…….…73

4.2 Клиническая характеристика носителей мутации генов BRCA. Опыт применения специфической химиотерапии ……...…76

4.3 Анализ частоты мутации гена PALB2……...81

4.4 Анализ экспрессии генов KRAS, PSCA, CDX2, CDH17, F5, LIPF, UGRP, UPK2, TG2…….……82

Глава 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ……...…85

ВЫВОДЫ……93

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ……95

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ…….96

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ……..…97

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ТЕРМИНОВ

BRCA1 – ген рака молочной железы 1 (breast cancer 1)

BRCA2 - ген рака молочной железы 2 (breast cancer 2)

PALB2 – партнер и локализатор гена BRCA2 (partner and localizer of BRCA2)

KRAS – онкоген саркомы мышей, вызванный вирусом Kirsten (Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog)

CA 19-9 – карбогидратный антиген 19-9 (carbohydrate antigen 19-9)

SPB – белок сурфактанта B (surfactant protein B)

PSCA – антиген стволовых клеток простаты (prostate stem cell antigen)

CDX2 – ген краниокаудальной дивергенции 2 (caudal related homebox gene2)

CDH17 – кадерин 17 (cadherin – 17)

F5 – ген кодирующий простациклин (coagulation factor 5)

LIPF – ген кодирующий желудочную липазы (lipase gene)

UGRP – утероглобин- связывающий протеин (uteroglobin – related protein)

UPK2 – уроплакин 2(uroplakin 2)

TG2 – тиреоглобулин 2

LPB – липофилин Б

FOLFIRINOX – 5 – фторурацил, иринотекан, лейковорин, оксалиплатина

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

дНТФ – дезоксинуклеотидтрифосфат

кДНК – комплементарная ДНК

мРНК – матричная ДНК

п.о. – пара оснований

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

РПЖ – рак поджелудочной железы

mut – мутантный аллель

wt – аллель дикого типа (не мутантный)

УЗИ – ультразвуковое исследование

ЭндоУЗИ – эндоскопическое УЗИ

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография

МРХПГ – магнитно – резонансная томография с холангиопанкреатографией

ХТ - химиотерапия

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Лечение рака поджелудочной железы представляет собой один из трудных и актуальных вопросов современной хирургии и онкологии. Причина плохих результатов кроется в поздней диагностике заболевания, а также не эффективности современных лечебных тактик (Чиссов В.И., 2013; Siegel M., 2013).

Для улучшения результатов авторы предлагают формировать группы риска среди пациентов с экзогенными факторами, в частности сахарным диабетом, и эндогенной (наследственной) или генетической предрасположенностью, например среди лиц с семейной формой рака молочной железы, яичников, ассоциированной с мутацией генов BRCA1, BRCA2, PALB2. Среди больных раком поджелудочной железы на момент установления диагноза, частота нарушения углеводного обмена достигает 80% и поэтому диабет может рассматриваться как первый ранний симптом заболевания (Wang F., et al., 2003; Chari S., et al., 2009).

Степень разработанности темы исследования

По данным литературы среди больных раком поджелудочной железы, частота носительства аллеля генов BRCA1 составляет от 0 до 4.7%, BRCA2 – 4,1 – 17,2%, а PALB2 – 2,1 – 4,3% (Lal G.I., et al., 2000; Hahn S.A., et al., 2003; Couch F.J., et al., 2007; Axilbund J.E., et al., 2009; Ferrone C.R., et al., 2009; Jones S., et al., 2009; Ghiorzo P., et al., 2012). Данные гены используются в качестве предикторов для химиотерапии при раках других локализаций, относительно опыта применения их при раке поджелудочной железы в мировой литературе сообщения основываются на маленьких выборках (Birsky T., et al., 2009; Moiseyenko V.M., et al., 2010; Lowery M.A., et al., 2011; Tran B., et al., 2012).

При наличии вышеперечисленных факторов риска у пациента, актуальной остается проблема инструментального обследования с целью ранней диагностики рака, так как авторы предлагают комбинирование различных методов. При этом только эндоскопическое ультразвуковое исследование с тонкоигольной аспирацией рекомендовано всеми (Ludwig E., et al., 2011; Schneider R., et al., 2011; Vasen H.F., et al., 2011; Canto M.I., et al., 2012). При применении последнего метода возникает проблема с цитологическим исследованием, так частота ложноотрицательных заключений достигает 60% (Correa-Gallego C., et al., 2010). Поэтому применение молекулярно – генетических маркеров может с одной стороны помочь при раннем выявлении заболевания, а с другой необходимо для подтверждения диагноза в случае карцином с неизвестной первичной локализацией, когда инструментальные методы не эффективны. В качестве таковых рассматриваются CA 19-9, чувствительность которого оценивают в 79 – 81%, однако колебания его значений при прогнозе результатов лечения широко варьируют (Safi F., et al., 1987; Katz M.H.G., et al., 2010; Ballehanina U.K., 2012). В качестве генетического маркера наиболее часто применяется KRAS, частота мутации которого колеблется от 80 до 95% (Hruban R.H., et al., 2000; Aguire A.J et al., 2003). Рядом авторов для диагностики предлагаются PSCA, F5, при этом чувствительность при аденокарциноме поджелудочной железы может достигать 79,5% и 83% соответственно (Talantov D., et al., 2006; Yang W.B., et al., 2009; Saeki N., et al., 2011; Baine M.J., et al., 2012).

Таким образом, необходимо изучение значения молекулярно – генетических методов в диагностике и лечении рака поджелудочной железы.

Цель исследования

Улучшить диагностику и результаты лечения рака поджелудочной железы путем применения молекулярно-генетических методов и соответствующих схем химиотерапии.

Задачи исследования

1. Оценить клиническую картину, частоту нарушения углеводного обмена и чувствительность инструментальных методов в диагностике раннего рака поджелудочной железы.

2. Определить чувствительность молекулярно- генетических методов при раке поджелудочной железы, уточнить их роль в установлении первичной локализации опухоли и стадии заболевания, доказать генетическую неоднородность опухолей поджелудочной железы.

3. Оценить влияние уровня онкомаркера CA 19-9 на возможность выполнения радикальной операции и на прогноз заболевания.

4. Выявить частоту мутаций генов BRCA1, BRCA2, PALB2 у больных РПЖ и оценить влияние семейного анамнеза на встречаемость мутантных аллелей этих генов.

5. Показать необходимость специфической химиотерапии у носителей мутации в BRCA генах.

Научная новизна исследования.

Впервые установлена частота носительства мутации BRCA1 5382insC в группе больных раком поджелудочной железы. Разработан алгоритм отбора пациентов с данным заболеванием для генетического тестирования.

Определена распространенность семейной формы рака поджелудочной железы.

Оценена частота мутации KRAS, экспрессия РНК генов в метастазах рака поджелудочной железы и сформирована диагностическая панель, состоящая из KRAS, PSCA, CDX2, CDH17, позволяющая с чувствительностью 61,3% подтвердить наличие рака поджелудочной железы среди карцином с неизвестной первичной локализацией.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Выполненные генетические исследования позволили оценить частоту встречаемости мутаций генов BRCA1, BRCA2, PALB2 среди больных раком поджелудочной железы. Разработан принцип выбора первой линии химиотерапии для носителей аллелей генов BRCA.

Предложен алгоритм для формирования группы риска развития рака поджелудочной среди больных сахарным диабетом, план обследования и наблюдения за этими пациентами.

Разработана методика оценки экспрессии генов с целью установления первичной локализации опухоли при помощи ПЦР в реальном времени.

Методология и методы исследования

Данная научная работа была выполнена в соответствии с отечественным и мировым опытом. В основу диссертации легли этические принципы и правила доказательной медицины. Методология включала в себя разработку дизайна исследования, определение принципов отбора и объема выборки пациентов, а также подбора математического аппарата для статистической обработки полученных данных. Для проведения исследования использовали клинико – морфологические, инструментальные, гистологические, молекулярно – генетические методы.

Положения, выносимые на защиту

1. Наблюдение за больными, включенными в группу риска с впервые выявленным сахарным диабетом, позволяет диагностировать новообразование поджелудочной железы на более ранних стадиях.

Наибольшей чувствительность при выявлении рака поджелудочной железы обладают эндоскопическое ультразвуковое исследование, магнитно-резонансная томография с холангиопанкреатографией и спиральная компьютерная томография с внутривенным контрастированием.

2. Прогноз заболевания и результаты хирургического лечения ухудшаются при увеличении уровня онкомаркера CA 19-9 выше 100 Ед/мл.

3. Оценка молекулярно- генетических маркеров (уровень CA 19-9, экспрессия KRAS, CDH 17, PSCA и CDX2) позволяет установить первичную локализацию опухоли, оценить стадию заболевания и дальнейший прогноз.

4. Носительство мутации генов BRCA1 5382insC и BRCA2 является редким среди больных раком поджелудочной железы. Для российской популяции не характерно наличие аллеля BRCA2 6174delT.

5. Наличие наследственной мутации обусловливает чувствительность опухоли к ДНК - повреждающим агентам.

Степень достоверности и апробация результатов

Для обеспечения достоверности полученных результатов было включено в исследование 257 наблюдений. Полученные данные обрабатывались с помощью программного пакета для статистического анализа SPSS 17.0, что позволило доказательно аргументировать полученные выводы.

Результаты работы были представлены на: 43 международном панкреатологическом симпозиуме и удостоены награды молодого исследователя (Майями, США, 2012); 2-ом международном научном и обучающем форуме «Хирургия и Онкология - 2012», где была получена почетная грамота; 49-ом ежегодном международном симпозиуме Американского общества клинических онкологов (ASCO, Чикаго, США, 2013); в ходе работы международной программы, обучающей клиническим исследованиям – ICTW, организованное Американским обществом клинических онкологов и Российским обществом химиотерапевтов (ASCO и RUSSCO, Санкт-Петербург, Россия, 2013); седьмом российском онкологическом форуме (Санкт- Петербург, Россия, 2013г) а также «Gastrointestinal cancer symposium» (Сан – Франциско, США, 2014).

По результатам исследования опубликовано 9 печатных работ, в том числе 3 в периодических изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Личный вклад автора

При выполнении исследования автор лично участвовал в его разработке и исполнении. Проанализирован мировой опыт в изучении поставленной задаче. Осуществлен набор клинического материала, многоплановый анализ, документация и систематизация полученных результатов.

В ходе работы получена приоритетная справка на изобретение метода диагностики панкреатической гипертензии: МПК А61В 8/13, А61К 49/10»,- № 2013127373 от 14.06.13.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 127 страницах машинописного текста, иллюстрирована 12 таблицами, 17 рисунками. Работа состоит из введения, обзора литературы, 2 глав собственных исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 297 источника, в том числе 33 отечественных и 264 иностранных авторов.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Актуальность проблемы диагностики и лечения рака поджелудочной железы

Заболеваемость раком поджелудочной железы (РПЖ) за последние 30 лет увеличилась на 30% и составляет в России 9,5 среди мужчин и 7,6 - женщин на 100000 населения (Демин Д.И. и др., 1997; Павловский А.В., 2004; Чисов В.И., 2013). По частоте заболеваемости среди онкологической патологии РПЖ занимает 6 место и составляет 3% (Мерабишвили В.М., 2006; Siegel R., et al., 2013), а среди причин смерти в развитых странах - четвертое (Ferlay J., 2010; Malvezzi M., et al., 2012). В 2002 году в России были выявлены 453256 новых случаев злокачественных новообразований, что на 10,7% больше, чем в 1993 г. На фоне снижения численности населения, это обстоятельство свидетельствует о росте онкологической заболеваемости (Чисов В.И., 2012г.). Чаще всего раком поджелудочной железы заболевают в возрасте старше 55 лет (Hiripi E., at al., 2009). За последние 26 лет показатели смертности населения Санкт - Петербурга от онкологических заболеваний возросли у мужчин на 1,6%, у женщин – на 0,7%. Это связано с продолжающимся процессом старения населения (Мерабишвили В.М., 2006). Рост числа больных со злокачественными опухолями поджелудочной железы (ПЖ) является одной из наиболее сложных проблем не только онкологии, но и хирургии (Шихман М.Е., 1993; Долгушин Б.И., 2004; Путов Н.В., 2005). Согласно Cancer statistic 2013, количество заболевших в 2012 году составляет 45220, умерших - 38460 (Siegel R., Jemal A., 2013). Средняя продолжительность жизни больных после установления диагноза, без специфической терапии, колеблется от 4 до 15 месяцев (Sohn T.A., 2000; Ghaneh P., 2007), а 5 летняя выживаемость после перенесенной панкреатодуоденальной резекции - часто менее 5%. Обычно опухоль локализуется в головке поджелудочной железы (70 - 75%), реже - в теле (11 - 14%) и в хвосте (7-10%), тотальное поражение отмечено

у 6% больных (Ханевич М.Д., Манихас Г.М., 2011; Greenhalf W., 2006;). Опухоли поджелудочной железы в 85-95% представляют собой аденокарциному и развиваются в основном из эпителиальных протоков экзокринной части органа (Коханенко Н.Ю. 2002; Патютко Ю.И., 2011). В среднем от размера опухоли T_1 до T_3, когда наиболее часто появляются симптомы заболевания, проходит 6,5 - 11 лет, это является одной из причин того, что, не смотря на развитие методов диагностики, на момент постановки диагноза уже имеется распространенный процесс (Chang Z., 2013).

1.2. Молекулярно-биологические особенности рака поджелудочной желез

Как и ряд других эпителиальных опухолей, протоковая аденокарцинома резистентна к химио - и лучевой терапии. Подобная ситуация складывается из-за особенностей биологии опухоли ПЖ. РПЖ всегда плохо васкуляризован и поэтому клетки, которые составляют не более 20% от массы опухоли, находятся в состоянии относительной гипоксии, окружены плотной стромой, формирующейся в результате десмопластической реакции, состоящей из экстрацеллюлярного матрикса и занимающей основной объем опухоли (Kalluri R., Zeisberg M., 2006). По этой причине крайне сложно доставить активный компонент химиопрепарата к месту его действия (Chu G.C., et al, 2007; Olive K.P., et al, 2009). В экспериментальной работе M.A. Jacobetz с соавт., (2012) показано, что при разрушении стромы с помощью веществ, в частности ингибитора hedgehog, увеличивается васкуляризация и биодоступность агента. Однако значимого клинического ответа авторами получено не было. По мере роста опухоли, по периферии образуется воспалительный инфильтрат, состоящий как из клеток иммунной системы, так и их антиподов, таких как тумор - ассоциированные фибробласты и макрофаги, плазмацитарные дендритные клетки (Witkiewicz A., 2008; Mackenzie R.P., McCollum A.D., 2009). После открытия в 1999 году «звездчатых клеток» (stellate cells), относящихся к миофибробластам, многие ученные, изучающие биологию рака поджелудочной железы, считают, что

основное значение в прогрессировании и метастазировании принадлежит строме опухоли (Erkan M., 2012; Apte M.V., 2013). Данные клетки отвечают не только за синтез коллагена, васкуляризации опухоли, но и активно перестраивают её структуру, синтезируя металлопротеиназы (Masamune A., 2013). В настоящее время в химиотерапии РПЖ применяются препараты, воздействующие непосредственно на опухолевые клетки и исследуются действующие на строму аденокарциномы. Компоненты матрикса имеют схожий перекрестный антигенный профиль с нормальными тканями, что делает иммунотерапию малоэффективной (Pardoll D., 2003; Dodson L.F., 2011). Более того, опухолевая ткань активно подавляет иммунный ответ, благодаря секреции гуморальных факторов: цитотоксичного Т – лимфоцитассоциированного протеина 4, В и Т – лимфоцитарного атенуатора (Fong L., 2008, Paulos C.M., 2010). В результате жизнедеятельности опухолевых клеток в крови повышается количество Т-регуляторов, которые подавляют иммунный ответ как в отношении собственных, так и чужеродных антигенов (Ikemoto T., 2006; Nomi T., 2007).

Следующей причиной неэффективности лечения рака поджелудочной железы является способность опухоли развивать резистентность к химиотерапевтическим агентам. Различают следующие механизмы развития устойчивости: снижение проникновения через клеточную стенку, увеличение экспорта из клетки, синтез «комплексов - ловушек» с последующей элиминацией препарата, моделирование точки воздействия, репарация генетического аппарата.

В работе W. Hagmann, R. Jesnowski (2010), посвященной устойчивости к гемцитабину указывается, что снижение чувствительности опухоли к этому препарату связано со снижением экспрессии специфических, высокоаффинных рецепторов группы ENT или CNT (equilibrative или concentrative nucleoside transporter), что приводит к снижению биодоступности препарата. Похожий механизм описывается в работе M.D. Hall с соавт., (2008): благодаря снижению уровня транспортера OCT_2 появляется устойчивость к цисплатину. Из-за увеличения концентрации АТФ- зависимых экспортирующих каналов группы MRP, или медь - зависимых ATP*7A* и *7B* возникает ситуация, приводящая к

быстрой элиминации агента (Komatsu M., et al., 2000). Эти свойства опухоли наблюдаются в частности при сверхэкспрессии гена MLR. Увеличение внутриклеточной концентрации глутатиона или глутатион- С- трансферазы приводит к активному связыванию (trapping) препарата и экскреции (Kelley S.L., et al., 1988; Hrubisko M., et al., 1993). Помимо воздействия на пути поступления препарата, был открыт оригинальный механизм смещения рамки считывания генома, вызывающий снижение эффективности терапевтических агентов, связывающихся с ДНК опухолевой клетки (Edwards S.L, et al., 2008; Sakai W., et al, 2008). В опухолевой клетке повышены процессы репарации по сравнению с нормальной (Vilpo J.A., et al., 1995). Восстановление связанной ДНК с препаратом происходит путем эксцизии участка, с последующей гомологичной рекомбинацией. Оба эти механизма катализируются мульти-белковым комплексом. В частности данный механизм обеспечивается генами группы BRCA, о которых будет сказано ниже (Borst P., et al., 2008). Несмотря на множественные механизмы развития резистентности к химиотерапевтическим веществам, не стоит забывать тот факт, что раковая опухоль обладает высокой генетической гетерогенностью, это означает - часть клеток в опухоли или метастазах при назначении химиотерапии будет к ней чувствительна, а другая нет. Все эти механизмы наследственно детерминированы, эволюционно закреплены и также свойственны клеткам нормального эпителия, выстилающего протоковую систему пищеварительных желез и кишечника.

Другими факторами, определяющими неблагоприятный прогноз при РПЖ, являются раннее метастазирование в забрюшинные лимфатические коллекторы, распространение опухолевых клеток по воротной системе в печень и поздняя обращаемость больных - наиболее частой стадией является III (Nagai H., et al., 1986; Siegel R., et al., 2013). На момент верификации опухоли более чем у 40% больных уже имеется локально распространенное заболевание, а у 45% - нерезектабельный рак с отдаленными метастазами (Greer J.B., et al., 2007; Philip P.A. 2008; Ferlay J., et al., 2010). Данная ситуация развивается в результате каскада реакций, запускаемых стромальными опухолевыми клетками: Cox-2, TGF-β1

(фактор роста опухоли), PDGF (тромбоцитарный ростовой фактор), интегрины и хемокины (ИЛ-1, ИЛ-6), металлопротеиназы (MMP), элементы механизма hedgehog,- в результате происходит ремоделирование ткани, окружающей опухоль и активный, агрессивный рост последней (Jaster R. et al 2004, Massague J.,et al 2006, Deryugina E.I., Quigley J.P., 2006). Синтезируемые эпителиальные факторы роста сосудов (VEGF-A), вызывая васкуляризацию РПЖ, способствуют активной диссеминации в региональные и отдаленные органы- мишени благодаря воздействию хемокинов (Hanahan D., 1996).

1.2.1. Роль повреждение генетического аппарата в развитии рака поджелудочной железы

A.Warthin в 1913 году ввел понятие «раковая семья». Семейная форма РПЖ составляет 3-10% среди впервые выявленных случаев, при этом риск развития заболевания увеличивается в 2 - 5 раз, при наличии одного прямого родственника с подтвержденным диагнозом рака поджелудочной железы (Hiripi E., et al., 2009, Hruban R.H., et al., 2010; Klein A.P., et al., 2013).

Для наследственной формы заболевания, характерно наличие мутации в герминальной клетке. Проявление же данного нарушения зависит от пенетрантности гена. Фенотип наследственной опухоли характеризуется ранней манифестацией, а также певично - множественной локализацией.

Выделяют следующие наследственные заболевания, предрасполагающие к развитию рака поджелудочной железы. Синдром Пейтц - Йегерса, характеризующийся гиперпигментацией губ, слизистой полости рта, формированием гамартомных полипов толстой кишки, обусловлен наличием аутосомно-доминантной мутации STK11/LKB1(Su G.H., et al.,1999).

Семейная форма панкреатита, обусловленная мутацией в гене PRSS1, характеризуется синтезом дефектного трипсиногена, при этом вероятность развития РПЖ увеличивается в 50-80 раз (Lowenfels A.B., et al.,1997).

Синдром семейных множественных, атипичных злокачественных меланом (FAMM), в 30-40% случаев обусловлен мутацией в p16/CDKN2A гене, при этом риск развития РПЖ у пациентов до 70 лет выше на 10-17% (Bartsch D.K., et al., 2002).

Середина 70-х годов ознаменовалась появлением молекулярной онкологии как самостоятельного направления. Проведенные исследования позволили в настоящее время понять ключевые моменты канцерогенеза. В 2008 году в своей работе S. Jones et al., выделил 12 основных сигнальных путей, наиболее часто задействованных в развитии рака поджелудочной железы. Более того, в 90-х гг. XX века достижения генетиков перестали носить исключительно фундаментальный характер и результаты исследований стали активно применяться на практике: диагностике, прогнозировании, подборе специфического лечения РПЖ (Имянитов Е.Н., 2007).

Значение повреждения генетического аппарата клетки в процессе канцерогенезе была представлена на схематической модели A. Maitra 2002 (Рисунок 1).

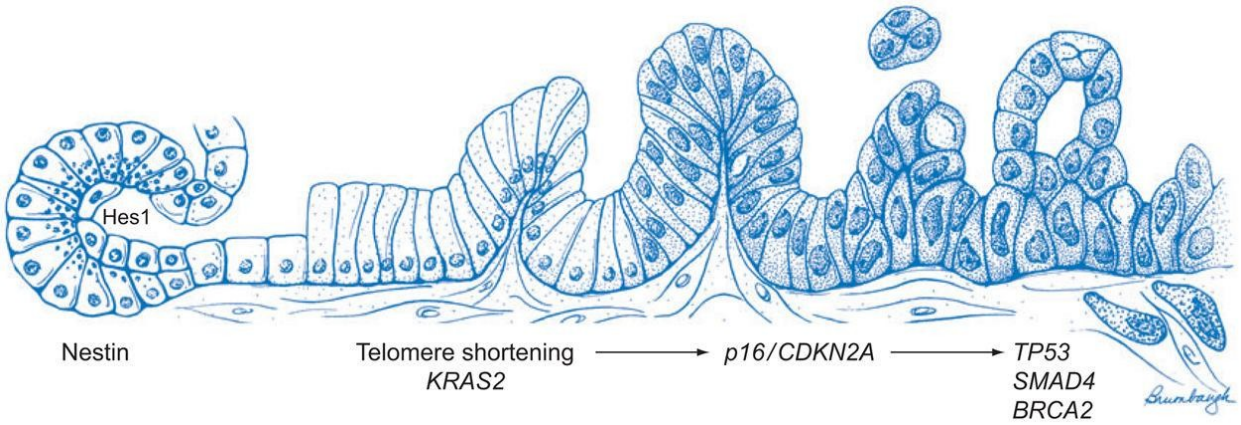


Рис. 1. Этапы трансформации эпителия поджелудочной железы в протоковую аденокарциному

Канцерогенез, является мультифакториальным и многоступенчатым механизмом, но ключевую роль играют соматические мутации, вызывающие активацию онкогенов, то есть вначале клетка накапливает различные

генетические перестройки (амплификации, точечные мутации, рекомбинации, вирусные интеграции). Это нарушает экспрессию и функции белков, участвующих в регуляции пролиферации, дифференцировки и гибели клеток. После этого на фоне инактивации антионкогена (супрессора), окончательно происходит трансформация в злокачественную клетку (Knudson A.G., 1971; Meszoely I.M., et al., 2001,). Считается, что генетический дефект, располагающийся ближе к старт - кодону, 5’-концу, проявляется чаще, чем располагающийся со стороны 3’-конца. В первом случае формируется стоп-кодон и нарушается транскрипция, как следствие понижается экспрессия м-РНК, либо синтезируется не функционирующий белок, во втором случае мутация рассматривается зачастую как полиморфизм гена.

Онкогены проявляют трансформирующую активность в процессе туморогенеза. Подобные генетические элементы в норме чаще всего участвуют в позитивном контроле клеточного деления, а также в угнетении апоптоза. Активация онкогена чаще всего проявляется в увеличении количества их продуктов. Многие гены, отвечающие за нормальное развитие и дифференцировку тканей в период эмбриогенеза, зачастую начинают функционировать в раковых клетках. В литературе хорошо изучены гены Pdx1, Pax6, в норме, отвечающие за начало дифференцировки мультипотентных бластных клеток в α - ацинарный аппарат (Sandgren E.P., et al., 1993; Feldman G., et al. 2008). При построении модели на мышах было отмечено, что при канцерогенезе отмечалась реактивация этих генов в эпителии. Также широко обсуждается значение активации Notch (путь межклеточного взаимодействия) при индукции туморогенеза в протоковом эпителии поджелудочной железы (Murtaugh L.C., et al., 2003; Chu G.C., Kimmelman A.C., et al 2007). В норме данный путь отвечает за дифференцировку тканей, путем межклеточного взаимодействия, посредством рецепторов Notch-2, Notch-3, активации генов Hes-1, Hey-4, что приводит к трансформации бластной клетки в униполярную.

Генетически процесс трансформации мономорфного зачатка в истинную поджелудочную железу, состоящую из различных отделов, происходит благодаря

механизму Hedgehog (Berman D.M. et al., 2003; Lau J., 2006). Этот путь обеспечивает не сегментарный рост и развитие органа, а краниокаудальную детерминированность. История открытия его принадлежит Christiane Nüsslein-Volhard и Eric F. Wieschaus, выделивших в 70-ые годы дефектный ген у дрозофил, приводящий к сегментарному развитию эмбрионов. SHH- лиганд, синтезируемый hedgehog- геном, связывается с трансмембранным PTCH-1 рецептором, образующий канал для экскреции липофильных молекул, в частности оксистерола, вызывая накапливание последнего в цитоплазме клетки. Оксистерол связывается с SMO протеином, одной из функций которого является фосфорилирование транскрипционного фактора Gli, тем самым ингибируя его активность. В данной ситуации свободные Gli1 и Gli2 накапливаются в ядре клетки, активизируют синтез SHH- лиганда, факторы роста и повышая митотическую активность клетки. Далее выделяемый SHH в межклеточное пространство активизирует прилежащие ткани, тем самым активизируется рост определенного сегмента зародыша (Ingham P., 2001; Corcoran R.B., 2006). Ряд авторов, занимающихся изучением уровня SHH, SMO наглядно показали увеличение этих белков на ранних стадиях тумрогенеза, поэтому разрабатываются режимы химиотерапии, направленные на ингибирование данного пути (Feldman G., et al., 2008; Hwang R.F., et al., 2012).

Активация онкогена приводит к активации различных процессов, чаще всего проявляется накоплением продуктов его деятельности. Ген K-Ras, является одним, из наиболее изученных при РПЖ, располагается в 12р хромосоме. Частота данной мутации встречается при раке поджелудочной железы в 60 - 95% (Hruban R.H., et al., 1993; Yamamoto H., et al., 2001). Активация онкогена происходит путем аминокислотной замены. Мутация происходит в 12 кодоне, при этом глицин замещается на валин или аспаргин. Белок синтезируемый данным геном представляет собой фиксированную к мембране ГТФ- азу. Он играет ключевую роль в передаче сигнала фактора роста, активируя ряд белков путем их фосфорилирования, тем самым запускает каскад реакций, приводящих к

пролиферации, адаптации, дифференцировки, а также активируя ангиогенез (Fleming J.B., et al., 2005).

По данным Aguirre A.J. с соавт., (2003) при наличии мутации в K-Ras у мышей быстро развивалась метаплазия протокового эпителия (PanIN-2), однако дальнейшая малигнизация была возможна только при наличии дефекта в антионкогене. Таким образом, наличие мутации генов семейства RAS считается ранним событием и может быть обнаружена на самых ранних стадиях опухолевого процесса и в любом биологическом материале (Mulcahy H.E., at al., 1998, Deramaudt T., et al., 2006; Feldman G., et al. 2008). При анализе группы здоровых людей, имеющих данную мутацию, в сроки от 5 до 14 месяцев в 20% случаев развился доказанный рак поджелудочной железы (Rowinsky E.K., et al 1999). В своем докладе J. Ling и соавт., (2012), показал, что частота мутации в генах Ras после 60-лет неуклонно растет, однако прямой зависимости данного события и увеличения заболеваемости РПЖ получено не было.

Туморогенез сопровождается повреждением в антионкогенах. При этом развитие опухоли ассоциировано с прекращением экспрессии супрессорного гена. В основе этого процесса лежит гиперметилирование промоторных участков. В ряде случаев уровень экспрессии белка остаётся прежним, но из-за нуклеотидных замен он становится неполноценным и не выполняет свою функцию. Классическим примером этого могут служить мутации в супрессорном TP53 (Olivier M., 2010). Данный ген локализуется в 17p хромосоме. Он синтезирует белок p53, играющий большую роль в регуляции цикла и апоптоза, также участвуя в механизмах стабилизации при цитотоксическом воздействии: непосредственные повреждения ДНК (классический стимул); повреждения аппарата сегрегации генетического материала (например, митотического веретена); уменьшение концентрации свободных рибонуклеотидов, гипоксия, тепловой шок, высокая концентрация NO (монооксида азота), ионизирующее излучение (Hermeking H., et al., 1997). Частота данного нарушения составляет 50 - 75% (Rozenblum E., et al., 1997). Согласно модели A. Maitra (2002), отражающей

процесс трансформации протокового эпителия в аденокарциному, повреждение P53 происходит на поздних стадиях метаплазии.

1.3. Современные методы диагностики рака поджелудочной железы

Выявление опухоли ПЖ на ранней стадии является одной из наиболее сложных проблем диагностики. Это влияет на своевременный выбор лечебной тактики, а, следовательно, на непосредственные и отдаленные результаты (Долгушин Б.И., соавт., 2004).

Ультразвуковое исследование (УЗИ) - один из наиболее информативных и доступных методов, позволяющих выявить новообразование поджелудочной железы (Martinez-Noguera A., 2008).

Основным признаком опухолевого поражения железы является локальное или диффузное увеличение и деформация органа с изменением его структуры. Контур поджелудочной железы при раке неровный. Приблизительно у 25% больных можно выявить инфильтрацию опухолью окружающих органов и тканей, сопровождающуюся нечеткостью границ новообразования. В ряде случаев между опухолевым узлом и окружающей тканью прослеживается гипоэхогенная зона, окаймляющая периферию объемного образования. Внутренняя структура злокачественной опухоли может быть различной – от выраженного гиперэхогенной до отчетливо гипоэхогенной. При дегенеративных изменениях характерно чередование зон различной акустической плотности (Минько Б.А. и соавт., 2001).

Актуальной является проблема отличия рака от псевдотумарозного панкреатита и метастатического поражения поджелудочной железы (Путов Н.В., и соавт., 2005; Evans J.D. et al., 1997). Указанные патологические изменения часто имеют общую ультразвуковую картину (Рысс Е.С., Фишзон-Рысс Ю.И., 1994). Более того, метастатические опухоли необходимо дифференцировать, прежде всего, клинически, поскольку при цитологическом исследовании они бывают,

неотличимы от опухолей поджелудочной железы. Раковые опухоли другой локализации могут метастазировать в ПЖ, например: рак молочной железы, яичников, легких, злокачественной меланомы и др.

Наряду с опухолями, хронический панкреатит является наиболее частой причиной увеличения размеров поджелудочной железы, и изменения контура, что представляет основную проблему дифференциальной диагностики РПЖ (Данилов М.В., Федоров В.Д., 2003; Senzatimore S., 1994; Andren- Sandberg A. et al., 1997).

Состояние региональных лимфатических узлов является важным прогностическим фактором у больных РПЖ (Kayahara M.et al., 1995). При метастатическом поражении лимфатического узла происходит увеличение содержания в нем жидкости вследствие нарушения оттока лимфы, что делает его более заметным при УЗИ. Однако более часто изменение размеров узлов связано с их фолликулярной гиперплазией. Чувствительность УЗИ в выявлении пораженных регионарных лимфатических узлов составляет 78,9% (Трофимова Е.Ю. и соавт., 1998). Авторы полагают, что УЗИ не решает проблему ранней диагностики лимфогенных метастазов. Однако пункционная биопсия под контролем УЗИ, позволяет получить достоверную информацию о распространенности опухолевого процесса. По данным УЗИ, удается диагностировать метастазы размером 0,8см и более. Для выявления одиночных метастазов печени малых размеров решающее значение также имеет игольная биопсия.

Введение ультразвукового датчика в брюшную полость при лапароскопии также позволяет получить дополнительные данные. При исследовании печени можно выявить располагающиеся интрапаренхиматозно мелкие метастазы до 0,5см, оценить связь опухоли с крупными сосудами, выполнить биопсию (Старков Ю.Г., 2000; Minnard E.A.et al., 1998).

Применение УЗИ с **прицельной чрескожной тонкоигольной биопсией,** является специфическим исследованием, дающее возможность установить характер объемного изменения тканей поджелудочной железы и является стандартной процедурой перед началом лечения РПЖ. Тонкоигольная трепан-

биопсия иглами Chiba диаметром от 20 до 25 G позволяет получить материал для гистологического исследования (Павловский А.В., и соавт., 2003; David B.R., et al., 1995). Данный метод является безопасным, даже при неоднократном повторении попыток получения материала (Долгушин Б. И., и соавт., 2004; Person L., Palmer C.H., 1989). Существенным недостатками метода являются возможность ложноположительных или ложноотрицательных результатов цитологического исследования вследствие механической травмы при получении клеточных элементов поджелудочной железы, а также имплантация опухоли по ходу биопсийного канала. Чувствительность тонкоигольной аспирационной биопсии в диагностике рака поджелудочной железы составляет 70-80 % (Харченко В.П. и соавт., 1992; Robins D.B.et al., 1995).

Частота осложнений при чрескожной биопсии опухоли поджелудочной железы не превышает 0,006-0,02% (Fornani F., et al., 1992; Di Stasi M.et al., 1998). Чаще всего отмечаются кровотечения, ранения панкреатического протока, нагноение в месте пункции, развитие имплантационных метастазов по ходу пункционного канала (Catureli E.et al, 1985; Denton K.et al., 1990; Smith E.H., 1991).

Метод **эндоскопической ультразвуковой диагностики** (ЭндоУЗИ) был разработан в конце 80-ых годов для раннего выявления опухолей билиопанкреатодуоденальной зоны (DiMagno E.P., Buxton J.L., 1980). Он представляет собой комбинирование методов эндоскопии и внутриполостного УЗИ. Датчики работают в частоте 5-30 MHz. За последние 30 лет развитие последних привело к тому, что увеличилась разрешающая способность метода, благодаря программному обеспечению стало возможным выполнить допплерографию и эластографию панкреатодуоденальной зоны, оценить связь опухоли с сосудами, а эффективность дифференциальной диагностики между хроническим панкреатитом и РПЖ составляет 94% (Ogawa M., et al., 2011, Iglesias-Garcia J., 2013). Данный метод позволяет верифицировать опухоли и наличие региональных метастазов размером от 2 мм, при этом чувствительность метода составляет 94 – 100 % (DeWitt J., et al., 2004; Yasuda I., et al., 2011). При

исследовании раковая опухоль поджелудочной железы выглядит как диффузная гипоэхогенная масса с ровными округлыми контурами, или неоднородная с узловыми включениями. Установить стадию по T и N данным методом можно с достоверностью в 69 – 94% и 54 – 80 % случаев соответственно (Ahmad N.A., et al., 2002).

Новый виток развития в изучении и диагностике РПЖ был получен с внедрением в 1992 году тонкоигольной аспирационной биопсии при ЭндоУЗИ. Данный метод дает возможность получить цитологический материал, что позволяет дифференцировать кистозные образования от РПЖ (Jani N., et al., 2011). Так как процедура выполняется из просвета двенадцатиперстной кишки, это нивелирует шанс метастазирования по пункционному каналу (Voss M. et al., 2000; Binmoeller K.F., 2013). Чувствительность данного метода составляет 88 – 92% (Agarwal B., Abu-Hamda E., et al., 2004, Chari S.T., 2007). Однако существует несколько слабых мест: во-первых, в аспират зачастую не попадают опухолевые клетки, что ведет к ложноотрицательному результату, а во-вторых, решающее значение имеет опыт цитологов для подтверждения или опровержения диагноза. Поэтому многие авторы отдают предпочтение trucut (TCB) биопсии- трепан биопсии с помощью side-port системы (Kaffes A., Corte C., 2012). Для этого необходима специальная игла с ножом, при введении которой получают гистологический материал (Levy M.J., et al., 2003).

Метод **спиральной компьютерой томографии** (СКТ) открыл принципиально новый этап развития этап в развитии современных рентгендиагностических систем. Чувствительность СКТ при раке поджелудочной железы варьирует между 89 и 97% (Zeiss J.et al., 1990; Valls C et al., 2002). КТ – исследование не является таким оператор – зависимым исследованием, как УЗИ. Оценку результатов можно производить после получения данных на мониторе или по копиям на пленке. По мнению П.В. Власова (1998), основными признаками рака поджелудочной железы при КТ являются локальное увеличение, деформация органа, разрушение капсулы и изменение денситометрических показателей.

К недостаткам КТ можно отнести «жесткую привязку» полученных изображений к поперечной плоскости и наличие возможных пропусков срезов (во время дыхания). Последняя проблемы решается при объемном (спиральном) сканировании. Пространственное разрешение КТ можно увеличить, используя специальную тонкосрезовую технику. В настоящее время при проведении исследования необходимо обязательное внутривенное контрастирование (Kaneko K.et al., 1983; Louer E.M.et al., 1996; Wong J.C., et al., 2008). По данным L.Van Hoe и соавт. (1995) чувствительность этого метода значительно возрастает в диагностике васкуляризованных опухолей поджелудочной железы. При двухфазовой спиральной КТ появляется возможность сканировать поджелудочную железу, как в артериальной, так и в паренхиматозной фазе, что позволяет выявлять опухоль размерами 1,5см и более с чувствительностью более 95% (Legmann P., et al., 1998). КТ дает возможность выявить увеличение лимфатических узлов, инвазию в соседние органы, метастазы в печень. При этом чувствительность в выявлении сосудистой инвазии остается на уровне 50- 84% (Lu D.S.K., et al., 1999). В случае нерезектабельного РПЖ, при полном прорастании верхней брыжеечной вены, появляется симптом слезы (Hough T.J., et al., 1999). Увеличенные в результате метастатического поражения лимфатические узлы видны как патологические узловые структуры более 1см в диаметре в области аорты, нижней полой вены, в парапанкреатической области. Под контролем СКТ возможно выполнение тонкоигольной биопсии (Sklair-Levi M.et al., 1997). Появление 64-срезовых КТ датчиков, а также трехмерного моделирования исследуемой зоны позволяет значительно улучшить результаты исследования (Olivie D., et al., 2007; Callery M.P., et al., 2009).

Магнитно-резонасная томография (МРТ). В 2012 году данный метод включили в стандарт диагностики опухолей поджелудочной железы, как альтернативу СКТ (NCCN guidelines version 2.2012, pancreatic adenocarcinoma). Удовлетворительные результаты визуализации поджелудочной железы возможны при исследовании на магнитно – резонансных томографах со средней и высокой

напряженностью поля (от 0,5 до 2Т) и в настоящее время считается «золотым стандартом» диагностики РПЖ (Schima W., et al., 2007).

По мнению R.C. Semelka и соавт.(1991), использование программ с определением протонной плотности ткани поджелудочной железы, окружающих структур и получение изображений в технике быстрого измерения не дают особых преимуществ в диагностике заболеваний поджелудочной железы.

Весьма перспективным считается использование специальных программ для выполнения бесконтрастной магнитно – резонансной холангиопанкреатографии. На T_1-взвешенных изображениях аденокарцинома видна как зона низкой интенсивности сигнала. Если имеется жировая инфильтрация поджелудочной железы, опухоль будет хорошо видна на этом фоне. Как раз для подавления сигнала от окружающих тканей и жидкости используют T_2- взвешанные изображения, протоковая аденокарцинома может быть видна как зона высокой интенсивности сигнала при наличии зон некроза опухоли (Vachiranubhap B., et al., 2009).

T.Gabata и соавт.,(1994) указывают на увеличение чувствительности при использования парамагнитных контрастных веществ, в частности гадолиния, в диагностике аденокарцином, после внутривенного введения гадолиния зона опухоли становится более заметной, а также более контрастной по отношению к окружающим структурам .

Применение магнитно-резонансной ангиографии брюшной полости обеспечивает бесконтрастную визуализацию регионарных сосудов. Иногда фиброз и параканкрозные воспалительные изменения могут имитировать опухолевую инвазию, поэтому, несмотря на КТ и МРТ - данные, необходимо дальнейшее гистологическое исследование для оценки критериев опухолевой инвазии (Nichiharu T.et al., 1999).

Определенный интерес вызывает секретин-стимулированная МРХПГ, при этом исследование проводится на фоне относительной панкреатической гипертензии, таким образом, четко визуализируется уровень препятствия, а также

соотношение и функциональные особенности главного и добавочного протоков железы (Ariyama J. 1999; Akisik M.F., et al., 2006).

В настоящее время разрабатывается новый контрастный агент NODA- Ga, это нано молекулярная система, которая при поглощении опухолевой клеткой начинает «светиться», что позволяет совмещать ПЭТ и МРТ (Locatelli E., et al., 2012).

Позитронная эмиссионная томография (ПЭТ) принцип действия, которой был открыт Гордоном Броунеллом и основан на улавливании опухолью высокоэнергетических фотонов. Таким образом ПЭТ, в отличии от предыдущих исследований, является, специфическим методом, отображающим физиологические, биологические и биохимические процессы в опухоли (Hicks R.J., Hofman M.S., 2012). Чувствительность этого метода составляет 85%, а специфичность 84% (Zimny M., et al., 1997)

Данное исследование дает наглядную картину распространенности процесса, однако при этом отсутствует анатомичность, поэтому в современном виде ПЭТ всегда комбинируют с КТ. Способность моделирования трехмерного изображения позволяет провести оценку биохимических процессов и процессов обмена веществ, как для всего тела, так и отдельных органов (Parlak C., et al., 2012). ПЭТ-КТ позволило увеличить чувствительность метода до 89,1% (Lemke A.J., et al., 2004).

Однако использование этого метода для исследования поджелудочной железы еще мало изучено. Многие утверждают, что большим минусом данной методики является дороговизна, однако за последнее десятилетие цена исследования снизилась на 50% (Pichler B.J., et al., 2008). На основании изменения ПЭТ изображений в динамике оценивают эффективность химиотерапии (Murakami K., et al., 2011).

Таким образом, несомненный прогресс топических методов диагностики позволяет не инвазивными способами установить наличие объемного образования поджелудочной железы, а также состояние желчных и панкреатических протоков. Однако все эти изменения указывают на опухоль лишь косвенным образом.

Дифференциальную диагностику усложняет высокая частота встречаемости острого и хронического панкреатита, в результате которых также наблюдается похожие изменения в поджелудочной железе и протоках. К сожалению, диагноз рака поджелудочной железы на современном этапе может быть установлен с высокой степенью вероятности только при размере опухоли более 1,5см, когда зачастую имеются отдаленные метастазы. При местно распространенном раке неизбежно возникают сложности дифференциальной диагностики, которые может разрешить только гистологическое исследование.

1.4. Хирургическое лечения рака поджелудочной железы

В настоящее время радикальным методом лечения РПЖ является хирургический. Более чем у половины пациентов на момент диагностики уже имеется местнораспространенный РПЖ. Таким образом, основной задачей лечения у большинства больных является облегчение симптомов заболевания и продление жизни (Гарин А.М., Базин И.С., 1999; Борисов В.И 2002; Fortner J.G.,1996).

Три четверти больных РПЖ нуждаются в хирургическом лечении, но только у 10-20% из них образования оказываются резектабельными (Патютко Ю.И., Котельников А.Г., 2011; Diener M.K., et al., 2011; Verbeke C.S., et al., 2013).

Основными признаками невозможности удалить опухоль является наличие отдаленных метастазов в парааортальные лимфоузлы, печень, охват тканью опухоли более чем на 180º верхней брыжеечной артерии, не восстанавливаемая протезированием окклюзия воротной и/или верхней брыжеечной вен, вовлечение чревного ствола или аорты, поражение лимфоузлов вне зоны операции (Callery M.P., et al.,2009; protocol PANC-B, 2012). Вместе с тем, в литературе описывается опыт применения хирургического лечения у больных РПЖ на всех этапах развития образования, включая IV стадию (Дронов А.И. и соавт., 2011).

В настоящее время наиболее часто применяемым методом хирургического лечения злокачественной опухоли головки ПЖ продолжает оставаться стандартная гастропанкреатодуоденальная резекция (ГПДР), или операция Уиппла, модифицированная рядом хирургов (Whipple A.O., et al., 1935, Cattell R.B., 1948, Child C.G.M., 1994, Haniu F., Imaizumi T., 1996). При локализации опухоли в теле или хвосте - дистальная панкреатэктомия. До сих пор остается дискутабельным вопрос о показаниях к классической или пилорусохраняющей резекции. Часть хирургов считают что, для увеличения радикальности, а также профилактики синдрома отключенного желудка классическая ГПДР является вариантом выбора (Malleo G., et al., 2010; Hackert T., et al.,2013). Однако ряд работ указывают на то, что в случае пилоруссохраняющей панкреатодуоденальной резекции (ПДР), уменьшается частота послеоперационных осложнений, а также улучшается нутритивный статус больных после операции (Diener M.K., et al., 2007; Muniz C.K., et al., 2012). В 1992 году M. Gagner и A. Pomp впервые выполнили лапароскопическую панкреатодуоденальную резекцию. Данная методика развивается параллельно с эндовидеохирургическими технологиями (Kendrick M.L., et al., 2010, Aly M.Y., et al., 2010) К сожалению, отдаленные результаты ГПДР являются неудовлетворительными. Более чем у половины больных в течение года после оперативного лечения возникает местный рецидив опухоли и/или метастатическое поражение печени (Child C.G.M., 1994). В зависимости от стадии заболевания средняя продолжительность жизни больных после ГПДР колеблется от 4 до 22мес (Pedrazzoli S., et al., 1999, Sierzega M., et al., 2006). При наличии гистологически подтвержденных метастазов в регионарные лимфатические узлы, больные имеют наименьшие сроки выживания. Пятилетняя выживаемость отмечается только у больных со стадией заболевания, T1. Подобные данные публикуют G.H. Lewis с соавт., (2013). По данным клиники онкологии СПб ГМУ им И.П. Павлова, медиана выживаемости при 0 стадии рака головки поджелудочной железы составила 60 мес, при I - 41,2 мес, при II - 23,4 мес, при III - 12,8мес, при IV - 4 - 6 мес (Коханенко Н.Ю., и соавт., 2002). На продолжительность жизни больных после ГПДР влияет несколько факторов, в

том числе размер первичной опухоли. У пациентов, имеющих диаметр опухоли меньше 2,5см, отмечается наибольшая продолжительность (Allema J.H., 1995, Fortner J.G., 1996). По данным Н.Ю. Коханенко и соавт. (2002), при опухоли 0,5-2,5см медиана выживаемости составила 39 мес, а от 2,6 до 4см - 15,5 мес, более 4см - 5,5 мес. J. Ariama (1997) отмечает, что при опухоли менее 1,0 см пациенты живут более 5 лет. Однако другие хирурги не разделяют мнения, что размер опухоли является ведущим фактором, определяющим успех хирургического лечения (Ischikawa O., 1996, Egawa S., et al., 2012).

В то же время большинство исследователей сходятся во мнении, что основным фактором, определяющим длительность жизни больных после ГПДР, является наличие метастазов в лимфатические узлы (Hartel M., et al., 2002; Riediger H., et al., 2009). Авторы показывают, что ни один пациент с РПЖ, имеющий пораженные лимфатические узлы, не доживает до 5 лет. Несомненно, также влияние гистологической структуры опухоли на отдаленные результаты лечения больных. Продолжительность жизни у пациентов с высокодифференцированным РПЖ при диагностике на ранней стадии и своевременном хирургическом лечении, по мнению Н.Ю. Коханенко и соавт (2002), в 3 раза превышала таковую у больных с низкодифференцированной формой рака. Однако другие исследователи не отмечают столь значительной зависимости продолжительности жизни больных от степени дифференцировки опухоли (Котельников А.Г., 2002 Bottger T.C., 1994).

В 70-80х годах ученые пришли к выводу, что результаты гастропанкреатодуоденальной резекции остаются плохими. В качестве метода радикального хирургического лечения была предложена расширенная ГПДР. Расширенная ГПДР, помимо гастропанкреатодуоденльного комплекса с регионарными лимфоузлами, удаляемыми при стандартной ГПДР, предполагает резекцию ПЖ на границе тела и хвоста органа, удаление единым блоком прилегающих к панкреатодуоденальному комплексу жировой ткани, нервных сплетений, лимфатических сосудов и узлов в следующих границах: верхняя - уровень аортального отверстия диафрагмы, нижняя - уровень устья нижней

брыжеечной артерии, правая - ворота правой почки, левая - левая почечная ножка (Патютко Ю.И., Котельников А.Г. 2011; Kayahara M., 1993; Ischikawa O., et al., 1996). В этих пределах осуществляется удаление клетчатки вокруг всех крупных артерий и вен. Удаление лимфатических коллекторов является стандартом при хирургическом лечении опухолей многих локализаций. Однако при РПЖ лимфодиссекция не может быть "совершенной", в силу отсутствия четких фасциальных границ в забрюшинном пространстве и наличия большого числа жизненно важных сосудов, поэтому отдаленные результаты стандартной и расширенной панкреатодуоденальной резекции практически не отличаются друг от друга (Fortner J.G., et al.,1996; Pedrazolli S.,et al., 1999). Стоит отметить, что расширенная ГПДР, характеризуется большой травматичностью и увеличением осложнений в послеоперационном периоде, таких как плазмаррагия, кровотечения, инфекционные осложнения (Glanemann M., et al., 2008; Tan W.J., et al 2010).

Другим прогностическим фактором ПДР является оценка краев резекции поджелудочной железы и наличие в них опухолевой ткани при гистологическом исследовании уменьшает медиану выживаемости в 2 раза (Sohn T.A., et al., 2000, Bilimoria K.Y., et al., 2008).

Для улучшения результатов хирургического лечения рядом авторов предлагается интраоперционное криовоздействие на ткань опухоли, при этом отмечается увеличение 3-ех летней выживаемости с 16,7% до 35,9% (Ханевич М.Д., Манихас Г.М., 2011).

1.5. Химиотерапия в лечении рака поджелудочной железы

В 1985 году Gastrointestinal Tumor Study Group впервые сообщили, что при назначении химиотерапии в послеоперационном периоде вдвое увеличивается медиана выживаемости больных РПЖ (Moertel C.G., et al., 1981, Kalser M.H., et al., 1985). На данный момент химиотерапия при раке поджелудочной железы, является обязательным компонентом лечения злокачественных опухолей

поджелудочной железы (Saufferlein T., et al., 2012). Учитывая, что в 80- 85% случаев выявляется нерезектабельная опухоль, единственным методом лечения являются симптоматическое и химиотерапевтическое.

В качестве адъювантной терапии после ПДР, рекомендуется назначение в течение 6 месяцев 5 –фторурацила (5-ФУ) с фолиевой кислотой или гемцитабина (Гем). Согласно многоцентровому исследованию ESPAC-3, у пациентов после хирургического лечение R_0/R_1 не было получено достоверной разницы в выживаемости между двумя схемами химиотерапии. При этом 5-летняя выживаемость в обеих группах увеличилась с 9 до 20%, а медиана составила 23 месяца при использовани 5-ФУ и 23,6 - Гем (Neoptolemos J.P., et al., 2010; Oettle H., et al., 2013).

В основном химиотерапевтическое лечение применяется в качестве паллиативной терапии.

5-ФУ относится к группе фторпиримидинов, данный препарат обладает умеренной токсичностью и применяется в качестве монотерапии, однако чаще и эффективнее - в сочетании с другими препаратами (цисплатин, митомицин). Эффективность его варьирует от 9 до 20% (Cullinan S.A., et al., 1985, Regine W.F., et al., 2008).

Гемцитабин является нуклеозидным аналогом, при встраивании его метаболитов в ДНК опухолевой клетки, вызывает ингибирование дальнейшего синтеза ДНК. В настоящее время данный антиметаболит является основным препаратом в первой линии терапии рака поджелудочной железы и все новые схемы лечения всегда оцениваются в сравнении с ним. В 1997 году Moore M.J et al., впервые показали эффективность данного препарата по сравнению с 5-ФУ. При применении в IV стадии заболевания медиана выживаемости составляет 6,2 месяца, а годичная выживаемость 20% (Sultana A., et al., 2007). Комбинирование его с другими препаратами, например платины (цисплатин, оксалиплатин), доцетакселом и капецитабином, иринотеканом, экзатеканом, перметрексатом не дали значительного увеличения продолжительности жизни (Fine R.L., et al., 2008; Heinemann V., et al., 2008; Cunningham D.,et al 2009).

В 2012 году в качестве выбора предложена схема FOLFIRNOX, включающая 5-ФУ, лейковорин (фолиевая кислота), оксалиплатин и иринотекан. При этом в III стадии рандомизированного исследования было показано, что уровень ответа составил 31,6%, медиана продолжительности жизни составила 11,1 месяц, годичная выживаемость достигла 48,4%. Главным минусом этой схемы, как показало многоцентровое европейское исследование PRODIGE, является высокая токсичность, поэтому в данную группу могут попасть относительно «крепкие» пациенты (Conroy T., et al., 2011).

Патогенез рака поджелудочной железы связан с множеством аутокринных и паракринных механизмов, реализующихся через каскады мембранных рецепторных систем, таких как HER2/neu, EGRF, VEGF, VEGFR и другие (Overholser J.P., et al., 2000). Однако, несмотря на использование различных таргетных химиотерапевтических агентов, значимого эффекта не получено (Philip P.A., et al., 2010). Единственным апробированным препаратом в лечении аденокарцином, является эрлотиниб (Tarceva®) (Vickers M.M., et al., 2012). Его эффект основан на ингибировании EGFR тирозин-киназы. В результате рандомизированного исследования, где оценивали эффективность схемы эрлотиниб + гемцитабин, относительно гемцитабина, было получено достоверное увеличение медианы выживаемости (6,24 против 5,91 месяца у гемцитабина), годовой выживаемости (23% против 17%). Однако, столь незначительное улучшение и высокая стоимость терапии, ставят под сомнение целесообразность данного режима химиотерапии (Saufferlein T., et al., 2012).

Относительно новым направлением в лечении рака поджелудочной железы, является био или иммунотерапия. В настоящее время существуют следующие типы вакцин: цельноклеточные, пептидные, ДНК-вакцины, вирусные вакцины, моноклональные антитела. Однако оценка их эффективности пока исследуется (Dodson L.F., et al., 2011).

1.6. Значение молекулярно – генетических методов в диагностике и лечении рака поджелудочной железы

В 1979 году H. Koprowski с соавторами выделили, используя гибридому, моноклональные антитела к карбогидратному антигену CA 19-9. Изначально, данный гликопротеид был выделен из ткани колоректальной аденкарциномы. Позже было установлено, что и при других гастроинтестинальных раках характерно увеличение его концентрации. CA 19-9 является результатом аберрантного пути синтеза Lewis-a (Le) антигена, в норме присутствующего на поверхности клеток. Он участвует в межклеточной адгезии, инвазии и метастазировании (Safi F.,et al., 1987; Vestergaard E.M., et al., 1999; Liao Q., et al., 2007). Его диагностическая значимость актуальна только у пациентов с группой крови Le (α-β+), Le(α+β-). У больных с Le(α-β-) фенотипом, а его частота 5-10%, имеется недостаточность фермента 1,4-фукозил трансферазы, необходимого для синтеза эпитопа CA 19-9. Поэтому невозможно провести иммуноферментный анализ и в данной группе значение этого антигена будет отрицательным (Ritts R.E., et al., 1998, Goonetilleke K.S., et al., 2007).

Несмотря на поиски более эффективных агентов, на данный момент, CA 19-9 остается единственным относительно информативным маркером, используемым в дифференциальной диагностике и прогнозировании течения рака поджелудочной железы. Его чувствительность составляет 70 - 90%, специфичность – 68 - 91%. Несмотря на то, что ряд авторов связывали определенные надежды с использованием CA 19-9 для скрининга РПЖ, последующие исследования показали низкую его эффективность (Safi F., et al., 1987; Satake K., et al. 1994; Duraker N., et al 2007).

Считается, что при гипербилирубинемии увеличивается частота ложноположительного увеличения уровня антигена (Ballehanina U.K., et al. 2012; Seuferlein T., et al., 2012). Однако некоторые исследователи считают, что прямой зависимости нет (Fritz S., et al. 2011). Вместе с тем, все авторы согласны, что при

повышении уровня CA 19-9, возможность выполнения радикальной операции и эффективность химиоадъювантной терапии снижается, а прогноз течения заболевания ухудшается, но показатели антигена и результаты исследований категорически разнятся (Halm U., et al., 2006; Bernhard J., et al., 2010; Chiang K., et al., 2012).

Для улучшения диагностики с помощью онкомаркеров рекомендуется одновременно оценивать несколько различных маркеров. В исследовании R.E. Brand с соавторами 2011 год, было проанализировано 83 потенциальных биомаркера, в результате было показано, что панель, состоящая из CA19-9, ICAM-1 (молекула межклеточной адгезии 1), OPG (остеопротегерин), обладает наибольшей чувствительностью и специфичностью.

MGB (маммаглобин) – белок, относящийся к группе секретоглобинов, представляет собой гликопротеин. M.A. Watson и соавторы (1996), впервые выделили из протокового эпителия молочной железы, а его гиперпродукция отмечена при раке молочной железы. При дальнейшем исследовании экспрессию маммаглобина выявили при злокачественных образованиях легких, яичников, желчевыводящих протоков (Ouellete R.J., et al., 2004; Sjödin A., et al., 2008; Tassi R., et al., 2009).

Ген, кодирующий данный белок состоит из 502 нуклеотидов, имеет 3 экзона и 2 интрона, располагается в 11 хромосоме (11q12.3-13.1). Масса его составляет порядка 20кДа. В клетке находится зачастую в виде дидимера, данный комплекс фиксируется в мембране и способен переносить стероидные и бифинильные молекулы в клетку, поэтому в настоящее время маммаглобин рассматривают как потенциальный маркер для таргетной терапии (Carter D., et al., 2002; Zuo L., et al., 2009).

Для раннего выявления рака наиболее эффективно определение мРНК маммаглобина. Однако её выделение имеет ряд сложностей, из-за нестабильности м - РНК. Чувствительность и специфичность данного метода составляет 95-100% (Grünewald K., et al., 2000)

Учитывая, что РПЖ уже на ранних стадиях способен давать отдаленные метастазы, то для уточнения первичной локализации опухоли, возможно, определить репликативную активность РНК следующих генов SPB, PSCA, CDX2, CDH17, F5, LIPF, UGRP, UPK2, TG-2.

SPB белок сурфактанта B (surfactant protein B), кодируется SFTPB геном и участвует в образовании поверхностно – активного липопротеидного комплекса – сурфактанта и отвечает за его стабилизацию (Lin Z., et al., 2001). Является гидрофобным белком, состоящим из 79 аминокислот. Данный маркер используется при иммуногистохимическом исследовании с целью подтверждения диагноза аденокарциномы легких. Частота положительного ответа наблюдается на уровне 53 – 60% (Khoor A., et al. 1997; Talantov D., et al.2006).

PSCA (prostate stem cell antigen) является небольшим гликопротеином, функция которого до конца не ясна, однако он участвует в клеточной дифференциации. Данный белок синтезируется на поверхности эпителиальных клеток предстательной железы, мочевого пузыря, почек, желудка, желчного пузыря и поджелудочной железы (Bahrenberg G., et al., 2000; Saeki N., et al., 2011). О последней находке было впервые доложено Argani P., с соавторами (2001), при определении мРНК в нескольких культурах клеток аденокарциномы, а также нормальной ткани ПЖ, авторы пришли к выводу, что PSCA синтезируется только в злокачественных опухолях. В данном сообщении, также было проанализировано присутствие данного антигена в PanIn, в результате он был выявлен только в 3 типе дисплазии, являющимся предраком. При дальнейшем изучении было установлена высокая эффективность данного маркера для дифференциальной диагностики рака, доброкачественных заболеваний поджелудочной железы, а также рака яичников (McCarthy D.M., et al.,2003; Cao D., et al., 2005). Однако в работе Ono H., с соавторами (2012) доказано, что PSCA может также встречаться и в клетках ткани нормальной поджелудочной железы.

CDX2 ген, синтезирует интестинальный специфический транскрипционный фактор, в норме он играет важную роль в краниокаудальном развитии желудочно-кишечного тракта (Suh E., et al., 2001; Mizoshita T., et al., 2004). Ингибируя

пролиферацию на стадии транскрипции генов, он стимулирует дифференцировку клеток эпителия, путем активации синтеза антигенов: MUC2, сукразы, изомальтазы. Карбоангидразы I. В целом данная группа генов, в частности CDX2 является протоонкогеном, однако доказано, что в случае колоректального рака он выступает тумор- супрессором (Bonhomme C., et al., 2003; Baba Y., et al., 2009). Чаще всего РНК этого гена определяют при дифференциальной диагностике между метастатическими гастроинтестинальными раками и рака яичников.

При раке поджелудочной железы, экспрессия CDX2 и MUC2 не типична и наблюдается редко, в 5-10% случаев (Moskaluk C.A., et al., 2003). При внутрипротоковых муцинозных опухолях поджелудочной железы (ВМО) выявление MUC2 CDX2 редко, но характерно для интестинального типа ВМО и коллоидной карциномы (Adsay N.Y., et al.,2004; Levi E., et al., 2004; Yopp A.C., 2010).

Другим продуктом функции CDX2 является кадерин 17 (CDH17), данная молекула адгезии синтезируется в интестинальном эпителии и является маркером рака толстой кишки. Он связывает трансмембранный регион с помощью кальциевых мостиков с экстрацеллюлярным матриксом, участвуя в формировании структуры ткани. Снижение синтеза кадерина в некоторых карциномах характеризуется злокачественным течением (Jeanes A., et al., 2008; Makrilia N., et al., 2009). При раке поджелудочной железы, данный фактор выявляется в 53-70% случаев и в 40% в метастазах, синтез его носит фокальный характер и определяется не во всех участках опухоли. CDH17 чаще наблюдается в высокодифференцированных аденокарциномах, чем в низкодифференцированных. Таким образом, можно считать, что кадерин 17 является благоприятным прогностическим фактором при РПЖ (Takamura M., et al., 2003; Su M.C., et al.,2008; Panarelli N.C., et al., 2012).

Ген F5 кодирует фактор коагуляции 5-проакцелерин, при дефекте в нем развиваеются заболевания связанные с коагулопатией. Однако продукт F5 гена, взаимодействуя с VH3 доменом иммуноглобулина E, участвует в активации интерлейкина 4, который играет немаловажную роль в пролиферации,

дифференцировке, хемотаксисе и развитии Т и В- лимфоцитов. Таким образом, снижение активности F5 может способствовать снижению гуморального и клеточного иммунитета. Как показал в своем исследовании M.J. Baine с соавт., (2012) на ранней стадии РПЖ в крови снижается уровень F5. При использовании в дифференциальной диагностике между хроническим панкреатитом и аденокарциномой, этот ген в комбинации с CA5B, SSBP2, и MIC1 показали чувствительность 83%.

LIPF ген, располагается в 10 хромосоме и отвечает за синтез желудочной липазы. Существует несколько вариантов данного гена (LIPA, LIPJ, LIPK, LIPM, LIPN), которые локализуются в различных клетках организма. Именно LIPF участвует в переваривание пищевых триглицеридов до жирных кислот и отвечает за расщепление 30% поступающих жиров. Исследования уровня экспрессии гена при раке желудка показали, что вследствие снижение липолитической функции, отмечается отрицательная регуляция в клетках (Zhang X., et al., 2010; Hudler P., et al., 2011).

UGRP, является антионкогеном, его белок синтезируется в эпителии бронхов и обладает противовоспалительной активностью. Относительно недавно было показано, что при аденокарциномах легких увеличивается его экспрессия (Tachihara-Yoshikawa M., et al., 2008). Гены, относящиеся к данной группы также участвуют в синтезе маммаглобина А и липофилина В, которые являются маркерами аденокарцином другой локализации (Watson M.A., et al.,1999; Zafrakas M., et al., 2006). Таким образом, при РПЖ вопрос о целесообразности исследования UGRP остается открытым.

UPK2 (уроплакин 2) синтезирует уротелий- специфический белок, участвующий в укреплении стенки эпителиоцитов мочеиспускательного канала. При раке желчного пузыря в 90% случаев находят уротелиально-клеточную карциному. Выявление данного гена, является прогностически неблагоприятным признаком (Li S.M., et al., 1999)

Трансглутаминаза-2 (TG-2), кодируется геном TGM_2. Данный фермент играет огромную роль в формировании межклеточного матрикса, главным

образом, связываясь с витронектином, фибрином, коллагеном, ламинином, остеопонтином препятствует деградации и стабилизирует клеточно-межклеточные взаимодействия. Из этого следует, что данный ген ингибирует инвазию и метастазирование рака (Haroon Z.A., et al., 1999; Jones R.A., et al., 2006). В работе G. Feldman и соавт., (2008) было показано, что у мышей в процессе канцерогенеза рака поджелудочной железы отмечается мутация в TGM2. При иммуногистохимическом исследовании данный маркер используется для подтверждения диагноза, при этом положительный результат отмечается в среднем в 39% случаев (Talantov D., et al., 2006; Cheung W., et al. 2007) При исследовании резистентности злокачественных опухолей различной локализации к доксорубицину было показано увеличение синтеза трансглутаминазы.

LPB (липофилин B) – высокоспецифичный секретоглобин, повышение экспрессии которого характерно при раке молочной железы. При этом отмечается его высокая чувствительность – 65%, но низкая специфичность, так как в случае фиброаденом, частота положительного ответа 77% (Culleton J., et al., 2007)

1.7. Роль BRCA1, BRCA2 и PALB2 при раке поджелудочной железы

Наиболее впечатляющим открытием 90-х, стала идентификация генов наследственного рака молочной железы и яичников – BRCA1, BRCA2 (Breast cancer associated gene). Однако как показали последние исследования третьей по частоте нозологией, встречающейся при дефекте этих генов, является рак поджелудочной железы (Greer J.B., Whitcomb D.C., 2007). Ген BRCA 1, относится к генам - супрессорам, его белок, входит в состав комплексов, участвующих в репарации двухцепочечного повреждения ДНК, регулировании пролиферции, транскрипции, клеточного цикла, росте и дифференцировки клеток. В его состав входит 22 экзона и 2 интрона. Располагается в 17 хромосоме, локус 17q12-21 и занимает 100кб. Масса фосфопротеина, кодируемого BRCA1 220кДа, включает 1863 аминокислоты, 60% его массы кодирует 11 экзон. В терминальной части

белка находится цинк-фингер связывающий домен. Он необходим для связывания с другими белками, в результате образуется комплекс, участвующих в гомологичной рекомбинации двухцепочечных повреждений ДНК (Scully R., et al., 2001).

Оценить распространенность мутации в BRCA1 при раке поджелудочной железы тяжело из-за малого опыта в изучении данной проблемы. Опираясь на данные исследователей, изучающих рак молочной железы, рак яичников, можно считать, что какие-либо «горячие точки» в этом гене отсутствуют, и мутации могут располагаться по всей длине гена. В 80% случаев они носят характер стоп-кодонов или сдвига рамки считывания, что приводит к остановке или неправильному синтезу белка (Somasundaram K., et al., 1997).

Локус мутации зависит от этнической принадлежности больного. Так при раке яичников среди жительниц восточной Европы харктерны аллели BRCA1 5382insC, 4153delA, C61G (Цыбакова, Н.Ю., 2012; Sokolenko A.P., et al., 2010). У евреек- ашкенази в 90% характерны 5382insC, 4153delA, у скандинавок в 50% случаев встречаются 1675delA, 1135insC (Moslehi R., et al., 2000; Couch F.J., et al., 2013). В Российской федерации подавляющее большинство мутаций в гене BRCA1 представлено единственным вариантом - аллелем 5382insC (Sokolenko A.P., et al., 2010). При раке поджелудочной железы различными ученными были выявлены повреждения 5382insC, 185delAG (Ferrone C.K., et al., 2009; Stadler Z.K., et al., 2012). При семейной форме РПЖ мутации в BRCA1 не было выявлено (Axilbund J.E., et al., 2009).

В литературе описано около 500 различных значимых изменений в BRCA1 гене и порядка 300 в BRCA2. На территории России мутации в последнем встречаются относительно редко, при этом их спектр не ограничивается повторяющимися повреждениями (Sokolenko A.P., et al., 2007).

Как показали в экспериментальной работе G. Feldman и соавт., (2011), при нарушении функции BRCA2 у мышей, через 8 месяцев при гистологическом исследовании ткани поджелудочной железы выявляли PanIN, а через 15 месяцев инвазивную аденокарциному.

Риск развития онкологических заболеваний у данной группы больных в 8 – 10 раз выше, а конкретно РПЖ более чем в 2 раза (Thompson D., et al. 2002; Shi C., et al., 2009). Наличие мутации в данных генах относятся к семейным раковым синдромам, именно они являются одной из основных причин канцерогенеза (Hruban H., et al., 2010). Дефектный ген наледуется по аутосомно – доминантному пути, пенетрантность достигает 80%. По разным данным частота встречаемости мутации в BRCA 1 не более 1,1%, а BRCA 2 доходит у ряда авторов до 7% (Lowery M.A., et al., 2011).

Учитывая, малую распространенность BRCA мутаций при раке поджелудочной железы, отсутствует возможность оценить характер течения этого заболевания у носителей. При анализе BRCA- ассоциированных групп больных раком яичников, молочной железы многие авторы считают, что для носителей этого гена характерен более молодой возраст, в среднем на 5 - 10 лет (Narod S.A., et al., 2001; Pal T., et al., 2005). После проведенного многоцентрового исследования American Association of Clinical Oncology пришли к выводу, что при наличии дефекта в генах BRCA у женщин после завершения репродуктивной функции и/или в возрасте до 40 лет следует выполнять, профилактическую оварэктомию. При этом уменьшается риск рака яичников до 90%, рака молочной железы на 50%. При мутации в BRCA1 рядом авторов предлагается выполнять мастэктомию (Смирнова Т.Ю., и соавт., 2007; Blanchard D.K., 2000; Brose M.S., et al., 2002).

На практике доказано, что онкологические больные, имеющие мутации в генах BRCA1, чувствительны к препаратам платины, при этом у них редко развивается резистентность к этим препаратам (Borst P. Et al., 2008; Imyanitov E.N. 2009).

Пациентов с наследственным раковым синдромом выделяют в отдельную группу, так как отмечено, что наследственные опухоли молочной железы, ободочной кишки, желудка, характеризуются более благоприятным прогнозом (Hruban R.H., et al., 2010). При данной патологии зачастую отмечают наличие мутации в генах BRCA. Учитывая, наличие «дефективного» процесса репарации

поврежденных нитей нуклеиновых кислот, препаратами выбора являются ДНК – связывающие агенты, такие как митомицин и цисплатин. Относительно РПЖ проведено ряд исследований с положительным результатом, однако учитывая небольшие группы данных больных, они не являются достоверными (Colucci G., Giuliani F., 2002). Для таргетной терапии опухолей поджелудочной железы были использованы ингиботоры полиаденозиндифосфат полимеразы (PARP)- олапариб, фермента активизирующегося в условиях дефектного BRCA гена, участвующего в рекомбинации поврежденной одной цепи ДНК, с определенным положительным эффектом in vitro (Heinemann V., Quietzsch D. et al.,2006). Однако первый опыт использования олапариба не дал значимого положительного эффекта (Lowery M.A., Kelsen D.P., 2011).

При изучении отечественной литературы не найдено данных о распространенности мутации BRCA среди больных РПЖ, а также использования специфической терапии среди них.

С 2009 года стали активно изучать частоту встречаемости гена PALB2 при раке поджелудочной железы. Учитывая, что он является антионкогеном и функция его тесно связана с функцией генов BRCA, то можно коротко заключить, что основная функция заключается в репарации двухцепочечных повреждений нитей ДНК. Стоит добавить, что чаще всего наличие повреждения в PALB2 ассоциируют с семейной формой рака поджелудочной железы. В своей работе Jones S., с соавторами, 2009 год, проанализировал 96 больных РПЖ с наличием прямых родственников с таким же заболеванием, при этом выявил 3 случая (3,1%). По данным E.W. Hofstafer с соавт., 2011, эта частота составляет 2,1%. Однако выявление дефекта в PALB2 может помочь в выборе схемы химиотерапии в пользу применения ДНК – повреждающих препаратов.

Глава 2. МАТЕРАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика исследованных больных

Исследованы 257 больных раком поджелудочной железы IB – IV стадиях, проходившие лечение в ГБУЗ «Городская Мариинская больница», ГБУЗ «Покровская больница», НИИ скорой помощи им. проф. И.И. Джанелидзе, ГБУЗ Ленинградский областной онкологический диспансер с 2009 по 2012 годы.

Сбор данных и материала производилось после разъяснительной беседы и добровольного согласия пациента.

В ходе исследования для анализа медицинской документации (истории болезней, амбулаторные карты), данных опроса пациента была разработана анкета, пример которой представлен в приложении 1.

В таблице 2.1 представлены данные об исследуемых больных.

Таблица 2.1

Характеристика исследуемых больных

Характеристики		Общая группа больных	
		Абс.	Отн (%)
Пол	Женщины	99	38,3
	Мужчины	158	61,5
Возраст	Средний	62,4	
	Min – Max	22 – 87	
	≥65 лет	145	56,4
	< 65 лет	112	43,6
Оценка соматического статуса по шкале ECOG	0	30	11,7
	1	53	18,7
	2	121	58,8
	3	48	8,9
	4	5	1,9

Продолжение таблицы 2.1 - Характеристика исследуемых больных

Характеристики		Общая группа больных	
		Абс.	Отн (%)
Стадия заболевания	IB	4	1,6
	IIA	11	4,2
	IIB	67	26,1
	III	73	28,4
	IV	102	39,7
Радикальная операция	Да	78	30,4
	Нет	179	69,6
Степень дифференцировки опухоли	Высокая	26	20,0
	Умерен	68	52,3
	Низкая	30	23,1
	Не классифицируемая	6	4,6

Как следует из таблицы, рак поджелудочной железы чаще наблюдался у мужчин, чем у женщин – 61,5% (n = 158) и 38,3% (n = 99) соответственно. Средний возраст больных составил 62,4 года, при этом интервал составил от 22 до 87 лет, при этом превалировали пациенты старше 65 лет - 56,4% (n = 145). Соматический статус больных по шкале ECOG чаще всего соответствовал 2 баллам (58.8%). Регионарное метастазирование на момент установления диагноза выявлено у 54,5% (n = 140), инвазия в крупные сосуды – 28,4% (n = 73), отдаленные метастазы – 39,7% (n = 102) больных. При этом радикальное оперативное лечение выполнено – 30,4% (n = 78) пациентам, операции выполнялись в ГБУЗ «Мариинская больница», ГБУЗ «Ленинградский областной онкологический диспансер», ГБУЗ «Городской онкологический диспансер». При

гистологической верификации наиболее часто встречалась умеренно дифференцированная аденокарцинома – 52,3% (n = 68).

2.2. Оценка чувствительности различных инструментальных методов

Диагноз РПЖ был поставлен на основании клинической картины, инструментальных методов исследования (ультразвукового, эндоскопического ультразвукового, мультиспиральной компьютерной томографии с и без контрастной ангиографии, магнитно-резонансной томографии с холангиопанкреатографией), а также гистологических данных. Трансабдоминальное ультразвуковое исследование выполнялось на аппарате Voluson 730 Pro, General Electric, 2008. Эндоскопическое ультразвуковое исследование – Olympus UCM – 160, 2008. Для проведения мультиспиральной компьютерной томографии применяли Definition AS 64, Siemens, 2010. Магнитно – резонансная томография осуществлялась на Magnitom Avanto Siemens 1,5T, 2008.

Стадию заболевания устанавливали согласно классификации TNM, разработанной Международным противораковым союзом, 7 пересмотр, 2010г (Edge S.B., Byrd D.R., et al., 2010).

2.3. Оценка результатов лечения больных раком поджелудочной железы

Были опрошены и проанализированы медицинские карты 78 (30,4%) больных, которым были выполнены радикальные операции: панкреатодуоденальная резекция (n = 69), дистальная резекция поджелудочной железы (n = 9). Результаты хирургического лечения оценивали по следующим параметрам: длительность операции, осложнения в послеоперационном периоде, длительность пребывания в стационаре, летальность. Время до рецидива заболевания определялось, как промежуток между датами операции и документально зарегистрированным прогрессированием заболевания. Общая

выживаемость оценивалась от дня начала лечения до смерти пациента. Последние два показателя удалось проанализировать у 59 пациентов (75,6%).

Изучены результаты химиотерапии, проведенной у пациентов без радикального оперативного лечения. Она была выполнена 19 пациентам: 3 - тегафуром, в дозировке 800 мг/м^2 2 раза в день, суточная доза не более 1,6 г в течение 14 дней, 16 – гемцитабином 1000мг/м^2 в 1, 8 и 15 дни.

При этом перед началом терапии проводили отбор пациентов по общему соматическому статусу по шкале ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group):

0 - пациент активен, способен полностью выполнять обычную работу;

1 - больной может выполнять только легкую работу на дому или в офисе

2 - пациент может полностью себя обслуживать;

3 - положение в основном сидя или лежа, может частично себя обслуживать;

4 - положение пассивное, больной не способен к самообслуживанию.

В исследуемой группе ХТ проводилась только больным с ECOG 0 и 1 балла, без лабораторных отклонений и вне обострения хронических заболеваний. Оценку её эффективности осуществляли по критериям RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors) (Eisenhauer E., et al., 2009). Степень ответа опухоли оценивали путем сравнения данных спиральной компьютерной томографии и/или ультразвукового исследования до назначения схемы терапии и спустя 28 дней после окончания цикла. Для этого выбирали маркерные очаги, т.е., метастатические образования с четкими контурами, округлой или близкой к ней формы, с размерами более 20 мм при измерении его с помощью УЗИ или более 10 мм - при СКТ. Выбирали не более 5 маркерных очагов из одного органа, измеряли наибольший диаметр каждого, и суммировали, полученная сумма – максимальный диаметр (МД) маркерных очагов. Узлы с размерами меньше выше указанных, считали не измеряемыми, сюда же относили асцит, поражения плевры, лимфангит.

Оценка эффекта по измеряемым очагам производилась путем вычисления изменения МД. Полный ответ - исчезновение всех очагов; частичный ответ - уменьшение МД на 30% и более; прогрессирование - увеличение МД на 20% и более или возникновение новых очаговых образований; стабилизация - незначительное изменение МД, не позволяющее определить частичный это ответ или прогрессирование. Дополнительным критерием оценки ХТ было определение изменения уровня CA 19-9.

2.4. Молекулярно – генетические методы

Для определения уровня в периферической крови онкологического маркера CA 19-9 выполняли иммуноферментный анализ посредством высокоафинных антител, последующая количественная оценка осуществлялась с помощью автоматических фотометров и автоматических анализаторов при длине волны 450 нм.

В протокол генетического тестирования были включены следующие гены (BRCA 1 5382insC, BRCA2 6174delT, KRAS, маммоглобин, PSCA, CDX2, CDH17, F5, LIPF, UGRP, UPK2, TG-2), методика определения описана ниже.

Наличие мутации в гене KRAS изучено ретроспективно у 19 пациентов, которые проходили лечение в «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова», оценка экспрессии РНК маммоглобина, PSCA, CDX2, CDH17, F5, LIPF, UGRP, UPK2, TG-2 осуществлена в 17 случаях.

В направлении на генетическое исследование, фиксировали не только возраст пациента, но и семейный анамнез, наличие предшествующих онкологических заболеваний, стадию заболевания по системе TNM, гистологическую характеристику, размер опухоли, характер лечения. Для выделения ДНК осуществляли забор венозной крови в вакуумные пробирки с антикоагулянтом (этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА)) из расчета 30 мкл на 1 мл крови. Кровь в маркированной пробирке с прилагаемой копией

направления доставляли в лабораторию молекулярной онкологии НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова.

2.4.1. Выделение ДНК из лейкоцитов периферической крови

Для оценки наличия мутации в гене BRCA1, BRCA2 использовали лейкоциты периферической крови. Выявление аллеля BRCA1 5382 insC выполнено в 150 случаях, при этом 116 из них были отобраны случайным образом (2009 – 2011г.), а последующие 34 (2011 - 2012), по наличию в анамнезе рака молочной железы, рака яичников и/или присутствия в семейном анамнезе родственников с онкологическими заболеваниями. У 22 больных, выполнен анализ наличия повторяющейся мутации BRCA2 6174delT. В 8 случаях при подозрении на семейную форму рака поджелудочной железы осуществлено секвенирование полной кодирующей последовательности гена BRCA2 и PALB2.

Данные контроля популяционной встречаемости аллеля BRCA1 5382insC были предоставлены лабораторией молекулярной генетики НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова, для этого использовались образцы ДНК, полученные от 1007 здоровых лиц среднего возраста.

С целью выявления демографических и клинических особенностей носителей BRCA мутаций всех генетически обследованных больных (n = 150) в зависимости от количества родственников с онкопатологией в семейном анамнезе разделили на 3 группы: А – отсутствие таковых (n = 94), В – наличие одного родственника с онкологической патологией (n = 35), С – 2 и более родственника со злокачественными заболеваниями (n = 21).

Выделение ДНК из лейкоцитов проводили посредством модифицированного соль-хлороформного метода (Mullenbach et al., 1989). Кровь собирали в пробирки, содержащие 0,5 М раствор ЭДТА из расчета 30 мкл на 1 мл крови. Гипоосмотический лизис эритроцитов достигался посредством 3-кратного разведения 5 мл крови дистиллированной водой, охлажденной до 44° С. Затем

лейкоциты осаждали центрифугированием. Полученный осадок ресуспендировали в 1 мл раствора Трис-HC1 (pH = 8,3), 1 мМ ЭДТА. Для разрушения цитоплазматической мембраны клеток добавляли Тритон X - 100 до конечной концентрации 1%. Ядра осаждали центрифугированием. Осадок вновь ресуспендировали в 1 мл Трис - HCl (pH = 8,3) и лизировали посредством добавления лаурилсульфата натрия до конечной концентрации 1%. Протеолиз белков и деградация комплексов «белок-ДНК» осуществляли посредством инкубации пробы в присутствии протеиназы К (200 мкг/мл) при +60° С в течение 12 часов. Затем к лизату добавляли раствор хлорида натрия до конечной концентрации 1,5 М и равный объем хлороформа. Экстракцию проводили в течение 30 минут при медленном покачивании с целью удаления из раствора ДНК нерастворимых компонентов клеточного лизата - белков и липидов. При необходимости процедура повторялась дважды.

Последующее центрифугирование приводило к образованию в пробирке трех четко различимых фаз. Верхняя водная фаза содержала растворенную ДНК и неорганические соли, промежуточная - белки и нижняя, хлороформная, - гидрофобные компоненты. Для осаждения ДНК к осторожно отобранной верхней фазе добавляли два объема абсолютного этанола и оставляли на 20 минут при температуре - 20 °С. Осадок затем собирали центрифугированием в течение 5 минут при 12000 g. Отмывание осадка от солей производили в 1 мл 70% этанола и затем, после центрифугирования, растворяли в 0,5 мл 200 мМ раствора Трис-ЭДТА (pH = 7,6). В результате был получен раствор с искомой ДНК, который можно было хранить при температуре -20º С.

2.4.2. Метод выделения РНК из парафиновых блоков

Срезы парафиновых блоков проводили под контролем световой микроскопии, чтобы доля опухолевой ткани была более 80%. Депарафинизацию осуществляли ксилолом, с последующей регидратацией путем последовательной

инкубации в 96%, затем 80% и 70% растворах этилового спирта. Лизирование клеток проводили в течение 16 часов, при температуре 60º С, путем добавления буфера: 10 мМ Трис-HCl (ph = 8,3), 0,1 мМ ЭДТА, 2% SDS и 500 мкг/мл протеиназы К. Кислый фенол (ph = 4,0) и хлороформ добавлялся для экстракции РНК. Затем м – РНК обрабатывали изопропанолом в присутствии 1 мкл гликогена (20 мг/мл), однократно промывали 70% этанолом и растворяли в 10 мкл воды. Исходный раствор с РНК использовали в реакции обратной транскрипции для синтеза комплиментарной ДНК (кДНК).

2.4.3. Реакция обратной транскрипции

Для этой реакции необходим фермент обратная транскриптаза, в работе использовали M-MLV (Promega), в количестве 50 единиц. Для проведения синтеза помимо фермента добавляли 4 мкл 5 - кратного буфера, 1 мкл- праймеров, 1 мкл смеси дезоксинуклеотидтрифосфата (дНТФ), 8 мкл ингибитора РНК-аз и 10 мкл исходного раствора РНК. Далее полученный раствор нагревали: 5 минут при температуре 20ºС, затем 30 минут при 38ºС и 5 минут при 95ºС.

2.4.4. Выделение ДНК из парафиновых блоков

В целом процесс схож с выше указанным при выделении РНК: производили депарафинизацию в ксилоле с последующей регидратацией последовательно в 96%, 80% и 70% растворах этилового спирта. После испарения этилового спирта на воздухе, добавляли лизирующий раствор в объеме 200 мкл (10 мМ Трис-HCl (ph=8,3), 0,1 мМ ЭДТА, 2% SDS и 500 мкг/мл протеиназы К). Лизис проводился в течении 12 - 24 часов при температуре +95ºС до полной инактивации протеиназы К. Полученную суспензию разводили бидистиллированной водой и она была готова для проведения полимеразной цепной реакции.

2.4.5. Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (РВ-ПЦР)

Метод оценки уровня экспрессии в режиме реального времени является наиболее точным и позволяет получить точный результат при маленьком количестве материала. Всего проведено 150 анализов последовательностей генов BRCA1 5382insC, и 22 - BRCA2 6174delT. Для анализа генетических мутаций в генах BRCA1 5382insC, BRCA2 6174delT, KRAS, PSCA, CDX2, CDH17, F5, LIPF, UGRP, UPK2, TG-2 использовали следующие локус специфические праймеры и зонды:

Мутация BRCA1 5382insC

5’ – AAG CGA GCA AGA GAA TTC CAG – 3’ (общий)

5’ – AGC GAG CAA GAG AAT TCC CA – 3’ (wt)

5’ – AGA ACC TGT GTG AAA GTA TCT AGc ACT G – 3’ (mut)

wt – праймер, специфичный к нормальному аллелю.

mut – праймер, специфичный к мутированному

Мутация BRCA2 6174delT

5’-CATAACCAAAATATGTCTGGATTGGAG-3’ (общий)

5’-CTGATACCTGGACAGATTTTCCAC-3’ (wt)

5’-CCTGGACAGATTTTCCCTTGC-3’(mut)

Праймеры для определения экспрессии мРНК генов PSCA, CDX2, CDH17, F5, LIPF, UGRP, UPK2, TG2:

Название	5'-3' последовательность
PSCA-F	TGTGCTGCTTGCCCTGTTGA
PSCA-R	GTTGCTCACCTGGGCTTTG
CDX2-F	GCGGAACCTGTGCGAGTG
CDX2-R	GCCGCTGGTGGTCCGTG
CDH17-F	TGAAGGCCAAGAACCGAGTC
CDH17-R	TCTGTCTCCCCAGTTAGTTC

F5-F	ATGCTGAAGTCGGAGACATC
F5-R	GTGTGGTCAAGGTAAGAAGC
LIPF-F	CCCAGTTCAGAATAGGATGC
LIPF-R	CCTTGCCACCGTTCCACAC
UGRP-F	GTCATGAAGCTGGTAACTATC
UGRP-R	AGGTGCCAACTTGTCAACAG
UPK2-F	CCTGATTCTGCTGGCTCTG
UPK2-R	ACAGGGGGGCAAGGCAAC
TG-F	TGAAGAGGCCACCCACATC
TG-R	CATGGGTGGAAATGGGCAC

Экспрессия выполнена в 18 случаях из парафиновых блоков.

Праймеры для детекции мутаций в гене KRAS методом высокоточного анализа кривых плавления с последующим секвенированием:

Название	5'-3' последовательность
KRAS-F	AATGACTGAATATAAACTTGTGG
KRAS-R	CAAGATTTACCTCTATTGTTGG

Анализ выполнен у 19 пациентов с диагнозом РПЖ и в 2 случаях у больных с хроническим панкреатитом для исключения рака.

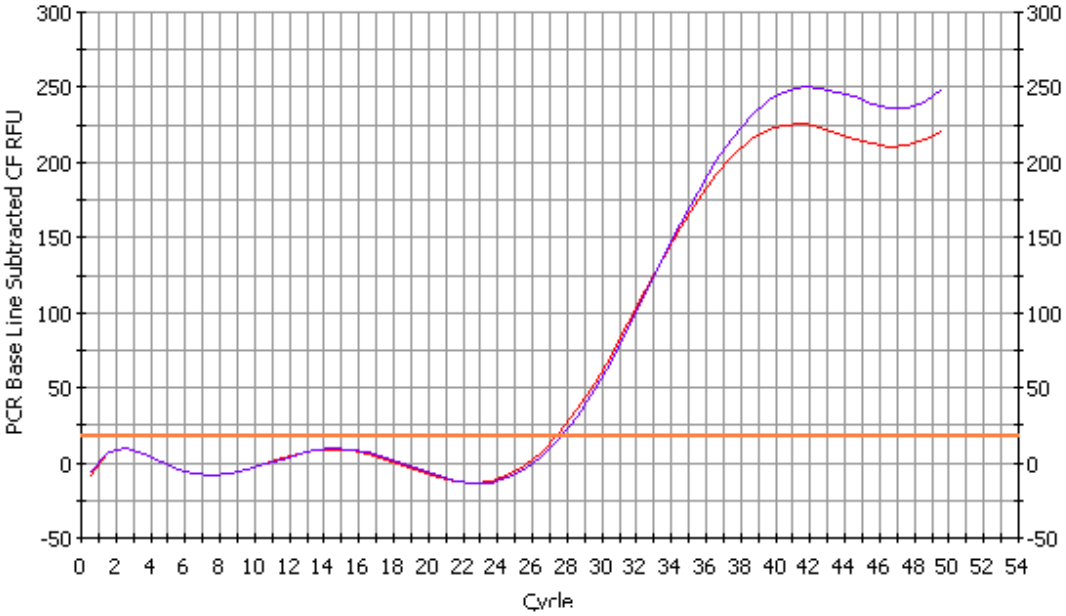
При наличии в анамнезе прямых родственников с установленным диагнозом рак поджелудочной железы, выполнялось секвенирование полной последовательности гена PALB2 выполнено в 7 случаях, а для BRCA2 у 8 пациентов. При этом применялся HRM-анализ (high-resolution melting analysis) с последующим секвенированием аномально плавящихся фрагментов. Последовательности праймеров и условия реакции предоставлены сотрудниками Медицинского центра г. Лейдена (Leiden University Medical Center, Dr. Ninke van der Stoep, персональное сообщение). Секвенирование осуществлялось на аппарате SEQ-8000 (Beckman-Coulter, США).

Для постановки реакции использовали ПЦР - амплификаторы iCycler iQ Real-Time PCR Detection System и CFX-96 (Bio-Rad Laboratories, USA). При этом

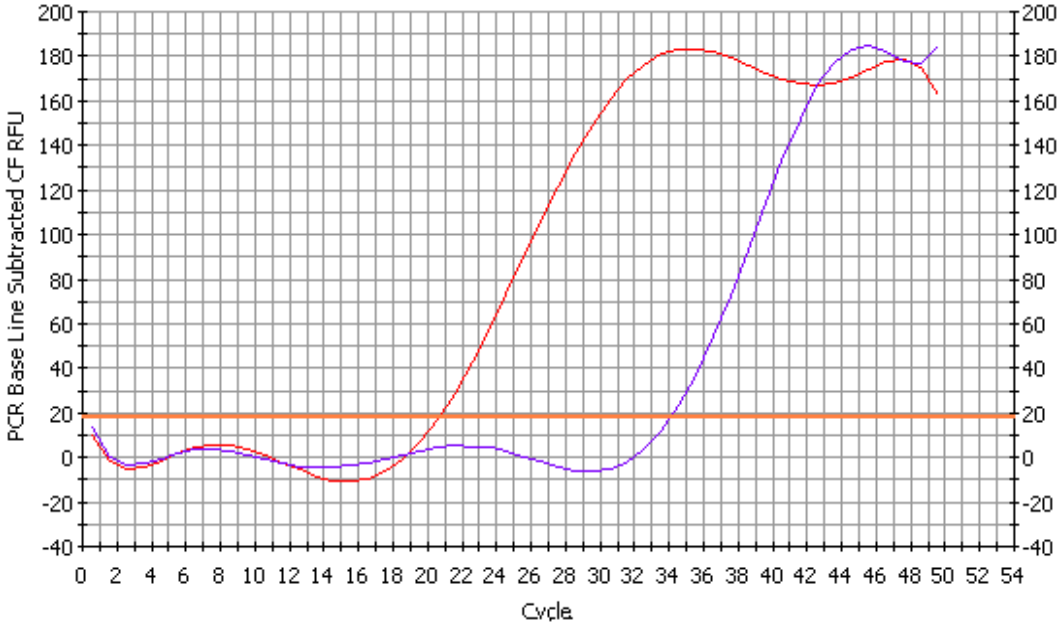
соблюдали следующие условия, в объеме 20мкл, содержалось 50 нг геномной ДНК, добавляли 1Ед «hot start» Taq - полимеразы «Thermostar» («Синтол», Москва), однократный ПЦР - буфер (ph= 8,3), 1,5- 3,0 мМ MgCb, по 200 мкМ каждого из дезоксинуклеотиддифосфатов (дАТФ, дЦТФ, дГТФ, дТТФ) и 100 нМ каждого олигонуклеотида или праймера. К полученной смеси добавляли интеркалирующий краситель SYBR green I (20 кратный раствор, добавляется из расчета 1/100 объема реакции), данное вещество, связываясь с ДНК начинает «светиться».

Реакция начиналась с активации ДНК-полимеразы при температуре 95º С, в течение 10 минут. Последующие 45 циклов состояли из фаз денатурации при температуре 95º С в течение 15 сек, затем отжига при 60 ºС - 30 сек, и синтеза при 72ºС- 30 сек.

Детекция мутации в генах осуществлялась благодаря анализу высокоточной кинетики плавления, основанный на сравнивании динамики кривых плавления гена- рефери и исследуемого амплификата (wt, mut). Наличие дефекта в исследуемом образце проявлялось в виде минимальной разницей кривых амплификации (минимальным ΔCt), Рисунок 2.



а



б

Рис. 2. Примеры кривых амплификации в режиме реального времени

Примечание: а) есть мутация, б) отсутствует

wt (нормальная последовательность)

mut (мутированная последовательность)

2.5. Статистическая обработка полученных данных

Обработку данных проводили с помощью статистического аппарата SPSS Version 17.0 (SPSS inc.), Microsoft Excel 2007, а также Epi Info, version 6.

В анализе полученных данных использовали описательную статистику (частота, среднее значение, стандартное отклонение, медиана, стандартная ошибка среднего, доверительный интервал). Математико – статистический анализ выживаемости больных осуществляли методом Каплан - Мейера. Выяснение силы и характера связи дискретных значений проводили непараметрическим методом Спирмена, а также путем парного сравнения, Мантель - Кокса. Подтверждение гипотезы относительного риска выполняли параметрическим методом Фишера.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КЛИНИКИ, ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

3.1 Анализ общей группы больных

Исследовано 257 больных, среди них женщин (ж) – 158 (61,5%), мужчин (м) – 99 (38,5%). Возраст пациентов колебался от 22 до 87 лет, средний составил 62,4 ± 18,2 года. Распределение пациентов по возрасту представлено в таблице 3.1

Таблица 3.1

Распределение больных по возрасту (по классификации ВОЗ, 1963г.)

Возраст (годы)	Количество больных	
	Абс.	Отн.(%)
Молодой возраст (18-29)	1	0,4
Зрелый возраст (30-44)	10	3,8
Средний возраст (45-59)	57	22,2
Пожилой возраст (60-74)	189	73,6
Всего	257	100

Как следует из таблицы, частота встречаемости РПЖ находится в прямой зависимости от возраста больных, с максимальным значением у лиц старше 60 лет (73.6%).

При оценке общего состояния больных по шкале ECOG только у 30 больных (11.7%) соматический статус составил 0 баллов, 1 балл у 48 (18,7%), 2 балла у 151 (58,8%), 3 балла у 23 (8,9%), 4 балла у 5 (1,9%). Таким образом, более чем у половины пациентов отмечалось ограничение трудоспособности, но при этом они способны были полностью себя обслуживать. При изучении больных по стадии заболевания получены следующие результаты: IB – 4 (1,6 %), IIA – 11 (4,2 %), IIB – 67 (26,1 %), III – 73 (28,4 %), IV – 102 (39,7 %). В основном

устанавливали диагноз уже, когда имелись регионарные и отдаленные метастазы. Распределение больных в зависимости от стадии заболевания по классификации TNM, представлено в таблице 3.2.

Таблица 3.2

Распределение пациентов по классификации TNM в зависимости от стадии заболевания

Стадия заболевания	TNM	Абсолютное число больных	Относительное число больных (%)
IB	T_2 N_0 M_0	4	1,6
IIA	T_3 N_0 M_0	11	4,2
IIB	T_1 N_1 M_0	9	3,5
	T_2 N_1 M_0	27	10,5
	T_3 N_1 M_0	31	12,1
III	$T_4N_{Any}M_0$	73	28,4
IV	$T_{Any}N_{Any}M_1$	102	39,7
Примечание: Any- любое количество пораженных лимфатических узлов			

Из полученных данных следует, что на момент постановки диагноза в 132 случаях (51,4%) первичная опухоль распространялась на крупные сосуды, в 198 (77,1%) наблюдениях имелись регионарные метастазы, а в 102 (39,7%), отдаленные. Из представленных в таблицах 2.1 и 3.2 результатов следует, что рак

поджелудочной железы выявлялся поздно, и только у 4 больных (1,6 %) диагностирован в IB ст., а в остальных же 253 (98,4 %) случаях имелось распространение опухоли за пределы поджелудочной железы, либо диссеминация процесса.

Радикальные операции выполнены в 78 случаях (30,4%). По результатам гистологического исследования чаще всего верифицировали умереннодифференцированную аденокарциному, что продемонстрировано на рисунке 3.

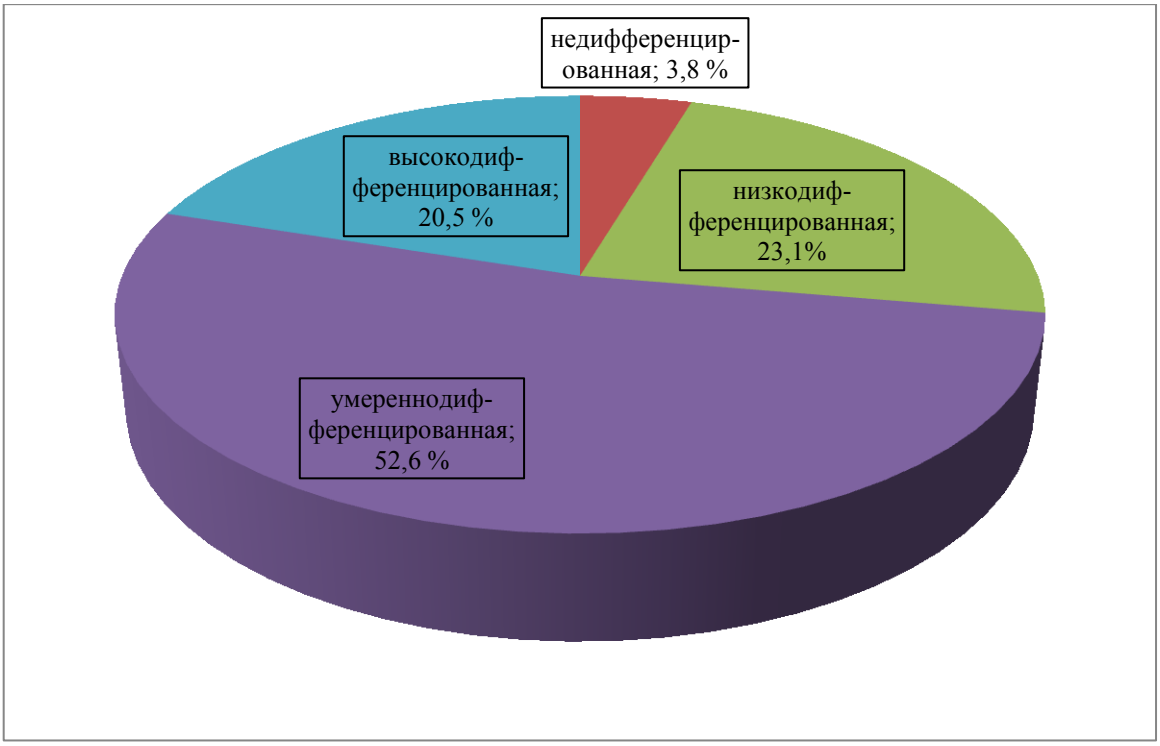


Рис. 3. Распределение гистологических типов злокачественных новообразований

Как следует из отраженных на рисунке результатов, высокодифференцированная аденокарцинома выявлена у 16 (20,5%) прооперированных больных умереннодифференцированная у 41 (52,6 %), низкодифференцированная у 18 (23,1 %), не дифференцированная у 3 (3.8 %).

3.2. Особенности клинического течения рака поджелудочной железы

Основными симптомами проявления заболевания были: желтуха – 84,7%, боли – 69,4%, нарушение метаболизма углеводов - 72,7%, снижение массы тела –

45,1%, диспепсические явления – 6,8%. А также согласно шкале общего соматического статуса ECOG, состояние у 121 (58,8%) больного оценено в 2 балла, то есть отмечалось снижение работоспособности.

С 2009 по 2011 годы у 183 больных была проанализирована временная взаимосвязь между выявлением нарушения углеводного обмена и рака поджелудочной железы. Характеристика группы представлена в таблице 3.3.

Таблица 3.3

Характеристика больных с нарушенным углеводным обменом

Показатель		Число больных	
		Абс	Отн (%)
Возраст	Средний Min – Max	52,1 38 – 71	
Пол	мужчины женщины	54 79	40,6 59,4
Количество больных с нарушением углеводного обмена	Нарушение толерантности к глюкозе Сахарный диабет	84 49	45,9 26,8
Онкологический семейный анамнез[1]	есть нет	102 81	55,7 44,3
Наличие сахарного диабета у родственников[1]	Да Нет	15 168	8,2 91,8

Примечание: 1 - Только среди прямых родственников.

В исследуемой группе средний возраст составил 52,1 ± 16,9 лет. Было установлено, что у 133 больных (72,7%) наблюдалось нарушение метаболизма глюкозы, среди них у 49 (36,8%) установлен диагноз сахарный диабет, а у оставшихся 84 (45,9%) пациентов имела место нарушенная гликемия натощак. При сборе семейного анамнеза отмечалось, что у 102 исследуемых (55,7%) были близкие родственники с онкологической патологией, а с сахарным диабетом только у 15 больных (8,2%).

В группе с установленным СД (n-49) оценили временную зависимость между выявлением сахарного диабета и рака поджелудочной железы, что представлено на рисунке 4. Из этой группы было исключено 12 пациентов, так как у них не удалось установить срок возникновения диабета.

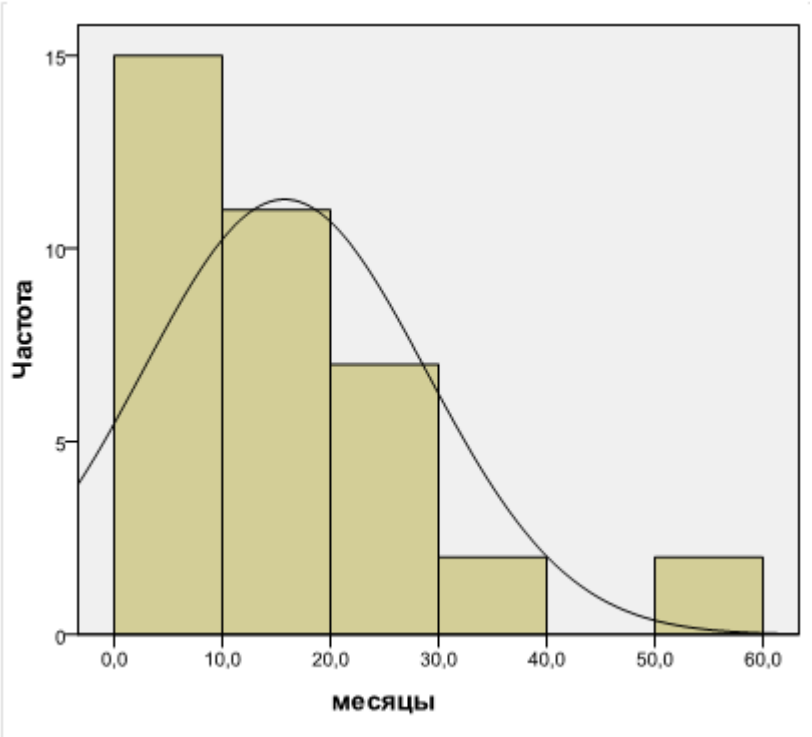


Рис. 4. Распределение пациентов в зависимости от срока выявления сахарного диабета и рака поджелудочной железы.

В большинстве случаев, между установлением этих 2 заболеваний проходило не более 10 месяцев (n = 15, 30,6%), а с увеличением срока наблюдения, наблюдалось снижение числа пациентов с диабетом: с 10 по 20 месяцы было выявлено 11 человек (22,5%), с 20 до 30 месяцев – 7 (14,3%), в сроки с 30 по 40 и с 50 по 60 месяцы - по 2 больных (4,1%). Среднее время от выявления

сахарного диабета до постановки диагноза рак поджелудочной железы составило 15,75 ± 13,1мес (p<0,05). Диабет считается впервые выявленным в течение первых 2 лет от постановки диагноза. Таких больных было 28 (57,2%), что составило относительно всей группы с нарушением метаболизма углеводов (n=183) - 15,3%. Принимая во внимание столь малый временной интервал между установлением СД и выявлением РПЖ, можно с определенной уверенностью сделать вывод, что диабет был первым клиническим проявлением рака поджелудочной железы, то есть первым симптомом. Потребность в инсулине наблюдалась у 19 (38,8%) больных, срок перехода с сахароснижающих препаратов на заместительную терапию наблюдался в среднем за 4,2 ± 1,3 месяца (p<0,05) до выявления рака. Таким образом, обобщая полученные результаты можно сделать вывод что, пациенты старше 52 лет, с впервые выявленным инсулинзависимым сахарным диабетом, имеющие в семейном анамнезе прямых родственников с онкологическими заболеваниями, являются группой риска, в которой высока вероятность выявления рака поджелудочной железы, что нужно принимать во внимание при их обследовании и наблюдении.

3.3. Диагностика заболевания

Опухоль локализовалась в следующих отделах ПЖ: в головке – 70,8%, в крючковидном отростке – 7,4%, в теле – 15,2%, в хвосте – 6,6%.

Методы диагностики и их чувствительность представлены в таблице 3.4

Таблица 3.4

Инструментальные методы исследования и их чувствительность

Вид исследования	Число обследованных больных	Чувствительность метода (%)		
	абс. (%)	Первичная опухоль	Лимфоаденопатия	Отдаленное метастазирование
УЗИ	257 (100%)	80,2	64,3	68,1

Продолжение Таблица 3.4 - Инструментальные методы исследования и их чувствительность

Вид исследования	Число обследованных больных	Чувствительность метода (%)		
	абс. (%)	Первичная опухоль	Лимфоаденопатия	Отдаленное метастазирование
СКТ	74 (28,8%)	88,9	79,9	84,2
СКТ с болюсным контрастированием	50 (19,5%)	91,8	87,5	92,4
МРТ + МРХПГ	164 (63,8%)	92,7	86,4	89,6
ЭУЗИ	53 (24,4%)	92,4	91	88,4

Ультразвуковое исследование выполнено всем пациентам, при этом чувствительность метода (ЧМ) при визуализации первичной опухоли составила 80,2%, при выявлении регионарной лимфоаденопатии ЧМ – 64,3%, отдаленных метастазов – 68,1%. Спиральная компьютерная томография - 74 пациентам (28,8%), ЧМ в выявлении первичной опухоли – 88,9%, лимфоаденопатии – 79,9%, отдаленных метастазов – 84,2%. СКТ с болюсным контрастированием выполнили 50 пациентам (19,5%), ЧМ в выявлении первичной опухоли – 91,8%, лимфоаденопатии – 87,5%, отдаленных метастазов – 91,8%. Магнитно-резонансная томография с холангиопанкреатографией - 164 больным, чувствительность при выявлении первичной опухоли – 92,7%, регионарной лимфоаденопатии - 86,4%, отдаленных метастазов – 89,6%. Ультразвуковое эндоскопическое исследование выполнено 53 пациентам (24,4%), ЧМ выявления первичной опухоли – 92,4%, лимфоаденопатии – 91%, отдаленных метастазов – 88,4%.

Таким образом, из полученных данных следует, что наибольшей чувствительностью обладали СКТ с болюсным контрастированием, МРХПГ и ЭУЗИ, при совместном применении данных методов была достигнута чувствительность при выявлении первичной опухоли – 95,7%, лимфоаденопатии – 91,8%, а отдаленного метастазирования – 93,4%.

3.4. Результаты хирургического лечения

Средний возраст больных составил 64,68 ± 9,28 лет (от 38 до 86 лет). Всего выполнено 78 (30,4%) радикальных операций: панкреатодуоденальная резекция – 69 (26,9%), дистальная резекция поджелудочной железы – 9 (3,5%). Среднее время выполнения панкреатодуоденальной резекции составило 345,00 ± 21,34 минуты, а дистальной резекции - 301,13 ± 18,3 минуты. Средняя продолжительность пребывания в стационаре после радикального вмешательства - 21,14 ± 7,08 дней. Послеоперационные осложнения представлены в таблице 3.5.

Таблица 3.5

Частота послеоперационных осложнений

Осложнения	Абс. количество	%	Из них умерло после операции	
			Абс. число	%
Острый панкреатит	28	35,9	6	7,7
Абсцессы брюшной полости	12	15,4	3	3,8
Несостоятельность ПЕА	7	9,0	3	3,8
Несостоятельность ГЕА	1	1,3	-	-
Перитонит	3	3,8	2	2,6
Пневмония	4	5,1	3	3,8
Некроз культи поджелудочной железы	1	1,3	1	1,3

Продолжение Таблица 3.5 - Частота послеоперационных осложнений

Осложнения	Абс. количество	%	Из них умерло после операции	
			Абс. число	%
ТЭЛА	2	2,6	1	1,3
Сердечно - сосудистая недостаточность	2	2,6	2	2,6
Итого	31	39,7	6	7,7

Примечание: ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии, ПЕА – панкреатикоеюноанастомоз, ГЕА - гепатикоеюноанастомоз

Как видно из таблицы в послеоперационный периоде острый панкреатит наблюдался в 35,9% случаев, несостоятельность панкреатикоеюноанастомоза – 9,0%, гепатикоеюноанастомоза - 1,3%, перитонит – 3,8%, пневмония – 5,1%, некроз культи поджелудочной железы – 1,3%, тромбоэмболия легочной артерии – 2,6%, сердечно – сосудистая недостаточность – 2,6%. Итоговая послеоперационная летальность по результатам лечения в 3 стационарах составила – 7,7%.

Общие результаты хирургического лечения представлены на рисунке 5.

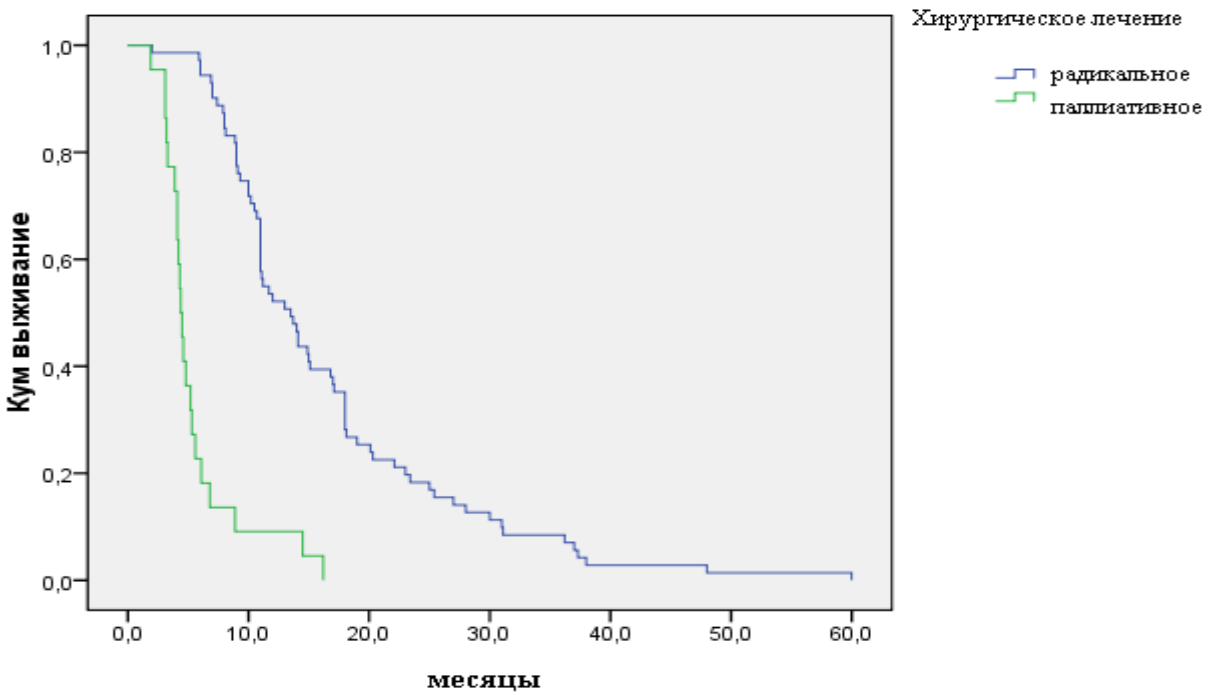


Рис. 5. Результаты хирургического лечения больных РПЖ

Медиана выживаемости составила среди больных перенесших радикальную операцию 11,1 ± 1,78 месяца (7,6 - 14,6 месяца, 95% доверительный интервал), в группе где выполнялись паллиативные вмешательства – 4,4 ± 0,24 (3,94 – 4,86, $p < 0,001$).

Время до рецидива заболевания у радикально оперированных больных, составило 8,9 ± 2,3 месяца (3,1 – 10,3 месяца, 95% доверительный интервал).

На рисунках 6, 7 и 8 представлена зависимость выживаемости от стадии заболевания, размера первичной удаленной опухоли и степени её дифференцировки.

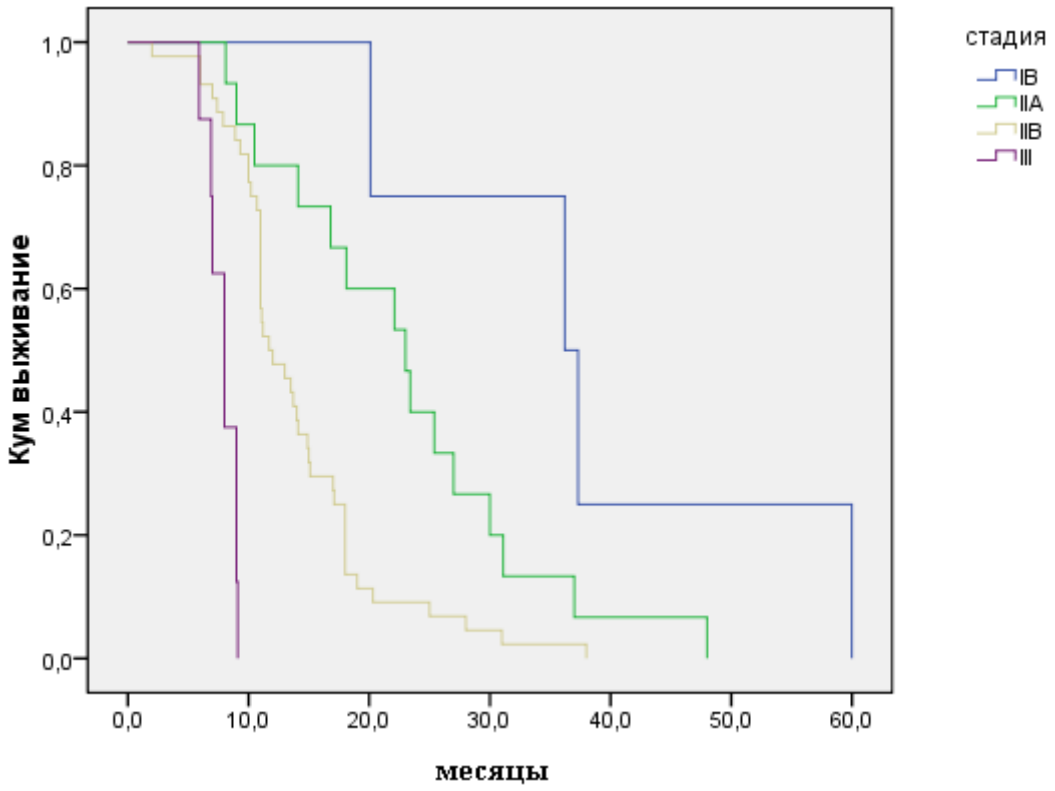


Рис. 6. Результаты радикального хирургического лечения в зависимости от стадии заболевания

Так как при IV стадии не выполнялись радикальные операции, поэтому эти больные были исключены. При 95% доверительном интервале, медиана выживаемости для различных стадий заболевания составила в месяцах (статистическая достоверность проверялась методом Мантель-Кокса): IB – 36,2 ÷ 13,15 (10,43 – 61,96, p-0,056); IIA – 18,1 ÷ 1,94 (14,30 – 21,89, p-0,006); IIB – 11,2 ÷ 0,60 (10,02 – 12,37, p-0.008); III – 6,9 ÷ 0,82 (5,30 – 8,50, p-0,025). Для сравнения медиана выживаемости больных IV стадией составила 4,4 ÷ 0,21 мес (3,00 – 4,8 мес). Как видно из кривой Каплан- Мейер, выживаемость больных зависела напрямую от стадии заболевания. Наилучшие результаты наблюдались при IB стадии, а худшие при III.

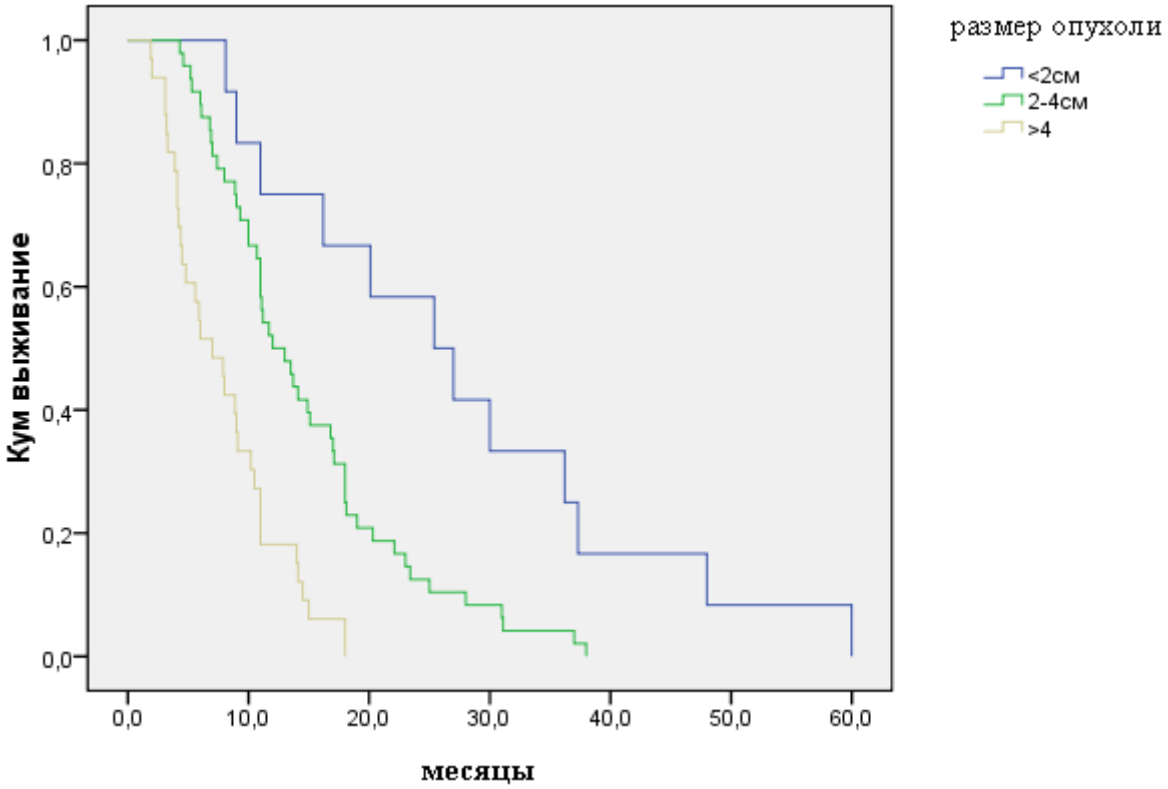


Рис. 7. Выживаемость пациентов после радикального оперативного вмешательства в зависимости от размера первичной опухоли

При размере опухоли до 2 см, медиана выживаемости составила 20,1 ÷ 5,63 мес (9,06 – 31,14 мес, p-0,012); 2-4 – 11,2 ÷ 1,78 мес (7,70 - 14,69 мес, p-0,034), >4см – 4,5 ÷ 0,45 мес (3,60 - 5,39 мес, p-0,001). Таким образом, из представленных данных следует, что, размер злокачественного образования напрямую влияет на выживаемость больных.

На рисунке 8 представлена зависимость результатов хирургического лечения от гистологического типа аденокарциномы поджелудочной железы.

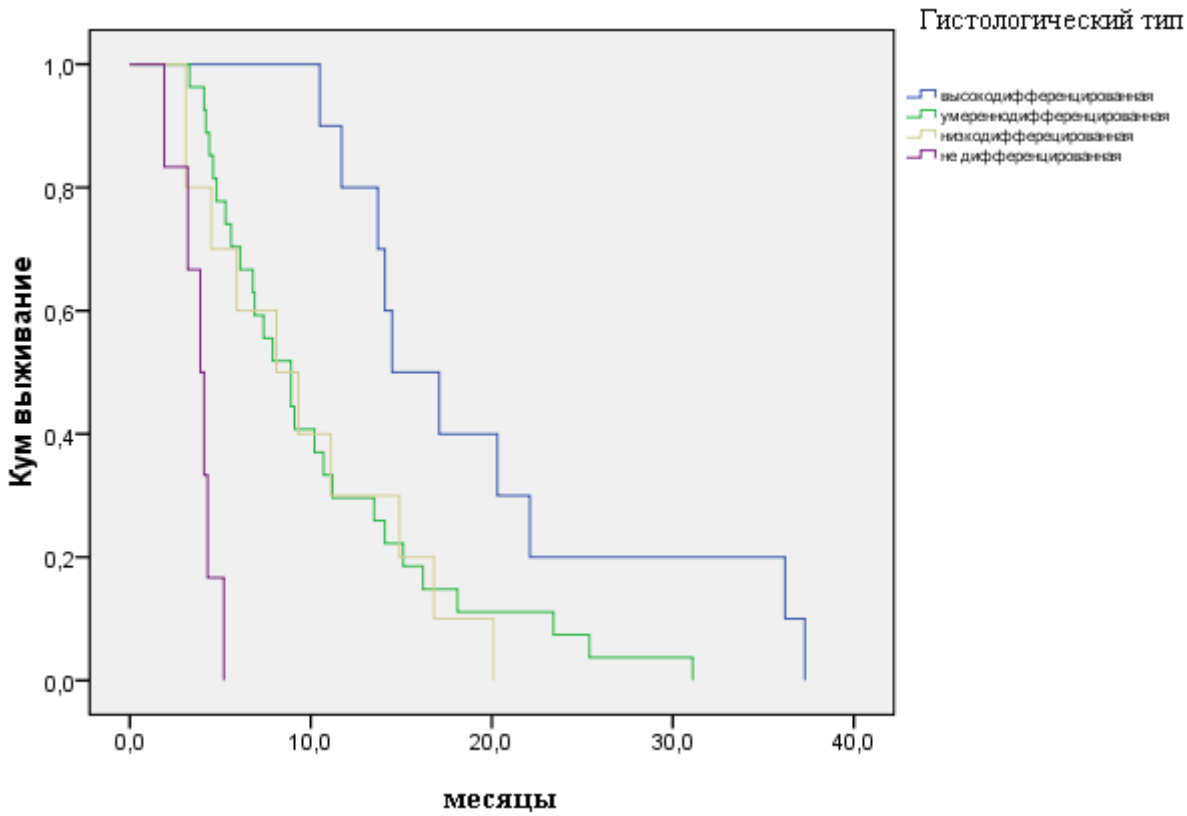


Рис. 8. Зависимость выживаемости от степени дифференцировки опухоли при радикальных операциях

Медиана продолжительности жизни для высокодифференцированной аденокарциномы при 95% доверительном интервале составила 14,5 ÷ 2,37 мес (от 9,85 до 19,1 мес, р-0,012), умереннодифференцированной – 8,9 ÷ 1,29 мес (6,37 – 11,43 мес, р - 0,07), низкодифференцированной – 8,1÷ 2,68 мес (2,83 – 13,36 мес, р-0,023), не дифференцированной – 3,9 ÷ 0,55 мес (2,82 – 4,98 мес, р < 0,001). Как и размер, так и степень дифференцировки пропорционально влияют на результаты лечения больных.

3.5 Результаты химиотерапевтического лечения

В группу включены пациенты в возрасте от 51 до 86 лет, средний возраст составил – 65,5 ± 8,741. При назначении тегафура у всех 3 пациентов наблюдалось прогрессирование заболевания, выживаемость при этом составила в

первом случае 3 недели, 1,8 и 2,1 месяца. У больных, получавших гемцитабин в 3 (18,7%) случаях наблюдался частичный ответ, в 4 (25,0%) - стабилизация и в 9 (56,3%) – прогрессирование заболевания. Средняя продолжительность жизни составила 3,2 ± 0,7 месяца (1,0 - 4,5; доверительный интервал - 95%, p-0,033). Медиана выживаемости составила 1,8 ± 0,7 (0,3 - 3,2; при 95% доверительном интервале) месяца (Рисунок 9).

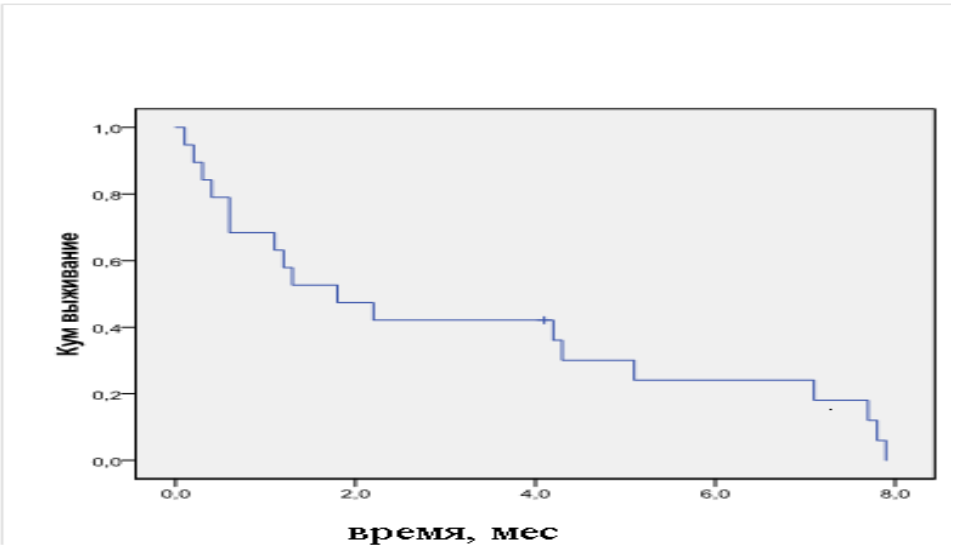


Рис. 9. Кривая выживаемости больных, при лечении гемцитабином

Как продемонстрировано с помощью кривой выживаемости Каплан – Мейера результаты химиотерапевтического лечения были неудовлетворительными.

3.6 Значение карбогидратного антигена СА 19-9 в диагностике и прогнозе заболевания при раке поджелудочной железы

У 144 пациентов до операции в крови определен уровень СА 19-9. Чувствительность метода составила 71,7%. Медиана составила 120,0 Ед/мл, а среднее значение 969,6 ± 2677,3 Ед/мл (колебания от 2,3 до 12000,0 Ед/мл, при 95% доверительном интервале). Среднее значение в группе радикально

оперированных больных (n=78) составило 114,96 Ед/мл, а у пациентов с распространенным процессом (n=66) - 549,3 Ед/мл. При уровне карбогидратного антигена выше 400 Ед/мл, возможность радикального выполнения операции резко снижалась, вследствие метастатического процесса, либо вовлечения крупных сосудов, в такой ситуации с большими трудностями выполнено 4 паллиативные панкреатодуоденальные резекции. При оценке корреляции между уровнем CA 19-9 и количеством оперативных вмешательств коэффициент Спирмена r = 0,37 (p<0,01), т.е. имеется статистически достоверная обратная зависимость. В таблице 3.6 представлена зависимость между уровнем маркера и стадией заболевания.

Таблица 3.6

Уровень CA 19-9 при различной стадии заболевания

Стадия заболевания	Уровень CA 19-9 Ед/мл	
	среднее значение (min - max)	медиана
IB	28,4 ± 44,66 (2,3 - 80,1)	3,0
IIA	113,4 ± 254,85 (5,0 - 837,1)	37,85
IIB	229,5 ± 186,32 (3,38 - 569,2)	185,7
III	333,3 ± 359,81 (5,7 - 997,0)	247,35
IV	3161,6 ± 4695,69 (31,7 - 12000)	322,9

Примечание: медиана – возможное значение признака, которое делит вариационный ряд выборки на две равные части.

Для оценки достоверности выборки был задан 95% доверительный интервал. При этом отмечается четкая прямая зависимость между стадией заболевания и уровнем антигена, так как происходит увеличение как среднего

значения уровня маркера в крови, так и медианы распределения показателей. Для стадии IB среднее значение составило 28,4 Ед/мл, а медианы 3,0, для IIA – 113 и 37,85 Ед/мл соответственно, IIB – 229,5 и 185,7 Ед/мл, III – 333,3 и 247,35 Ед/мл и IV – 3161,6 и 322,9 Ед/мл. Наибольшие значение CA 19-9, наблюдались при IV стадии заболевания. Коэфициент Спирмена: r = 0,543 (p<0,01).

Влияния степени дифференцировки опухоли на уровень антигена представлено в таблице 3.7.

Таблица 3.7

Зависимость уровня CA 19-9 от гистологической структуры опухоли.

Гистологический тип	Среднее	Медиана	Стандарт отклонение	Минимум	Максимум
Высокодиф-ференцированная	130,4	48,3	62,3	3,0	524,8
Умереннодиф-ференцированная	1345,0	145,1	658,4	5,0	12000,0
Низкодифференци-рованная	712,7	294,2	280,6	2,3	2660,2
не дифференцированная	435,6	350,4	163,1	25,9	1120,0
Итого	893,6	145,1	343,6	2,3	12000,0

Из полученных данных среднего значения CA 19-9, определенной закономерности не получается, очевидно, что в случае высокодифференцированной аденокарциномы среднее значение маркера наименьшее – 130,4 Ед/мл, однако между умереннодифференцированной, низкодифференцированной и не дифференцированной этой закономерности

убедительно не наблюдается – 145,1, 294,2 и 350,4 Ед/мл, соответственно. Однако если обратить внимание на медиану маркера, то отмечается обратная зависимость между этими значениями, т.е. при уменьшении степени дифференцировки увеличивается значение карбогидратного антигена. Доказательством этого вывода служит коэффициент ранговой корреляции Спирмена, $r = 0,317$ ($p<0,05$).

В таблице 3.8 отражен анализ взаимоотношения размера образования и уровня антигена.

Таблица 3.8

Уровень CA 19-9 при разных размерах опухоли

Размер	Среднее	Медиана	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение
<2 см	158,6	14,6	2,3	837,1	333,7
2-4 см	169,1	98,3	3,4	569,2	174,5
>4 см	2338,9	331,1	5,7	12000,0	4113,8
Итого	969,6	120,0	2,3	12000,0	2677,3

Из приведенной таблице следует, что при анализе средних значений и медианы распределения выборок отмечается зависимость между уровнем маркера и размером опухоли, однако минимумы и максимумы значительно перекрывают друг друга. Тест Спирмена: $r = 0,418$ ($p<0,01$). Можно сделать вывод, что уровень карбогидратного антигена в большей степени зависит от распространенности процесса, то есть от стадии заболевания, чем от размера первичной опухоли и степени её дифференцировки.

Для подтверждения этого вывода была проанализирована выживаемость больных, в зависимости от уровня CA 19-9, графическое отображение представлено на рисунке 10. Учитывая полученные средние значения онкомаркера для стадии заболевания, а также радикально оперированных

больных, все значения СА 19-9 были разбиты на интервалы: 0 – 37 Ед/мл, 37 – 100 Ед/мл, 100 – 400 Ед/мл, 400 – 1000 Ед/мл и >1000 Ед/мл.

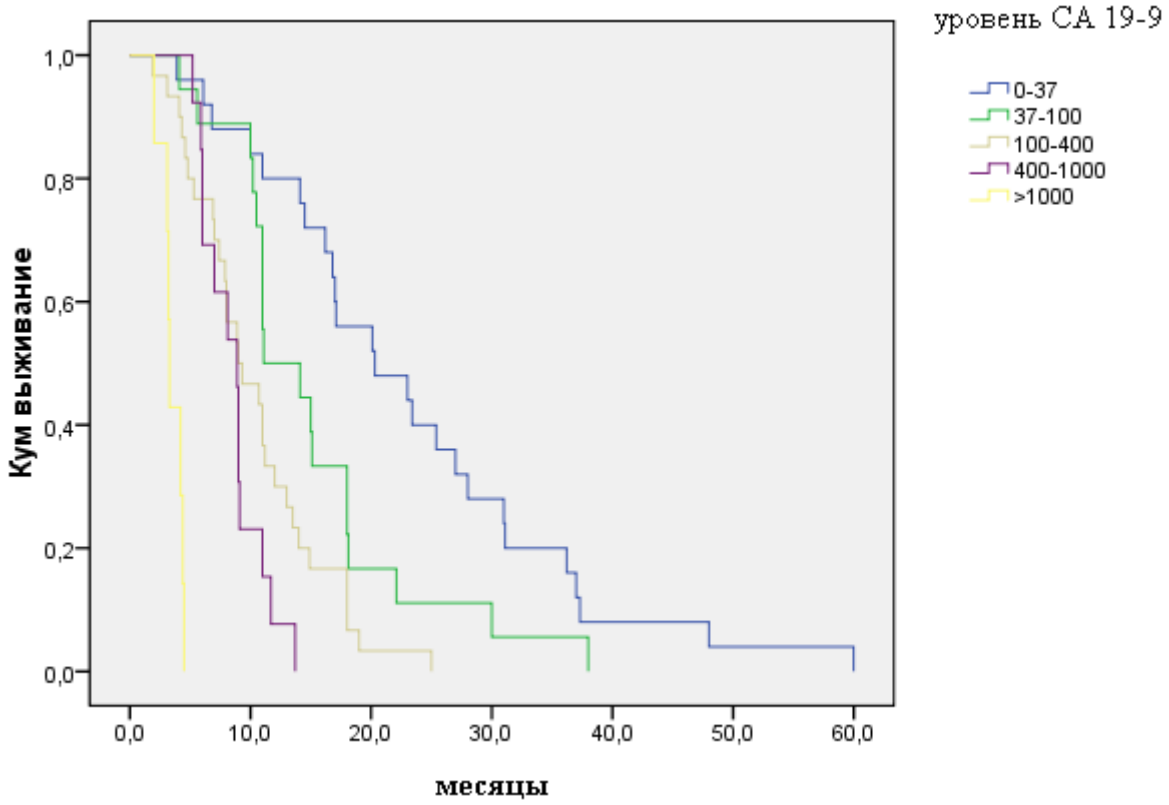


Рис. 10. Выживаемость больных РПЖ в зависимости от уровня СА 19-9

Данная кривая Каплан – Мейер показывает, что при повышении уровня маркера выживаемость больных снижается. При уровне СА 19-9 0-37 Ед/мл, медиана продолжительность жизни составила 17,1 ± 2,51 мес (12,177 – 22,0 мес, p-0,031); 37 - 100 Ед/мл – 11,1 ± 0,89 мес (9,35 - 12,85 мес, p-0,018); 100 - 400 Ед/мл – 6,9 ± 2,1 мес (2,78 - 11,01 мес, p-0,039); 400 – 1000 Ед/мл – 8,9 ± 1,04 мес (6,85 - 10,95 мес, p-0,001); 1000 и более – 3.3 ± 0,61 мес (2,1 – 4,5 мес, p<0,001).

Как видно из полученных данных, при уровне карбогидратного антигена до 100 Ед/мл наблюдалась наибольшая продолжительность жизни, при этом в следующем интервале значений СА 19-9 от 100 до 400 Ед/мл демонстрирует снижение практически в 2 раза.

Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЕННЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1 Анализ частоты мутаций генов BRCA1, BRCA2 у больных раком поджелудочной железы

Для семейных раковых синдромов характерно наличие у пробанда онкологического заболевания и/или 2 и более прямых родственников со злокачественными образованиями. Наличие мутации в генах BRCA1 и BRCA2 часто ассоциируется с этим синдромом, поэтому все пациенты (n-150), которым осуществлялось генетический анализ крови, были поделены в зависимости от количества родственников с онкологическими заболеваниями в семейном анамнезе на группу А – отсутствие таковых (n = 94), группу В (n = 35), в которую вошли больные с наличием 1 родственника с онкологической патологией и С (n = 21) - 2 и более прямых родственников со злокачественными заболеваниями. Данное разделение было выполнено для выявления специфических клинических характеристик, присущих больным с возможной семейной формой онкопатологии, а также для проверки гипотезы о том, что и при раке поджелудочной железы существует прямая зависимость между встречаемостью мутации в генах BRCA и количеством родственников с онкологическими заболеваниями. Результаты представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1

Характеристика исследуемой группы больных

Характеристики		**Группа А**		**Группа В**		**Группа С**	
		N	%	N	%	N	%
Пол	Мужчины	34	36,2	11	31,4	6	28,6
	Женщины	59	62,8	24	68,6	15	71,4

Продолжение Таблица 4.1 – Характеристика исследуемой группы больных

Характеристики		**Группа А**		**Группа В**		**Группа С**	
		N	%	N		N	%
Возраст	Средний	62,0		65,5		64,0	
	Min – Max	28 - 86		22 - 84		35 - 79	
	≥65 лет	58	61,7	20	57,1	10	47,6
	< 65 лет	36	38,3	15	42,9	11	52,4
ECOG	0	4	4,3	2	5,7	2	9,5
	1	17	18,1	7	20,0	4	19,1
	2	52	55,3	17	48,6	9	42,9
	3	19	20,2	7	20,0	4	19,1
	4	2	2,1	2	5,7	2	9,5
Стадия заболевания	IB	3	3,2	2	5,7	2	9,5
	IIA	7	7,4	3	8,6	1	4,8
	IIB	16	17,0	8	22,9	1	4,8
	III	29	30,9	9	25,7	6	28,6
	IV	39	41,5	13	37,1	11	52,3
Радикальная операция	Да	21	22,3	9	25,7	3	14,3
	Нет	73	77,7	26	74,3	18	85,7
Степень дифференцировки опухоли	Высокая	15	16,0	5	14,3	5	23,8
	Умеренная	57	60,6	24	68,6	14	66,7
	Низкая	22	23,4	6	17,1	2	9,5

Как видно из полученных данных статистически значимых отличий в возрасте, половом соотношении, соматическом статусе, стадии заболевания, степени дифференцировки опухоли между группами не было. При сборе анамнеза установлено, что предшествующая онкологическая патология наблюдалась у 6 (4%) пациентов, наличие онкопатологии в семейном анамнезе у 56 (31,3%), при этом 8 (5,2%) больных сообщали о случаях РПЖ среди родственников, а 15 (10,0 %) имели семейный анамнез рака молочной железы и/или рака яичников.

Именно среди 21 больного группы С (подозрение на семейный раковый синдром, с наличием 2 и более родственника) были выявлены мутации в генах BRCA. Частота относительно всей группы генетически - тестированных больных составила 2/150 (1,3%) носителя мутации BRCA1 5382insC. Ни один из 22 пациентов, обследованных на присутствие аллеля BRCA2 6174delT, не являлся его носителем. Анализ полной нуклеотидной последовательности экзонов гена BRCA2 у 8 больных выявил 1 случай патогенной мутации BRCA2, при этом был обнаружен новый аллель - 5197_5198delTC. Таким образом, частота гетерозиготного носительства относительно группы В составила BRCA1 - 2/56 (3,6%), а BRCA2 – 1/22 (4,6%), итого суммарно – 8,2%. Однако, учитывая тот факт, что все эти больные вошли в группу В (подозрение на семейный раковый синдром), то частота гетерозиготного носительства составляет для BRCA1 – 2/21(9,5%), BRCA2 – 1/21(4,8%). В последней группе частота мутации генов BRCA – 14,3%. Исходя из полученных данных, можно сказать, что при увеличении числа родственников с онкологической патологий, вероятность мутации гена увеличивается, таблица 4.2.

Таблица 4.2

Зависимость частоты мутации в генах BRCA1, BRCA2 от количества родственников с онкологической патологией

Наличие мутации	0 прямых родственников	1 прямой родственник	≥2 родственников
Нет мутации	94	35	18
Есть мутация	0	0	3
Всего	94	35	21

При этом относительный риск составил: относительный риск (ОР) = 0,34 (0,23<ОР<0,49; p=0,047; CI=95.0%).

Примечательно, что обнаруженная нами частота аллеля BRCA1 5382insC превышает таковую в здоровой популяции (1/1007, 0.09%), что подтверждает роль дефектов BRCA1 в формировании предрасположенности к РПЖ.

Как уже указывалось в группу С вошли пациенты от 36 до 79 лет, при этом средний возраст составил 63,6 ± 12,65 года (57,8 – 69,3; доверительный интервал - 95%). Медиана выживаемости составила 3,4 месяца (2,08 ÷ 7,06; CI-95%), распределение больных представлено на рисунке 11.

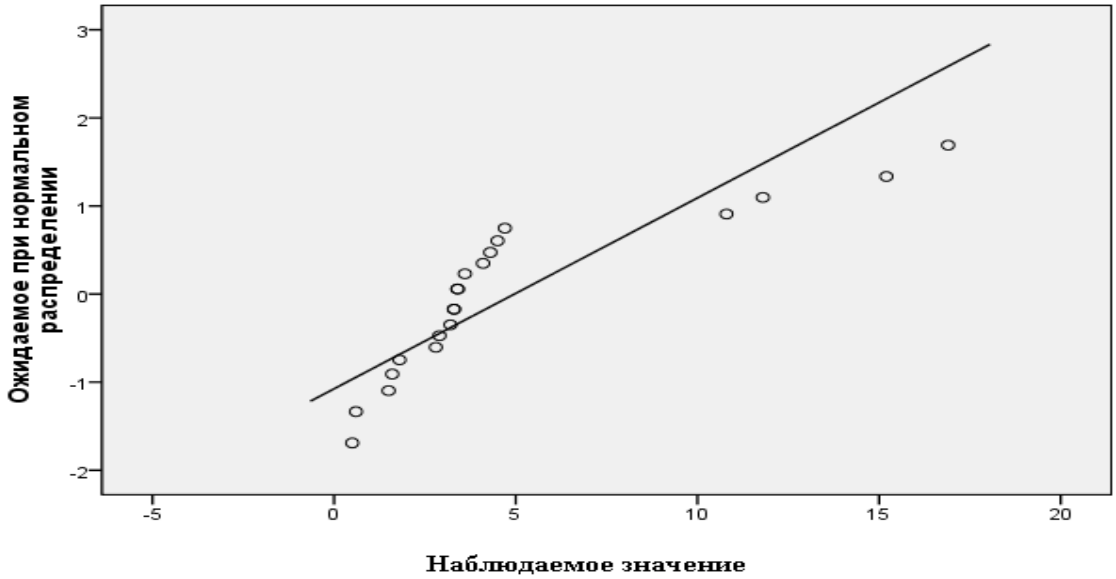


Рис. 11. Распределение (Q-Q) выживаемости больных группы С

Данный график показывает нормальное распределение выживаемости больных в группе В.

Далее приводится описание 3 пациентов – носителей мутаций в генах BRCA1 и BRCA2.

Глава 4.2 Клиническая характеристика носителей мутации генов BRCA. Опыт применения специфической химиотерапии.

Клинический случай 1

Пациент Ф., 79 лет. Диагноз: Рак головки поджелудочной железы T2N1M0, IIB стадия. Образование размерами 1,8×2,0 см. Уровень CA 19-9 – 24,1 Ед/мл. Гистологическая структура: умереннодифференцированная аденокарцинома из протокового эпителия. Наличие BRCA1 5382insC мутации. Из анамнеза: на учете у онколога не состоял, среди родственников у дочери (носитель BRCA1 мутации) и родной сестры установлен диагноз рак молочной железы (Рисунок 12). Химиотерапия не проводилась, так как общее состояние больного было тяжелым и соответствовало ECOG – 3 балла. Пациент погиб от нарастающей полиорганной недостаточности. Продолжительность жизни составила 4,8 месяца.

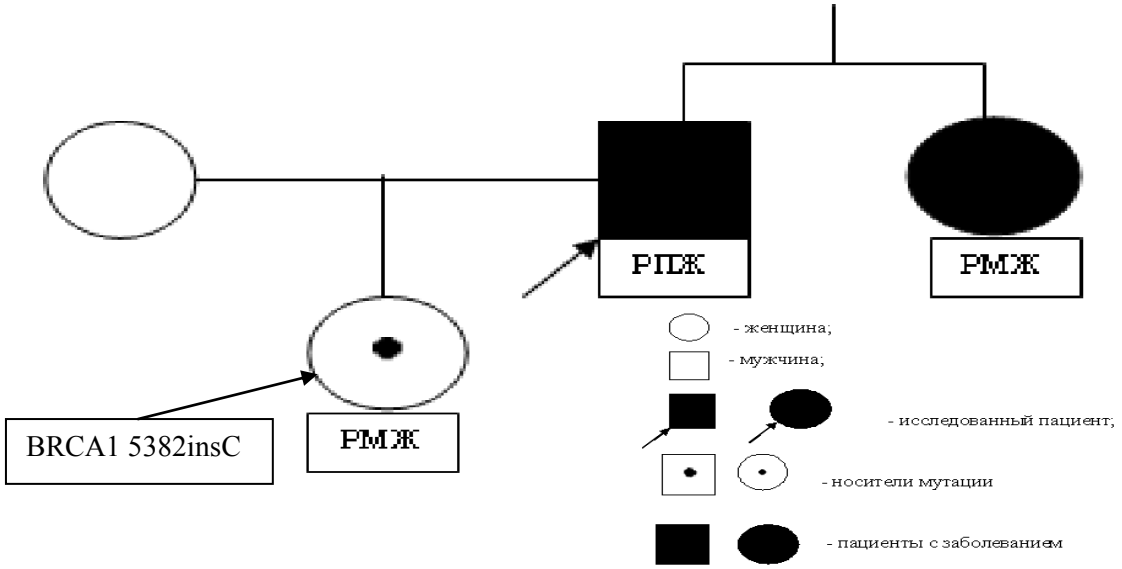


Рис. 12. Схематическое изображение родословной пациента Ф

Примечание: РПЖ – рак поджелудочной железы; РМЖ – рак молочной железы

Клинический случай 2

Пациентка Ч., 36 лет. Диагноз: Рак головки поджелудочной железы $T_4N_1M_{1(hepar)}$, IV стадия. Размеры образования 4,2×3,8см. Гистологическая структура: умереннодифференцированаая аденокарцинома. Наличие BRCA1 5382insC мутации. Онкологических заболеваний не было. Семейный анамнез по отцовской линии собрать не удалось. Со стороны матери у деда рак поджелудочной железы, у его родного брата рак пищевода, у 2 родных сестер рак молочной железы (Рисунок 13). Химиотерапия не проводилась, так как состояние

больного было тяжелым и соответствовало ECOG – 3 балла. Продолжительность жизни составила 2,6 месяца.

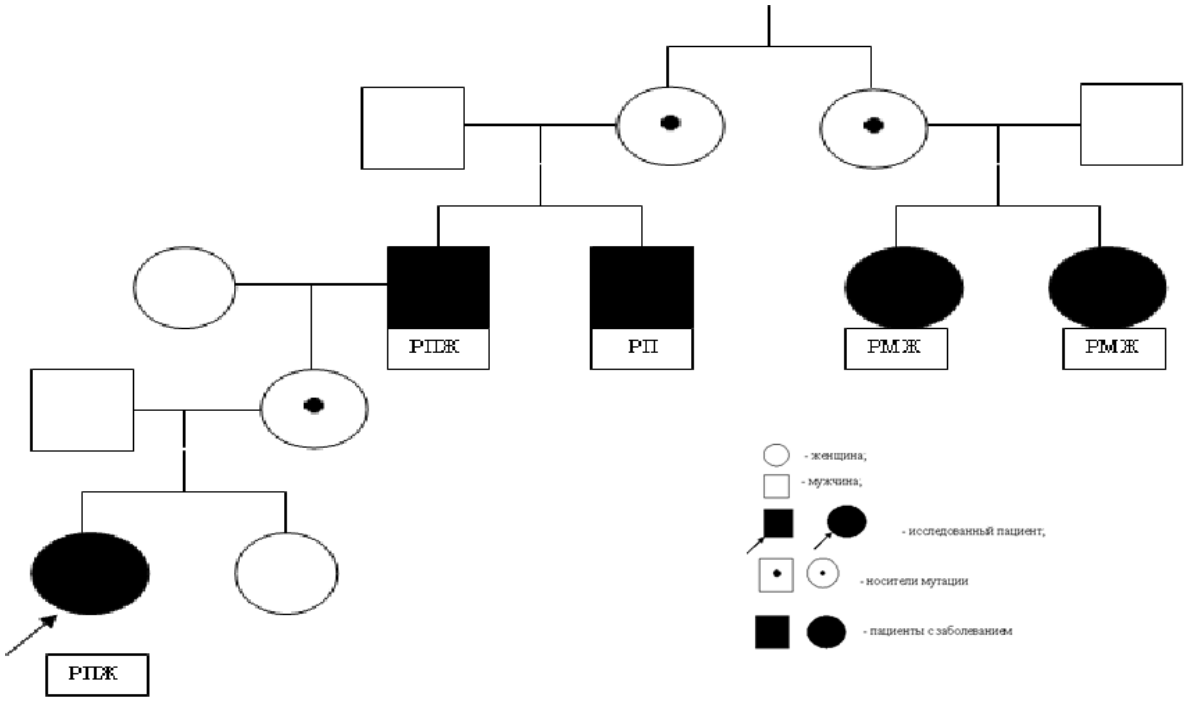


Рис. 13. Схематическое изображение родословной пациента Ч

Примечание: РПЖ – рак поджелудочной железы; РМЖ – рак молочной железы; РП – рак пищевода

Клинический случай 3.

Пациент Н., 59 лет. Диагноз: Первично- множественный метахронный рак: 1) Рак предстательной железы $T_{3b}N_1M_1$, метастазы в костях, лимфоузлах таза; 2) Рак поджелудочной железы $T_4N_1M_1$, метастазы в печень, легкие. Из анамнеза жизни известно, что с 2011 года установлен диагноз сахарный диабет тип II с потребностью в инсулине. В январе 2011 года выявлен рак предстательной железы (при гистологическом исследовании ацинарная аденокарцинома). Больному проводилась гормонотерапия фирмагоном (Дегареликс™) был полный ответ, отмечено снижение простатического специфического антигена. Из семейного анамнеза известно о наличии у дяди рака языка, а у бабушки - рак желудка (Рисунок 14).

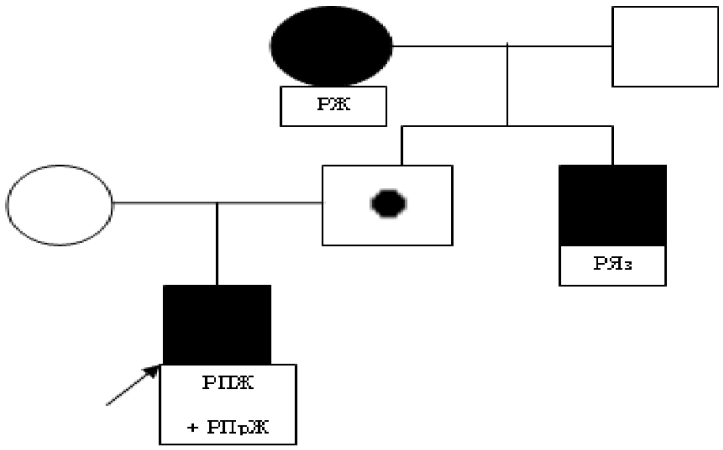


Рис. 14. Схематическое изображение родословной пациента Н

Примечание: РПЖ – рак поджелудочной железы; РПрЖ – рак предстательной железы; РЖ – рак желудка; РЯз – рак языка

При компьютерной томографии выполненной в июне 2012 года выявлено образование головки ПЖ 5,1×3,5см, метастазы в печени и легких. Гистологическая структура: умереннодифференцированная дуктальная аденокарциома. При сопоставлении с опухолью предстательной железы, морфологического сходства не выявлено. Уровень CA 19-9 на момент постановки диагноза – 272,2 Ед/мл. Общее соматическое состояние по шкале ECOG – 1 балл. В августе выполнен курс химиотерапии FOLFIFRINOX (оксалиплатина 85 мг/м^2 в 1й день цикла в течение 3 часов + иринотекан 180 мг/м^2 + лейковорин 400 мг/м^2 в течение 2 часов, 5-фторурацил 400 мг/м^2 введено внутривенно струйно и 5-фторурацил 2400 мг/м^2 внутривенно капельно в течение 46 часов). При компьютерной томографии отмечено увеличение размеров опухоли поджелудочной железы менее чем 20%, новых метастатических очагов выявлено не было, поэтому ответ по критериям RECIST признан как стабилизация. Однако после второго курса значительно увеличился уровень CA19-9 (3199,6 Ед/мл), в связи с чем решено начать вторую линию химиотерапии цисплатином в монорежиме 100 мг/м^2. Проведен 1 цикл, однако через 3 недели после введения препарата у пациента развились симптомы механической желтухи, вырос уровень CA19-9 (4458,5 Ед/мл) (Рисунок 15). Эти симптомы были расценены как

клинические признаки прогрессирования заболевания. Выполнено стентирование желчных протоков, начата химиотерапия третьей линии хлорамбуцилом 12 мг/м^2. На фоне лечения в течение первого месяца наблюдалось снижение уровня маркера, однако, к концу второго месяца приема препарата показатель снова вырос, а при КТ отмечено прогрессирование в виде появления метастазов в забрюшинных лимфоузлах. С декабря 2012г, на фоне продолжения приема хлорамбуцила, начата четвертая линия химиотерапии митомицином С в дозе 10мг/м^2 раз в 28 дней. При этом отмечено значительное и быстрое снижение уровня CA19-9 (до 584,6 Ед/мл), а по данным КТ выявлено уменьшением опухоли и забрюшинных лимфоузлов менее 30%, т.е. по критериям RECIST - стабилизация (Рисунок 16). Однако после четвертого цикла химиотерапии при контрольном обследовании зафиксировано прогрессирование заболевания, таким образом, самое продолжительное время до прогрессирования (4 мес.) наблюдалось при химиотерапии митомицином С. Общая продолжительность жизни больного составила 8,8 месяцев.

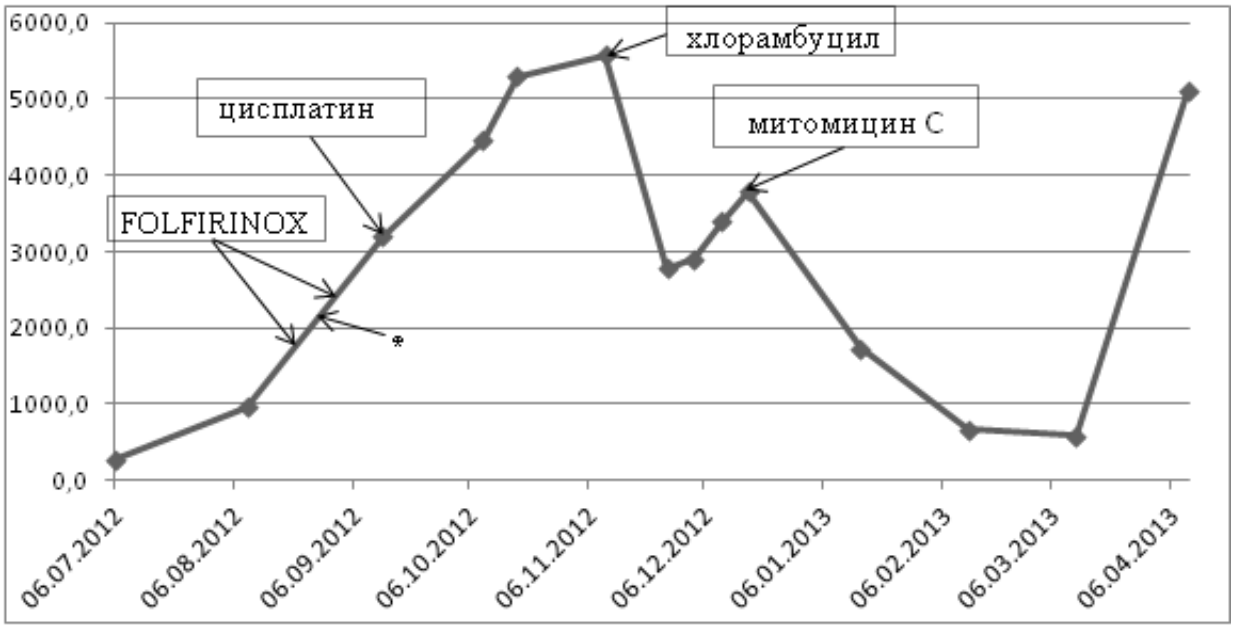


Рис. 15. Изменения уровня CA 19-9 в зависимости от схемы химиотерапии

Примечание: стрелками отмечено назначения химиотерапевтического агента.
*- дата выявления мутации гена BRCA2, 31.08.2012.

Таким образом, последний случай показал, что стандартная схема химиотерапии (FOLFIRINOX), была не эффективна, отмечалось увеличение уровня CA 19-9, а также появление новых очагов по МСКТ. При назначении ДНК- повреждающих агентов, особенно митомицина С, отмечалась стабилизация процесса, а период до прогрессирования составил 4,1 месяца.

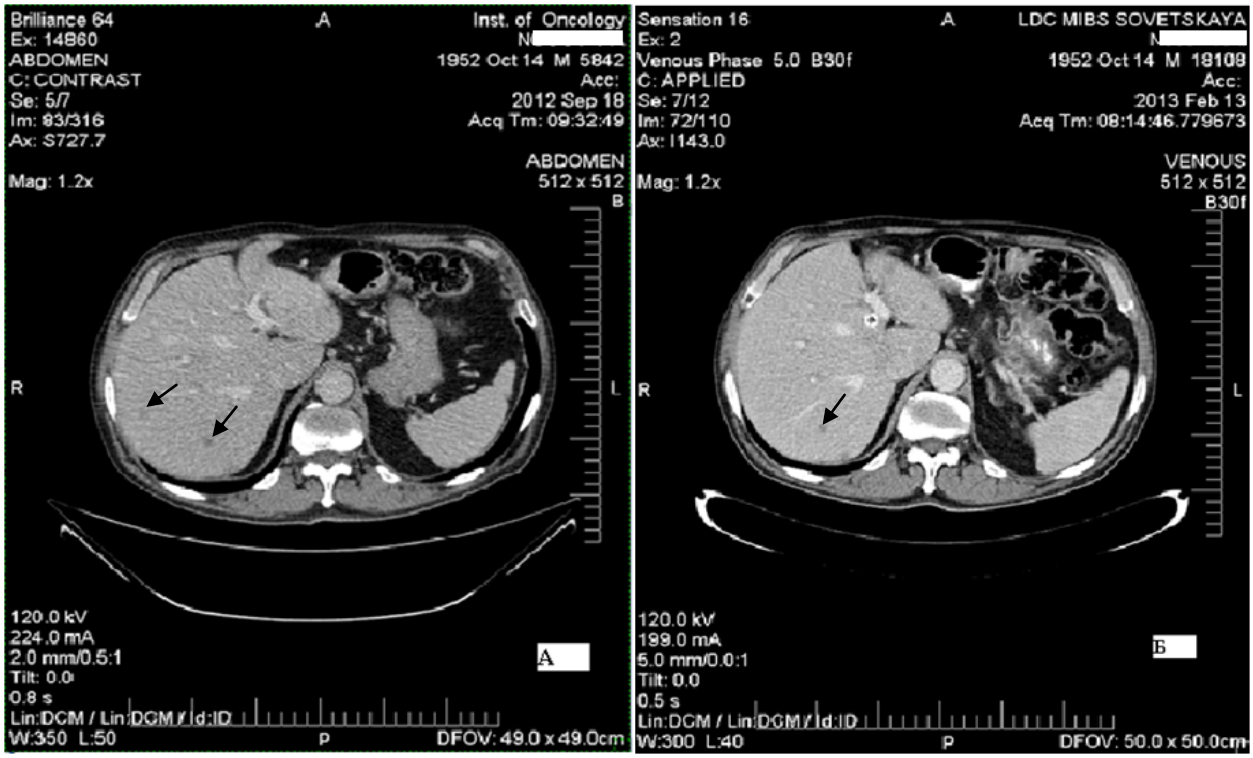


Рис. 16. Компьютерные томограммы пациента Н в динамике

Примечание: стрелками отмечены вторичные очаговые образования: А- сентябрь 2012, Б- февраль 2013.

Как видно из представленных томограмм, на фоне применения митомицина не наблюдалось появления новых метастатических очагов в печени, а наоборот имелась тенденция к их уменьшению, поэтому результат применения ДНК-повреждающего препарата был расценен как стабилизация.

Глава 4.3 Анализ частоты мутации гена PALB2

Для проведения этого исследования были выбраны пациенты с наличием среди прямых родственников больных раком поджелудочной железы. Основной

идеей стало выявление семейной формы РПЖ, однако среди 7 тестируемых образцов не было выявлено мутации.

Глава 4.4 Анализ экспрессии генов KRAS, маммаглобина, PSCA, CDX2, CDH17, F5, LIPF, UGRP, UPK2, TG

Определение экспрессии этих генов имеет огромное значение, так как в 3-5% случаев при выявлении вторичных очаговых образований, первичная локализация опухоли остается неизвестна. При РПЖ наблюдается отдаленное метастазирование даже при размере опухоли от 0,5см, что ухудшает прогноз лечения больного. Данное предположение доказано и нашим исследованием, на рисунке 5 представлена зависимость выживаемости больных от размера опухоли. Выявление такого небольшого новообразования с помощью инструментальных методов не всегда возможно, поэтому было определено наличие мутации KRAS и оценена экспрессия РНК PSCA, CDX2, CDH17, F5, LIPF, UGRP, UPK2, TG, LPB, SPB, маммаглобина в первичной опухоли отдаленных метастазах. Таким образом, осуществлялась оценка экспрессии РНК генов, специфичных для злокачественных образований различных локализаций. Это выполнено с целью формирования диагностической панели для выявления первичной локализации опухоли, частота положительных ответов представлена в таблице 3.11.

Таблица 3.11

Оценка онкомаркеров

Онкомаркеры	Всего выполнено анализов	Есть мутация/экспрессия, n (%)	Нет мутации/экспрессии, n (%)
KRAS	19	13 (68,4)	6 (31,6)
PSCA	9	5 (55,6)	4 (44,4)
CDX2	15	6 (40,0)	9 (60,0)
CDH17	15	9 (60,0)	6 (40,0)
F5	9	1 (11,1)	8 (88,9)
LIPF	10	3 (30,0)	7 (70,0)
UGRP	14	0	14 (100,0)
UPK2	14	2 (10,2)	12 (85,7)
TG2	14	3 (21,4)	11 (78,6)
LPB	15	1 (6,7)	14 (93,3)
SPB	16	4 (25,0)	12 (75,0)
маммаглобин	15	0	15 (100.0)

Частота KRAS – 13 (68,4 %), PSCA – 5 (55,6 %), CDX2 – 6 (40,0 %), CDH17 – 9 (60,0 %), F5 – 1 (11,1 %), LIPF – 3 (30,0%), UGRP – 0, UPK2 – 2 (10,2 %), TG – 3 (21,4 %), LPB – 1 (6,7%), SPB – 4 (25,0%), маммаглобин – 0. Наличие экспрессии РНК различных генов говорит о генетической гетерогенности метастазов рака поджелудочной железы. Более того, наличие экспрессии SPB, LPB, UPK2, UGRP, LIPF говорит о появлении новых функциональных характеристик раковых клеток. Чаще всего наблюдались положительные результаты для KRAS (68,4%), CDH 17 (60,0%), PSCA (55,6%) и CDX2 (40,0%). При этом у 2 пациентов с хроническим панкреатитом, которым проводилось исключение рака поджелудочной железы, мутации в гене KRAS не было выявлено. Используя комбинацию этих 4 генов, в случае, когда имеются

отдаленные метастазы РПЖ, а первичный очаг с помощью различных методов не определяется, с чувствительностью 61,3%, можно подтвердить диагноз.

Таким образом, молекулярно – генетические маркеры позволяют подтвердить диагноз рака поджелудочной железы, в случае не эффективности инструментальных методов. Данная методика должна активно применяться не только среди карцином с неизвестной первичной локализацией, а также и среди пациентов групп риска с экзогенными (сахарный диабет) и эндогенными (наличие 2 и более родственников с онкологическими заболеваниями) предрасполагающими факторами.

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Диагностика и лечение рака поджелудочной железы представляет собой одну из актуальных проблем современной онкологии. Среди причин онкологической смертности, заболевание занимает 4 – 5 место, что связано с быстро наступающей диссеминации процесса. По разным данным от 40 до 80% больных, на момент установления диагноза уже имеют отдаленные метастазы, поэтому частота радикальных оперативных вмешательств редко превышает 20%, при этом, более чем у трети больных в течение года развивается рецидив заболевания [Ferlay J., et al., 2007, Greer J., et al, 2007; Philip P.A. 2008].

Чувствительность опухоли к химиотерапии не превышает 40%, поэтому основным методом лечения остается хирургический. При этом пятилетняя выживаемость больных остается менее 5%, при комбинированном лечении наблюдается незначительное улучшение результатов, но эффективность наблюдается только в 25 – 40% случаев. Поэтому все исследователи считают, что решение проблемы в ранней диагностике и применении новых химиотерапевтических препаратов и схем (Oettle H., et al., 2007; Neoptolemos J.P., et al., 2010).

В данной работе был выполнен анализ клинической картины заболевания, оценена чувствительность диагностических методов, исследованы результаты лечения рака поджелудочной железы. Используя показатели онкомаркеров, принята попытка прогнозировать течение заболевания. С помощью генетических методов оценена экспрессия и наличие мутации в различных генах для составления диагностической панели и подтверждения диагноза. Также выделены отдельные формы РПЖ и выработаны рекомендации по выявлению и лечению данной группы больных.

Исследовано 257 больных, средний возраст составил 62,4 ± 18,2 (22 – 87) лет, при этом пациенты пожилого возраста наблюдались в 73,6% (n-189). Соотношение по полу выглядело следующим образом: мужчины – 99 (38,3%),

женщины – 158 (61,5%). В целом клинические характеристики группы не отличался от данных других авторов (Мерабишвили В.М., 2006; Чисов В.И., и соавт., 2010; Jemal A., et al., 2010; Siegel R., et al., 2011).

На момент установления диагноза общий соматический статус в 58,8% (n=121) по шкале ECOG равнялся 2 баллам, то есть больные не могли работать, но способны были полностью себя обслуживать. Состояние пациентов утяжелял и тот факт, что основным симптомом заболевания была механическая желтуха (84,7%). На момент поступления в стационар общее состояние больных зачастую оценивалось не ниже чем среднетяжелое. Также наблюдались следующие симптомы: болевой – 69,4%, снижение массы тела – 45,1%, диспептический синдром – 6,8%.

По данным зарубежной литературы более чем в 60% случаев у пациентов со злокачественной опухолью поджелудочной железы имеет место нарушение углеводного обмена (Everhart J., et al., 1995; Fisher W.E., et al., 1998; Chari S.T., et al., 2008). Исследовав 183 пациента, установили, что в 72,7% случаев имеется изменения углеводного обмена, а сахарный диабет был у 36,8%, причем у 28 (15,3%) больных наблюдался впервые выявленный СД. Среднее время, прошедшее между выявлением этих двух заболеваний составило - 15,75 ± 13,1мес ($p < 0,05$). В 15,3% случаев среди всех больных РПЖ первым симптомом был сахарный диабет, причем развился он в среднем за полтора года до появления основных симптомов. Средний возраст в исследуемой группе составил 52,1 ± 16,9 лет. Стоит отметить, что при сборе семейного анамнеза отмечалась высокая частота прямых родственников с онкопатологией (55,7%) и низкая с сахарным диабетом (8,2%).

При установлении диагноза, опухоль локализовалась в следующих отделах: головка – 70,8%, крючковидный отросток – 7,4%, тело – 15,2%, хвост – 6,6%.

При оценке чувствительности различных диагностических методов, выявлено, что наиболее информативными методами были: эндоскопическое ультразвуковое исследование – 92,4%, магнитно-резонансная томография с холангиопанкреатографией - 92,7% и спиральная компьютерная томография с

контрастированием – 91,8%. Стоит отметить, что чувствительность МСКТ без применения внутривенного контраста, сразу снижается до 88,9%. Наименьшая чувствительность наблюдалась при ультразвуковом исследовании – 80,2%. Наилучшие результаты при выявлении регионарной лимфоаденопатии и отдаленного метастазирования были получены, при использовании СКТ с контрастированием - 87,5% и 92,4% соответственно. При комбинировании методов была достигнута общая чувствительность 95,7%.

Использование онкомаркера CA 19-9 показало чувствительность 71,7%. Для оценки его эффективности был выполнен анализ взаимосвязи уровня карбогидратного антигена и размера опухоли, стадии заболевания, степени дифференцировки. Во всех случаях отмечена доказанная непараметрическим методом Спирмена корреляция показателей: r = 0,418, 0,543 и 0,317 соответственно. При оценке взаимосвязи гистологического результата и CA 19-9 отмечена наименьшая взаимосвязь, однако статистически значимая, из чего можно сделать вывод, что распространенность заболевания влияет больше на уровень маркера, чем степень дифференцировки опухоли. Также произведен анализ взаимосвязи уровня маркера, резектабельности новообразования и выживаемости больных. Во всех случаях получено статистически достоверная корреляция (r=0,37; p=0,01). Наши данные в целом не противоречат данным литературы (Matthew H.G., et al., 2010; Ballehaninna U.K., Chamberlain R.S., 2011; Hoskowec D., et al., 2012).

При анализе радикального хирургического метода лечения, были получены следующие результаты. Медиана выживаемости больных составила 11,1 ± 1,78 месяца, время до рецидива - 8,9 ± 2,3 месяца. Резектабельность - 30,4%. Частота послеоперационных осложнений – 39,7 %, а летальность – 7,7 %. На выживаемость радикально оперированных больных влияли размер опухоли, степень её дифференцировки и стадия заболевания, причем при сравнении медиан выживаемость для вышеперечисленных параметров, наибольшая наблюдалась при IB стадии (36,2 ÷ 13,15 мес), это показывает, что выявление РПЖ на ранней стадии позволит улучшить результаты лечения.

Средняя продолжительность жизни при использовании химиотерапии составила 3,2 ± 0,7 месяца. При назначении тегафура, по критериям RECIST во всех случаях наблюдалось прогрессирование. При применение гемцитабина полного ответа не отмечено, только в 18,7% (n-3) - частичный, в 25% (n-4) – стабилизация, в оставшихся 56,3% наблюдалось прогрессирование заболевания. Очевидным плюсом применения последнего агента была меньшая токсичность по сравнению с тегафуром.

Довольно неожиданный результат был получен при анализе распространенности мутаций генов BRCA1 и BRCA2 среди больных РПЖ. Учитывая данные зарубежной литературы, частота носительства дефектов в них среди больных РПЖ низкая, даже в случае семейной формы этого заболевания (Axilbund J.E., et al., 2009; Couch F.J., et al.,2007; Murphy K.M., et al., 2002). Однако согласно Breast Cancer Linkage Consortium, риск развития РПЖ у этих больных выше в 2 раза относительно общей группы. В работе впервые проведен анализ распространенности генов BRCA1 и BRCA2 у больных раком поджелудочной железы на территории г. Санкт – Петербурга и Ленинградской и области. Носительство данных дефектных генов характерно для семейных форм онкологических заболеваний, поэтому в период с 2009 по сентябрь 2011 года, когда исследование осуществлялось, не учитывая наследственный фактор, не было выявлено ни одного носителя. Все 3 пациента выявлены при исследовании по наличию признака имеющихся злокачественных заболеваний в семье. Анализ историй болезни и семейного анамнеза установил наличие в исследованной группе 6 (4%) пациентов с первично-множественным раком и 56 – с семейным онкологическим анамнезом; при этом 12 (8%) больных сообщали о случаях РПЖ у родственников, а 15 (10%) имели семейный анамнез РМЖ и/или РЯ. Нами были выявлены 2/150 (1,3%) носителя мутации BRCA1 5382insC. Оба BRCA1-гетерозиготных пациента имели наследственный онкологический анамнез. У одного BRCA1- носителя раком молочной железы были больны сестра и дочь, последняя также носитель BRCA1 мутации; у другого - двоюродные бабушки страдали РМЖ, а дед по материнской линии - РПЖ. Ни один из 22 пациентов,

обследованных на присутствие мутации BRCA2 6174delT, не являлся её носителем. Анализ полной нуклеотидной последовательности экзонов гена BRCA2 у 8 больных выявил 1 случай патогенной мутации BRCA2, при этом был обнаружен новый аллель - 5197_5198delTC. У носителя мутации в гене BRCA2 помимо РПЖ был диагностирован рак простаты. При сборе семейного анамнеза данный пациент сообщил о двух дальних родственниках, страдавших онкологическими заболеваниями - раком языка и желудка. При оценке риска развития рака поджелудочной железы при увеличении числа родственников с онкопатологией была получена достоверная закономерность (RR=0,34; 0,23<RR<0,49; p=0,047).

Таким образом, некоторые пациенты с РПЖ действительно являются носителями BRCA- мутаций. Примечательно, что обнаруженная нами частота аллеля BRCA1 5382insC превышает таковую в здоровой популяции (1/1007, 0,09%), что подтверждает роль дефектов BRCA1 в формировании предрасположенности к РПЖ. Тем не менее, скрининг повреждений генов BRCA1 и BRCA2 у больных РПЖ целесообразно ограничить теми пациентами, у которых имеется собственный или семейный анамнез BRCA-ассоциированных опухолей.

В нашем исследовании не удалось выполнить химиотерапию больным с носительством BRCA1 гена, вследствие тяжелого соматического состояния – ECOG 3 балла. Лечение проведено только больному с BRCA2 мутацией, при этом было выполнено 4 курса химиотерапии. Невозможно оценить эффективность специфической химиотерапии на одном больном, но всё-таки некоторые тенденции были отмечены. Несмотря на то, что в качестве первой линии была назначена схема FOLFIRINOX, при применении которой по данным T. Conroy с соавт., 2011, отмечается выживаемость 11,1 месяц, у больного имелось прогрессирование, что доказано как увеличением уровня CA 19-9, так и с помощью спиральной компьютерной томографии. Стабилизация процесса отметилась только при назначении митомицина, что сопровождалось снижением онкомаркера с 4458,5 Ед/мл до 584,6 Ед/мл, а также СКТ. Общая продолжительность жизни от начала ХТ составила 8,8 месяца, а время до

прогрессирования на фоне четвертой линии - 4 месяца. Опираясь на данные литературы, где рекомендуется использовать ДНК – повреждающие агенты, можно сделать вывод, что при наличии мутации в генах BRCA не имеет смысла назначать стандартные схемы химиотреапии (McCabe N., et al., 2005; Imyanitov E.N., Moiseenko V.M., 2011; Tran B., et al., 2012).

Наши результаты, а также данные зарубежной литературы позволяют определить следующий алгоритм отбора пациентов для генетического тестирования на носительство мутаций генов BRCA (Рисунок 17).

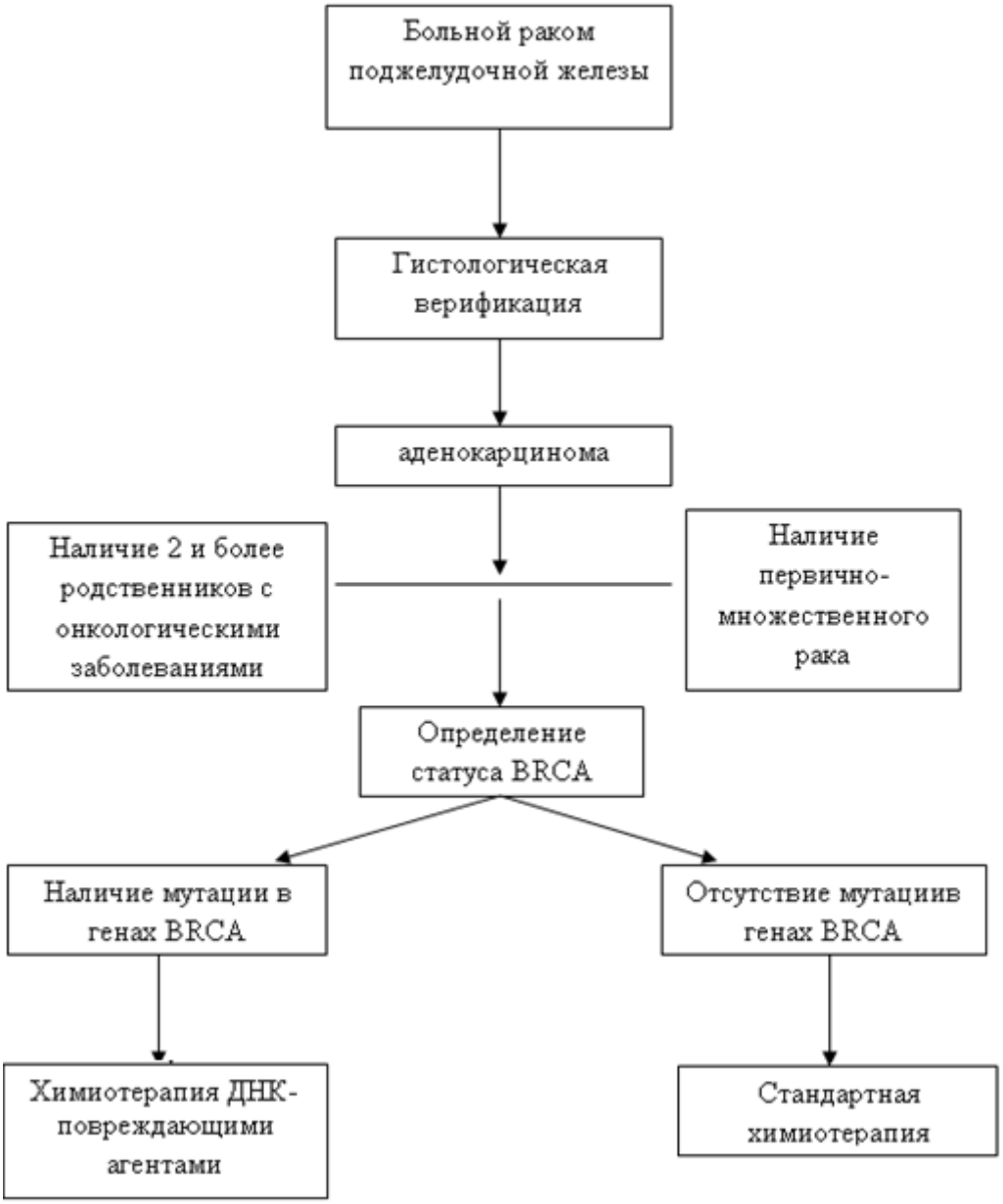


Рис. 17. Алгоритм выбора терапии первой линии больных раком поджелудочной железы на основании генетических маркеров

Результаты распространенности мутации гена PALB2 не было получено положительных результатов. Однако, учитывая частоту мутации по данным зарубежной литературы 2-4%, у нас была слишком маленькая выборка больных (Jones S., et al., 2009; Shi C., et al., 2009; Kumar-Sinha C., et al., 2012).

Последним этапом в исследовании стала попытка создать на основании уровня экспрессии РНК генов, диагностическую панель для карцином с неизвестной первичной локализацией, с целью выявления рака поджелудочной железы. Как было сказано ранее в большинстве случаев на момент установления диагноза РПЖ, имеются отдаленные метастазы. Может быть обратная ситуация, когда выявлены вторичные поражения лимфатических узлов и органов, а первичная опухоль не визуализируется, эта проблема весьма актуальна. В работе были исследованы парафиновые блоки с метастазами аденокарциномы поджелудочной железы. С целью верификации произведена оценка экспрессии РНК, характерных для раков различных локализаций: меланома кожи, молочная железа, легкие, желудок, ободочная кишка, мочевой пузырь, яичники, желчевыводящие протоки. В результате было получено, что чаще всего определялась экспрессия KRAS (68,4%), CDH 17 (60,0%), PSCA (55,6%) и CDX2 (40,0%). При использовании данной панели, достигается чувствительность 61,3%. Однако столь высокая экспрессия мРНК различных генов дает повод заключить, что рак поджелудочной железы, является высоко гетерогенной группой опухолей. Более того, нами было выявлено наличие экспрессии РНК UPK2, LPB, SPB, LIPF, данные маркеры характерны для карцином других локализаций, что указывает на трансформацию генетического аппарата метастазов рака поджелудочной железы и появление у них новых функций.

Ряд авторов указывали на высокую специфичность гена F5, предлагая использовать его для дифференциальной диагностики, однако в проведенном исследовании, частота положительных ответов оказалась низкой и составила 11,1%. Стоит отметить, что и уровень экспрессии TG2, часто рассматривающуюся как маркер внутрипротоковых муцинозных неоплазий, также ниже описываемого в литературе – 21,4% против 39,1%.

Таким образом, можно сделать вывод, что выбранные нами генетические маркеры в клинической практике с целью диагностики рака поджелудочной железы могут использоваться как дополнительный уточняющий метод.

ВЫВОДЫ

1. При раке поджелудочной железы почти у ¾ больных наблюдается нарушение метаболизма углеводов, а сахарный диабет (СД) выявлен более чем у трети пациентов, при этом СД диагностируют в среднем за 15,75 ± 13,1мес ($p<0,05$). При этом отмечается высокая частота наличия прямых родственников с онкологической патологией (55,7%) и низкая - с сахарным диабетом (8,2%). Наибольшей чувствительностью при выявлении рака поджелудочной железы обладают: эндоскопическое ультразвуковое исследование – 92,4%, магнитно-резонансная томография с холангиопанкреатографией - 92,7% и спиральная компьютерная томография с внутривенным контрастированием – 91,8%.

2. Рак поджелудочной железы представляет собой неоднородную группу опухолей, характеризующуюся гетерогенностью экспрессии различных молекулярно - генетических маркеров (KRAS (68,4%), CDH 17 (60,0%), PSCA (55,6%) и CDX2 (40,0%), F5 (11,1%), LIPF (30,0%), UPK2 (10,2 %), TG (21,4 %), LPB (6,7%), SPB (25,0%)). Применение молекулярно – генетических маркеров KRAS (68,4%), CDH 17 (60,0%), PSCA (55,6%) позволяет установить диагноз рак поджелудочной железы с чувствительностью от 40,0% до 68,4%. При наличии отдаленных метастазов и невозможности установить первичную локализацию опухоли, применение диагностической панели, состоящей из KRAS, CDH 17, PSCA и CDX 2 с чувствительностью 61,3% позволяет подтвердить её наличие в поджелудочной железе.

3. При уровне онкомаркера CA 19-9 выше 100 Ед/мл отдаленные результаты радикальных операций значительно ухудшаются в обратной зависимости ($r=0,37$; $p=0,01$). При раке поджелудочной железы имеется статистически значимая зависимость между уровнем CA 19-9 и размером опухоли, гистологическим её типом, стадией заболевания ($r=0,418$, 0,543 и 0,317).

4. У больных раком поджелудочной железы редко встречаются мутации в генах BRCA1 (1,3%), BRCA2 (0,67%), при этом не обнаружено ни одного

дефекта в гене PALB2, а также аллеля BRCA2 6174delT. Вероятность выявления дефектных генов BRCA1, BRCA2 увеличивается при наличии 2 и более родственников с онкологическими заболеваниями (относительный риск = 0,34).

5. Применение ДНК – повреждающих препаратов (митомицина) в качестве первой линии химиотерапии при наличии мутации в гене BRCA дает лучшие результаты, чем стандартные схемы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентов старше 50 лет имеющих прямых родственников с онкологической патологией и впервые выявленным сахарным диабетом, необходимо относить к группе риска развития рака поджелудочной железы и активно наблюдать в течение первых 24 месяцев от установления диагноза. При этом для исключения/подтверждения наличия образования целесообразно применять ЭндоУЗИ, МРТ, МСКТ.
2. У больного раком поджелудочной железы, имеющего в семейном анамнезе 2 и более прямых родственников с онкологическими заболеваниями, при назначении химиотерапии необходимо включать в комплекс диагностических мероприятий определение дефектов в генах BRCA1, BRCA2.
3. При наличии мутантных аллелей выше указанных генов следует начинать химиотерапию ДНК – связывающими цитостатиками (например митомицином).
4. На дооперационном этапе с целью прогноза результатов лечения следует выполнять оценку уровня онкомаркера CA 19-9.
5. Для раннего выявления рака поджелудочной железы необходимо применять эндоскопическое ультразвуковое исследование, магнитно-резонансную томографию с холангиопанкреатографией и мультиспиральную компьютерную томографию с контрастированием.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Для дальнейшей рекомендации применения химиотерапии направленной на дефект генетического аппарата злокачественного образования поджелудочной железы необходимо дальнейшее накопления опыта использования подобной тактики.
2. После обработки основных моментов использование подобного подхода позволит увеличить эффективность химиотерапии, а также уменьшить токсический эффект на пациента.
3. Необходима оценка специфичности предложенной молекулярно – генетической панели среди больных хроническим панкреатитом.
4. Практическое внедрение подобных инструментов для скрининга позволит выявлять среди групп риска рак поджелудочной железы на ранних стадиях, что приведет к увеличению выживаемости среди пациентов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Базин, И.С., Соловьяненко, М.А., Насырова, Р.Ю. Лекарственная терапия в современном лечении рака поджелудочной железы// Эффективная фармакотерапия. Онкология, гематология и радиология. – 2011. - №3. – С. 30-34.
2. Борисов В.И. Гемцитабин в лечении рака поджелудочной железы / Бычков М.Б. М.: АР-ТИНФО Паблишинг, 2002. - С. 125-135.
3. Власов, П.В., Котляров, П.М. Комплексная лучевая диагностика забрюшинных опухолей и опухолевидных состояний// Вестник рентгенологии. 1998. №3. С. 30-40.
4. Гарин, А.М., Базин, И.С. Злокачественные опухоли пищеварительной системы. - М.: Медицина, 2003. - 256 с.
5. Данилов М.В., Федоров В.Д. Повторные и реконструктивные операции при заболеваниях поджелудочной железы. - М.: Медицина, 2003. - 423 с.
6. Демин, Д.И., Кралиш, В.В., Минаев, И.И. и соавт. Проблема радикального хирургического лечения больных панкреатодуоденальным раком // Российский онкологический журнал. - 1997. - № 2. – С. 18 - 20.
7. Долгушин, Б.И., Косырев, В.Ю., Синюкова, Г.Т., и соавт. Комплексная диагностика опухолей билиопанкреатодуоденальной зоны // Практическая онкология. – 2004. -Т.5. №2. – С.77-84.
8. Дронов, А.И., Крючина, Е.А., Добуш, Р.Д. Комплексное лечение рака поджелудочной железы // Украинский журнал хирургии. – 2011. - № 4. – С. 20 – 24.
9. Имянитов, Е.Н., Хансон, К.П. Молекулярная онкология: клинические аспекты. – СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2007. – 212с.
10. Котельников, А.Г. Выбор метода лечения больных раком головки поджелудочной железы и периампулярной зоны: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук: 14.00.14. М., 2002. - 34 с.

11. Коханенко, Н.Ю., Игнашов, А.М., Лисочкин, Б.Г., и соавт. Отдаленные результаты хирургического лечения рака поджелудочной железы // Анналы хирургической гепатологии. – 2002. - №1. – С. 37 – 43.

12. Мерабишвили, В.М. Выживаемость онкологических больных. – СПб.: ООО «Фирма КОСТА», 2006. – 440с.

13. Минько, Б.А., Пручанский, В.С., Корытова, Л.И. Комплексная лучевая диагностика заболеваний поджелудочной железы. – СПб: Гиппократ, 2001. – 136с.

14. Павловский, А.В., Гранов, Д.А., Урбанский, А.И., и др. Чрескожная тонкоигольная биопсия в диагностике рака поджелудочной железы // Вопросы онкологии. – 2003. – Т. 49, № 4. – С. 487 - 492.

15. Павловский, А.В. Обоснованние селективной артериальной рентгеноконтрастной масляной химиоэмболизации в лечении рака поджелудочной железы: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук. 14.00.14 / Павловский Александр Васильевич. – СПб., 2006. - 26с.

16. Патютко, Ю.И., Котельников, А.В., Бадалян, Х.В., и соавт. Пути улучшения отдаленных результатов лечения резектабельного рака поджелудочной железы// Вопросы онкологии. – 1998. -Т.44. №5. - С.628-631.

17. Патютко, Ю.И., Котельников, А.В. Лечение больных протоковым раком поджелудочной железы// Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2011. -Т.13, №5. –С. 78 - 81.

18. Путов, Н.В., Артемьева, Н.Н., Коханенко, Н.Ю. Рак поджелудочной железы. – СПб: Питер, 2005. – 395с.

19. Рысс, Е.С., Фишзон-Рысс, Ю.И. Спорное в распознавании и лечении распространенных гепатобилиарных и панкреатических заболеваний // Клиническая медицина. - 1994. - № 2. - С. 71-74.

20. Смирнова. Т.Ю., Поспехова, Н.И., Любченко, Л.Н., и соавт. Высокая частота мутаций в генах BRCA1 и BRCA2 при раке яичников // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2007. - № 7. - С. 93 – 95.

21. Старков, Ю.Г. Лапароскопическое ультразвуковое исследование при очаговых образованиях печени и поджелудочной железы// Анналы хирургической гепатологии. – 2000. - №1. – С.49-58.

22. Трофимов, Е.Ю. Диагностическая пункция под контролем ультразвукового исследования// Визуализация в клинике. – 1998. №13. – С.46-49.

23. Ханевич, М.Д., Манихас, Г.М. Криохирургия рака поджелудочной железы. – СПб.: Аграф +, 2011. – 228с.

24. Харченко, В.П., Галил-Оглы, Г.А., Ингберман, Я.Х., и др. Дооперационная морфологическая диагностика гепатобилиарного и панкреатодуоденального рака // Вестник хирургии. - 1992. - № 6. - С. 293-299.

25. Цыбакова, Н.Ю. Скрининг «повторяющихся» мутаций, ассоциированных с наследственными опухолевыми синдромами и другими моногенными заболеваниями: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. 14.01.12 / Цыбакова Наталья Юрьевна. – СПб., 2012. – 19 с.

26. Чиссов, В.И., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощинаселению России в 2011 году. – М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России, 2012. – 240с.

27. Чиссов, В.И., Давыдов, М.И., Александрова М.Л. Онкология: национальное руководство. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2013. – 519с.

28. Шихман, М.Е. Комбинированное лечение опухолей панкреатодуоденальной зоны, осложненных механической желтухой: автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук : 14.0.14 / Шихман Михаил Евгеньевич. – СПб., 1993. - 48с.

29. Adsay, N.Y., Merati, K., Basturk, O., et al. Pathologically and biologically distinct types of epithelium in intraductal papillary mucinous neoplasms: delineation of an "intestinal" pathway of carcinogenesis in the pancreas // American journal of surgical pathology. – 2004. – Vol. 28. – P. 839 – 848.

30. Agarwal, B., Abu-Hamda, E., Molke, K.L., et al. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration and multidetector spiral CT in the diagnosis of pancreatic cancer // The American journal of gastroenterology. – 2004. – Vol. 99. – P. 844 – 850.

31. Aguirre, A.J., Bardessy, N., Sinha, M., et al. Activated Kras and Ink4a/Arf deficiency cooperate to produce metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma // Genes and development. – 2003. – Vol. 17. – P. 3112 – 3126.

32. Ahmad, N.A., Shah, J.N., Kochman, M.L. Endoscopic ultrasonography and endoscopic retrograde cholangiopancreatography imaging for pancreaticobiliary pathology: the gastroenterologist's perspective// Radiology and clinic of North America. - 2002. Vol. - 40(6). - P. 1377-1395.

33. Akisik, M.F., Sandrasegaran, K., Aisen, A.A., et al. Dynamic secretin-enhanced MR cholangiopancreatography// Radiographics. - 2006. - Vol.26(3). - P.665-677.

34. Alison, P., Klein, A.P., Kieran, A.B., et al. Prospective risk of pancreatic cancer in familial pancreatic cancer kindreds// Cancer Research. - 2004. - Vol. 64. - P. 2634 - 2638.

35. Allema J.H., Reinders M.E., van Gulik T.M. et al. Prognostic factors for survival after pancreaticoduodenectomy for patients with carcinoma of the pancreatic head region // Cancer. 1995. - Vol. 75. - P. 2069-2076.

36. Al-Sukhni, W., Rothenmund, H., Borgida, A.E., et al. Germline BRCA1 mutations predispose to pancreatic adenocarcinoma // Human genetic. - 2008. - Vol. 124. - P. 271 - 278.

37. Aly, M.Y., Tsutsumi, K., Nakamura, M., et al. Comparative study of laparoscopic and open distal pancreatectomy // Journal oflaparoendoscopic and advancedsurgical techniques. – 2010. – Vol. 20. – P. 435 – 440.

38. Andren-Sandberg, A., Dervenis, C., Lowenfels, B. Etiologic lines between chronic pancreatitis and pancreaitic cancer // Scandinavian journal of gastroenterology. - 1997. - Vol. 32. - P. 97-103.

39. Apte, M.V., Wilson , J.S., Lugea, A., et al. A starring role for stellate cells in the pancreatic cancer microenvironment // Gastroenterology. – 2013. – Vol. 144. – P. 1210 – 1219.

40. Aretini, P., D'Andrea, E., Pasini, B., et al. Different expressivity of BRCA1 and BRCA2: analysis of 179 Italian pedigrees with identified mutation // Breast Cancer Research and threatment. - 2003. - Vol. 81. - P. 71 - 79.

41. Ariyama, J. Detection and prognosis of small pancreatic ductal adenocarcinoma // Nihon naika gakkai zasshi. – 1997. – Vol. 98. – P. 592 – 596.

42. Ariyama, J. Magnetic resonance cholangiopancreatography (MRCP) // Nihon naika gakkai zasshi. – 1999. – Vol. 88. – P. 1349 – 1353.

43. van Asperen, C.J., Brohet, R.M., Meijers-Heijboer, E.J., et al. Cancer risks in BRCA2 families: estimates for sites other than breast and ovary // Journal of medical genetic. - 2005. - Vol. 42. - P. 711 - 719.

44. Axilbund, J.E., Argani, P., Kamiyama, M., et al. Absence of germline BRCA1 mutations in Familial Pancreatic Cancer Patients // Cancer Biology and therapy. - 2009. - Vol. 8. - P. 131 – 135.

45. Baba, Y., Nosho, K., Shima, K., et al. Relationship of CDX2 loss with molecular features and prognosis in colorectal cancer // Clinical cancer research. – 2009. – Vol. 15. – P. 4665 – 4673.

Baine, M.J., Chakraborty, S., Smith, L.M., et al. Transcriptional profiling of peripheral blood mononuclear cells in pancreatic cancer patients identifies novel genes with potential diagnostic utility // PLos one. – 2012. – Vol. 6. – P. 1 – 10.

46. Bartsch, D.K., Sina-Frey, M., lang, S., et al. CDKN2A germline mutations in familial pancreatic cancer // Annals of surgery. – 2002. – Vol. 236. – P. 730 – 737.

47. Ballehanina, U.K., Chamberlian, R.S. The clinical utility of serum CA 19-9 in the diagnosis, prognosis and management of pancreatic adenocarcinoma: An evidence based appraisal // Journal of gastrointestinal oncology. – 2012. – Vol. 3. – P. 105 – 119.

48. Bahrenberg, G., Brauers, A., Joost, H.G., et al. Reduced expression of PSCA, a member of the LY-6 family of cell surface antigens, in bladder, esophagus,

and stomach tumors // Biochemical and biophysical research communications. – 2000. – Vol. 275. – P. 783 – 788.

49. Berman, D.M., Karhadkar, S.S., Maitra, A., et al. Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours // Nature. – 2003. – Vol. 425. – P. 846 – 851.

50. Bernhard, J., Dietrich, D., Glimelius, B., et al. Estimating prognosis and palliation based on tumour marker CA 19-9 and quality of life indicators in patients with advanced pancreatic cancer receiving chemotherapy // British journal of cancer. – 2010. – Vol. 103. – P. 1318 - 1324

51. Bilimoria, K.Y., Talamonti, M.S., Sener, S.F., et al. Effect of hospital volume on margin status after pancreaticoduodenectomy for cancer // Journal of the American college of surgeons. – 2008. – Vol. 207. – P. 510 – 519.

52. Binmoeller, K.F. EUS-Guided Drainage of Pancreatic Fluid Collections Using Fully Covered Self-Expandable Metal Stents // Gastroenterology and hepatology. – 2013. – Vol. 9. – P. 442 – 444.

53. Blanchard, D.K., Hartmann, L.C. Prophylactic surgery for women at high risk for breast cancer // Clinical breast cancer. – 2000. – Vol. 1. – 127 – 134.

54. Bonhomme, C., Duluc, I., Martin, E., et al. The Cdx2 homeobox gene has a tumour suppressor function in the distal colon in addition to a homeotic role during gut development // Gut. – 2003. - Vol. 52. – P. 1465 – 1471.

55. Borst, P., Rottenberg, S., Jonkers, J. How do real tumors become resistant to cisplatin? // Cell cycle. 2008. – Vol. 7. – P. 1353 – 1359.

56. Bottger T.C., Storkel S., Wellek S., Stockle M. Factors influencing survival after resection of pancreatic cancer // Cancer. 1994. - Vol. 73, № 1. — P. 63-74.

57. Brand, R.E., Nolen, B.E., Zeh, J.J., et al. Serum biomarker panels for the detection of pancreatic cancer // Clinical cancer research. – 2011. – Vol. 17. – P. 805 – 816.

58. Brose, M.S., Rebbeck, T.R., Calzone, K.A., et al. Cancer risk estimates for BRCA1 mutation carriers identified in a risk evaluation program // Journa of national cancer institute. - 2002. - Vol. 94. - P. 1365 - 1372.

59. Callery, M.P., Chang, K.J., Fishman, E.K., et al. Pretreatment assessment of resectable and borderline resectable pancreatic cancer: expert consensus statement // Annals of surgical oncology. – 2009. – Vol. 16. – P. 1727 – 1733.

60. Cao, D., Maitra, A., Saavedra, J., et al. Expression of novel markers of pancreatic ductal adenocarcinoma in pancreatic nonductal neoplasms: additional evidence of different genetic pathways // Modern pathology. – 2005. – Vol. 18. – P. 752 – 761.

61. Carter, D., Douglass, J.F., Cornellison, C.D., et al. Purification and characterization of the mammaglobin/lipophilin B complex, a promising diagnostic marker for breast cancer // Biochemistry. – 2002. – Vol. 41. – P. 6714 – 6722.

62. Castellanos, J.A., Merchant, N.B. Intensity of Follow-up after Pancreatic Cancer Resection// Annals of surgical oncology. – 2013. – Vol.56. – P. 1137-1141.

63. Cattell, R.B., A technic for pancreatoduodenal resection // The surgical clinics of north America. – 1948. – Vol. 28. – P. 761 – 775.

64. Caturelli E., Rapaccini G.L., Anti M. et al. Malignant seeding after fine-needle aspiration biopsy of the pancreas // Diagn. Imaging Clin. Med. -1985.-Vol. 54. - P. 88-91.

65. Chalasani, P., Kurtin, S., Dragovich, T. Response to a third-line mitomycin C (MMC)-based chemotherapy in a patient with metastatic pancreatic adenocarcinoma carrying germline BRCA2 mutation // Journal of clinical practice. - 2008. - Vol. 9. - P. 305 - 308.

66. Chang, Z., Li, Z., Wang, X., et al. Deciphering the mechanisms of tumorigenesis in human pancreatic ductal epithelial cells // Clinical cancer research. – 2013. Vol. 19. – P. 549 – 559.

67. Chari, S.T., Leibson, C.L. Rabe, K.G., et al. Pancreatic cancer associated with diabetes mellitus, prevalence and temporal association with diagnosis of cancer// Gastroenterology. 2008. - Vol. 134. - P. 95- 101.

68. Cheung, W., Darfler, M.M., Alvarez, H., et al. Application of a global proteomic approach to archival precursor lesions: deleted in malignant brain tumors 1

and tissue transglutaminase 2 are upregulated in pancreatic cancer precursors // Pancreatology. – 2008. – Vol. 8. – P. 608 – 616.

69. Chiang, K., Yeh, C.N., Ueng, SH., et al. Clinicodemographic aspect of resectable pancreatic cancer and prognostic factors for resectable cancer // World journal of surgical incology. – 2012. – Vol. 10. – P. 1 – 9.

70. Child C.G. Pancreaticojejunectomy and other problems associated with pancreas//Ann. Surg. 1994. - Vol. 119.-P. 845-855.

71. Chu, G.C., Kimmelman, A.C., Hezel, A.F., et al. Stromal biology of pancreatic cancer // Journal of Cellular Biochemistry. – 2007. – Vol. 101. – P. 887- 907.

72. Colucci, G., Giuliani, F., Gebbia, V., et al. Gemcitabine alone or with cisplatin for the treatment of patients with locally advanced and/or metastatic pancreatic carcinoma: a prospective, randomized phase III study of the Gruppo Oncologia dell'Italia Meridionale // Cancer. – 2002. – Vol. 94. – P. 902 – 910.

73. Conroy, T., Desseigne, F., Ychou, M., et al. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer// The new England journal of medicine. – 2011. – Vol. 364(19). – P. 1817 – 1825.

74. Corcoran, R.B., Scott, M.P. Oxysterols stimulate Sonic hedgehog signal transduction and proliferation of medulloblastoma cells // PNAS. – 2006. – Vol. 103. – P. 8404 – 8413.

75. Couch, F.J., Johnson, M.R., Rabe, K.G., et al. The prevalence of BRCA2 mutations in familial pancreatic cancer// Cancer epidemiology, biomarkers and prevention. – 2007. – Vol. 16(2). – P. 342 – 346.

76. Couch, F.J., Wang, X., McGuffog, L., et al. Genome-wide association study in BRCA1 mutation carriers identifies novel loci associated with breast and ovarian cancer risk // PLos genetics. – 2013. – Vol. 9. – P. 1- 21.

77. Culleton, J., O'Brien, N., Ryan, B.M., et al. Lipophilin B: A gene preferentially expressed in breast tissue and upregulated in breast cancer // International journal of cancer. – 2007. – Vol. 120. – P. 1087 – 1092.

78. Cullinan, S.A., Moertel, C.G., Fleming, T.R., et al. A comparison of three chemotherapeutic regimens in the treatment of advanced pancreatic and gastric

carcinoma. Fluorouracil vs fluorouracil and doxorubicin vs fluorouracil, doxorubicin, and mitomycin // JAMA. – 1985. – Vol. 253. – P. 2061 – 2067.

79. Cunningham, D., Chau, I., Stocken, D.D., et al. Phase III randomized comparison of gemcitabine versus gemcitabine plus capecitabine in patients with advanced pancreatic cancer // journal of clinical oncology. – 2009. – Vol. 27. – P. 5513 – 5518.

80. Dagan, E. Predominant Ashkenazi BRCA1/2 mutations in families with pancreatic cancer // Genetic testing. - 2008. - Vol. 12. - P. – 267 - 271.

81. David, B.R., Ruth, L.K., Douglas, B.E., et al. Fine needle aspiration of the pancreas // Journal of clinical cytology and cytopathology. - 1995. - Vol. 39. - P. 1 - 10.

82. Denton K, Cotton D., Nakielny R., Goepel J. Secondary tumor deposits in needle biopsy tracks: An underestimated risk (letter)? // J. Clin. Pathol. -1990.-Vol. 43.-P.83.

83. *Deramaudt, T., Rustgi, A.K.* Mutant KRAS in the initiation of pancreatic cancer // Biochimica et biophysica acta. – 2005. – Vol. 1756. – P. 97 – 101.

84. Deryugina, E.I., Quigley, J.P. Matrix metalloproteinases and tumor metastasis // Cancer metastasis reviews. – Vol. 25. – P. 9 – 34.

85. DeWitt, J., Devereaux, B.M., Lehman, G.A., et al. Comparison of endoscopic ultrasound and computed tomography for the preoperative evaluation of pancreatic cancer: a systematic review// Clinical gastroenterolofy and hepatology. - 2006. - Vol. 4(6). -P. 717- 725.

86. Diener, M.K., Heukaeufur, C., Schwarzer, G., et al. Pancreaticoduodenectomy (classic Whipple) versus pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy (pp Whipple) for surgical treatment of periampullary and pancreatic carcinoma [электронный ресурс]// The Cochrane library. - 2011. – Режим доступа: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/14651858.CD006053.pub4/pdf.

87. DiMagno, E.P., Buxton, J.L. Ultrasonic endoscope // Lancet. – 1980. – Vol. 1. – P. 629 – 631.

88. Di Stasi M., Lencioni R., Solmi L. et al. Ultrasound-guided fine needle biopsy of pancreatic masses: Results of a multicenter study // Am. J. Gastroenterol. 1998. - Vol. 93, №8.-P. 1329-1333.

89. Dodson, L.F., Hawkins, W.G., Goedegebuure, P. Potential targets for pancreatic cancer immunotherapeutics // Immunotherapy. – 2011. – Vol. 3. – P. 517 – 537.

90. Duraker, N., Hot, S., Polat, Y., et al. CEA, CA 19-9, and CA 125 in the differential diagnosis of benign and malignant pancreatic diseases with or without jaundice // Journal of surgical oncology. – 2007. – Vol. 95. – P. 142 – 147.

91. Edge, S.B., Byrd, D.R., Compton, C.C., et al. AJCC cancer staging manual 7th edition. – NY.: Springer, 2010. – 649p.

92. Edwards, S.L, Brough, R. lord, C.J., et al. Resistance to therapy caused by intragenic deletion in BRCA2 // Nature. 2008. Vol. 451. – 1111 – 1115.

93. Egawa, S., Toma, H., Ohigashi, H., et al. Japan Pancreatic Cancer Registry; 30th year anniversary: Japan Pancreas Society // Pancreas. – 2012. – Vol. 41. – P. 585 – 592.

94. Eisenhauer, E., Therasse, P., Bogaerts, J., et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1) // European journal of cancer. – 2009. – Vol. 45. – P. 228 – 247.

95. Erkan, M., Adler, G., Apte M.V., et al. StellaTUM: current consensus and discussion on pancreatic stellate cell research // Gut. – 2012. – Vol. 61. – P. 172 – 178.

96. Evans, J.D., Morton, D.G., Neoptolemos, J.P. Chronic pancreatitis and pancreatic carcinoma // Postgraduate medical journal. - 1997. - Vol. 73. - P. 543-548.

97. Everhart, J., Wright, D. Diabetes mellitus as a risk factor for pancreatic cancer. A meta-analysis // JAMA. - 1995. - Vol. 273. - P. 1605- 1609.

98. Feldman, G., Habbe, N., Dhara, S., et al. Hedgehog inhibition prolongs survival in a genetically engineered mouse model of pancreatic cancer // Gut. – 2008. – Vol. 57. – P. 1 – 22.

99. Ferlay, J., Parkin, D.M., Steliarova – Foucher, E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008 // European journal of cancer. – 2010. – Vol. 46. – P. 765 – 781.

100. Ferrone, C.R., Levine, D.A., Tang, L.H., et al. BRCA germline mutations in jewish patients with pancreatic adenocarcinoma // Journal of clinical oncology. - 2009. - Vol. 27. - P. 433 - 438.

101. Fine, R.L., Fogelman, D.R., Schreibman, S.M., et al. The gemcitabine, docetaxel, and capecitabine (GTX) regimen for metastatic pancreatic cancer: a retrospective analysis // Cancer chemotherapy and pharmacology. – 2007. – Vol. 61. – P. 167 – 175.

102. Fitzmaurice, C., Seiler, C.M., Buchler, M.W., et al. Survival, mortality and quality of life after pylorus-preserving or classical Whipple operation. A systematic review with meta-analysis// 2010. – Vol. 81(5). – P. 454-471.

103. Fleming, J.B., Shen, G.L., Holloway, S.E., et al. Molecular consequences of silencing mutant K-ras in pancreatic cancer cells: justification for K-ras-directed therapy// Molecular cancer research. – 2005. – Vol. 3. – P. 413 – 423.

104. Fong, L., Small, E.J. Anti-cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 antibody: the first in an emerging class of immunomodulatory antibodies for cancer treatment // Journal of clinical oncology. – 2008. – Vol. 26. – P. 5275 – 5283.

105. Fornari, F., Buscarini, L. Ultrasonically-guided fine-needle biopsy of gastrointestinal organs: Indications, results and complications // Dig. Dis. - 1992. Vol. 10.-P. 121-133.

106. Fortner, J.G., Klimstra, D.S., Senie, R.T., et al. Tumor size is the primary prognosticator for pancreatic cancer after regional pancreatectomy// Annals of surgery. – 1996. – Vol. 223. – P.147 - 153.

107. Fritz, S., Hackert, T., Hinz,U., et al. Role of serum carbohydrate antigen 19-9 and carcinoembryonic antigen in distinguishing between benign and invasive intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas // The British journal of surgery. – 2011. – Vol. 98. – P. 104 – 110.

108. Gabata T., Matsui O., Kayahara M. Small pancreatic adenocarcinomas efficacy of MR imaging with fat suppression and gadolinium enhancement // Radiology. 1994. - Vol. 193. - P. 683-688.

109. Gagner, M., Pomp, A. Laparoscopic pylorus-preserving pancreatoduodenectomy // Surgical endoscopy. – 1994. – Vol. 8. – P. 408 – 410.

110. Ghaneh, P., Costello, E., Neoptolemos., J.P. Biology and management of pancreatic cancer// Gut. – 2007. – Vol. 56. – P. 1134 – 1152.

111. Ghiorzo, P., Fornarini, G., Sciallero, S., et al. CDKN2A is the main susceptibility gene in Italian pancreatic cancer families // Journal of medical genetic. - 2012. - Vol. 49. - P. 164 - 170.

112. Ghiorzo, P., Pensotti, V., Fornarini, G., et al. Contribution of germline mutations in the BRCA and PALB2 genes to pancreatic cancer in Italy // Familial cancer. - 2012. - Vol. 11. - P. 41-47.

113. Glanemann, M., Shi, B., Liang, F., et al. Surgical strategies for treatment of malignant pancreatic tumors: extended, standard or local surgery? // World journal of surgical oncology. – 2008. – Vol. 6. – P. 1 – 10.

114. Goonetilleke, K.S., Siriwardena, A.K. Systematic review of carbohydrate antigen (CA 19-9) as a biochemical marker in the diagnosis of pancreatic cancer // European journal of surgical oncology. – 2007. – Vol. 33. – P. 266 – 270.

115. Gourgou – Bourgade, S., Bascoul – Mollevi, C., Desseigne, F., et al. Impact of FOLFIRINOX Compared With Gemcitabine on Quality of Life in Patients With Metastatic Pancreatic Cancer: Results From the PRODIGE 4/ACCORD 11 Randomized Trial// Journal of clinical oncology. – 2013. – Vol. 31(1). – P. 23 – 29.

116. Greenhalf, W., Neoptolemos., J.P. Increasing survival rates of patients with pancreatic cancer by earlier identification// Nature. Clinical practice: oncology. – 2006. – Vol. 3. – P. 346 – 347.

117. Greer, J.B., Brand, R.E. Screening for pancreatic cancer: current evidence and future directions // gastroenterology and hepatology. – 2007. – Vol. 3 – P. 929 – 938.

118. Greer, J.B., Whitcomb, D.C. Role of BRCA1 and BRCA2 mutations in pancreatic cancer // Gut. – 1007. – Vol. 56. – P. 601 – 605.

119. Grünewald, K., Haun, M., Urbanek, M., et al. Mammaglobin gene expression: a superior marker of breast cancer cells in peripheral blood in comparison to epidermal-growth-factor receptor and cytokeratin-19 // Labarotory investigation. – 2000. – Vol. 80. – P. 1071 – 1077.

120. Hackert, T., Hinz, U., Hartwig, W., et al. Pylorus resection in partial pancreaticoduodenectomy: impact on delayed gastric emptying // American journal of surgery. – 2013. – Vol. 206. – P. 296 – 299.

121. Hagmann, W., Jesnowski, R., Löhr, J.M. Interdependence of gemcitabine treatment, transporter expression, and resistance in human pancreatic carcinoma cells // Neoplasia. – 2010. – Vol. 12. – P. 740 – 747.

122. Hall, M.D., Okabe, M., Shen, D.W., et al. The role of cellular accumulation in determining sensitivity to platinum-based chemotherapy // Pharmacology and toxicology. – 2008. – Vol. 48. – P. 495 – 535.

123. Halm, U. Perioperative CA19-9 levels can predict stage and survival in patients with resectable pancreatic adenocarcinoma // Journal of clinical oncology. – 2006. – Vol. 24. – P. 5611.

124. Hanahan, D., Folkman, J. Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis // Cell. – 1996. – Vol. 86. – P. 353 – 364.

125. Hanyu F., Imaizumi T. Extended radical surgery for carcinoma of the pancreas // In: Beger H.G., Biicher M.W., Schoenberg M.H (eds): Cancer of the pancreas. Ulm., Universitatsverlag Ulm. - 1996. - P. 389-395.

126. Haroon, Z.A., Lai, T.S., Hettasch, J.M., et al. Tissue transglutaminase is expressed as a host response to tumor invasion and inhibits tumor growth // Labarotory investigation. – 1999. – Vol.79. - P. 1679–1686.

127. Harrinck, F., Kluijt, I., van Mil, S.E., et al. Routine testing for PALB2 mutations in familial pancreatic cancer families and breast cancer families with pancreatic cancer is not indicated // European journal of human genetics.- 2012. – Vol. 20. – P. 577 – 579.

128. Hartel, M., Niedergethmann, M., Farag-Soliman, M., et al. Benefit of venous resection for ductal adenocarcinoma of the pancreatic head // The European journal of surgery. – 2002. – Vol. 168. – P. 707 -712.

129. Van der Heijden, M.S., Brody, J.R., Gallmeier, E., et al. Functional defects in the fanconi anemia pathway in pancreatic cancer cells // American journal of pathology. - 2004. - Vol. 165. - P. 651 - 657.

130. Heinemann, V., Boeck, S., Hinke, A., et al. Meta-analysis of randomized trials: evaluation of benefit from gemcitabine-based combination chemotherapy applied in advanced pancreatic cancer // BMC Cancer. – 2007. – Vol. 8. – P. 1 – 11.

131. Heinemann, V., Quietzsch, D., Gieseler, F., et al. Randomized phase III trial of gemcitabine plus cisplatin compared with gemcitabine alone in advanced pancreatic cancer // journal of clinical oncology. – 2006. –Vol. 24. – P. 3946 – 3952.

132. Hermeking, H., Lengauer, C., Polyak, K., et al. 14-3-3 sigma is a p53-regulated inhibitor of G2/M progression // Molecular cell. – 1997. – Vol. 1. – P. 3 – 11.

133. Hicks, R.J., Hofman, M.S. Is there still a role for SPECT-CT in oncology in the PET-CT era? // Nature reviews. Clinical oncology. – 2012. – Vol. 9. – P. 712 – 720.

134. Hiripi, E., Lorenzo Bermeio, J., Sundquist, J., et al. Familial association of pancreatic cancer with other malignancies in Swedish families // British journal of cancer. – 2009. – Vol. 101. – P. 1792 – 1797.

135. Hofstafer, E.W., Domchek, S.M., Miron, A., et al. PALB2 mutations in familial breast and pancreatic cancer // Familial cancer. – 2011. – Vol. 10. – P. 225 – 231.

136. Hruban, R.H., van Mansfield, A.D.M., Offerhaus, G.J., et al. K-ras oncogene activation in adenocarcinoma of the human pancreas. A study of 82 carcinomas using a combination of mutant-enriched polymerase chain reaction analysis and allele-specific oligonucleotide hybridization // American journal of pathology. – 1993. – Vol. 143. – P. 545 – 554.

137. Hruban, R.H., Canto, M.I., Goggins, M., et al. Update on familial pancreatic cancer // Advances in surgery. – 2010. – Vol. 44. – P. 293 – 311.

138. Hrubisko, M., McGrown, A.T., Fox, B.W. The role of metallothionein, glutathione, glutathione S-transferases and DNA repair in resistance to platinum drugs in a series of L1210 cell lines made resistant to anticancer platinum agents // Biochemical pharmacology. 1993. – Vol. 7. – P. 253 – 256.

139. Hwang, R.F., Moore, T.T., Hattersley, M.M., et al. Inhibition of the hedgehog pathway targets the tumor-associated stroma in pancreatic cancer // Molecular cancer research. – 2012. – Vol. 10. – P. 1147 – 1157.

140. Iglesias-Garcia, J. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration for solid pancreatic masses. Optimizing the diagnostic yield // journal of gastrointestinal and liver diseases. – 2013. – Vol. 22. – P. 127 – 128.

141. Ikemoto, T., Yamaguchi, T., Morine, Y., et al. Clinical roles of increased populations of Foxp3+CD4+ T cells in peripheral blood from advanced pancreatic cancer patients // Pancreas. 2006. – Vol. 33. – P. 386 – 390.

142. Imyanitov, E.N., Moiseenk,o M.V. Drug therapy for hereditary cancers // Hereditary cancer in clinical practice. - 2011. - Vol. 9. - P. 1 - 16.

143. Ingham, P., McMahon, A.P. Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles // Genes and development. – 2001. – Vol. 15. – P. 3059 – 3087.

144. Iqbal, J., Ragone, A., Lubinski, J., et al. The incidence of pancreatic cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers // British journal of cancer. - 2012. - Vol. 107. - P. 2005 - 2009.

145. Ishikawa O. Surgical technique, curability and postoperative quality of life in an extended pancreatectomy for adenocarcinoma of the pancreas // Hepato-Gastroenterology. 1996. - Vol. 43. - P. 320-325.

146. Jacobetz, M.A., Chan, D.S., Neesse, A., et al. Hyaluronan impairs vascular function and drug delivery in a mouse model of pancreatic cancer // Gut.- 2013. – Vol. 62. – P. 112 – 120.

147. Jani, N., Bani Hani, M., Schulick, R.D., et al. Diagnosis and management of cystic lesions of the pancreas // Diagnostic and theraupeutic endoscopy. – 2011. – Vol. 2011. – P. 1 – 10.

148. Jaster, R. Molecular regulation of pancreatic stellate cell function // Molecular cancer. – 2004. – Vol. 3. – P. 1 – 8.

149. Jeanes, A., Gottardi, C.J., Yap, A.S. Cadherins and cancer: how does cadherin dysfunction promote tumor progression? // Oncogene. – 2008. – Vol. 27. – P. 6920 – 6929.

150. Johannsson, O., Loman, N., Möller, T., et al. Incidence of malignant tumours in relatives of BRCA1 and BRCA2 germline mutation carriers // European journal of cancer. - 1999. - Vol. 35. - P. 1248 - 1257.

151. Jones, R.A., Kotsakis, P., Johnson, T.S., et al. Matrix changes induced by ransglutaminase 2 lead to inhibition of angiogenesis and tumor growth // Cell death and differentiation. - 2006. – Vol. 13. – P. 1442–1453.

152. Jones, S., Zhang, X., Parsons, D.W., et al. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses // Science. – 2008. – Vol. 321. – P. 1801 – 1806.

153. Jones, S., Hruban, R.H., Kamiyama, M., et al. Exomic sequencing identifies PALB2 as a pancreatic cancer susceptibility gene// Science. - 2009. - Vol. 324(5924). -P. 217.

154. Kaffes, A., Corte, C. Fine needle aspiration at endoscopic ultrasound with a novel side-port needle: a pilot experience // Therapeutic advances in gastroenterology. – 2012. – Vol. 5. – P. 89 – 94.

155. Kalser, M.H., Ellenberg, S.S. Pancreatic cancer. Adjuvant combined radiation and chemotherapy following curative resection // Archives of surgery. – 1985. – Vol. 120. – P. 899 – 903.

156. Kalluri, R., Zeisberg, M. Fibroblasts in cancer// Nature. Reviews cancer. – 2006. – Vol. 6. – P. 392 – 401.

157. Kaneko K., Honda H., Hayashi T. et al. Helicat CT evaluation of prognosis by clinical presentation // Gastroenterol. 1983. - Vol. 84. - P. 1202.

158. Katz, M.H.G., Varadhachary, G.R., Fleming, J.B., et al. Serum CA 19-9 as a marker of respectability and survival in patients with potentially resectable pancreatic

cancer treated with neoadjuvant chemoradiation// Annals of surgical oncology. – 2010. – Vol.17.- P.1794-1801.

159. Kayahara, M., Nagakawan, T., Ueno, K., et al. An evaluation of radical resection for pancreatic cancer based on the mode of recurrence as determined by autopsy and diagnostic imaging // Cancer. - 1993. - Vol. 72. - P. 2118 - 2123.

160. Kendrick, M.L., Cusati D. Total laparoscopic pancreaticoduodenectomy // Archive of surgery. – 2010. – Vol. 145. – P. 19 – 23.

161. Khoor, A., Whittset, J.A., Stahlman, M.T., et al. Expression of surfactant protein B precursor and surfactant protein B mRNA in adenocarcinoma of the lung // Modern pathology. – 1997. – Vol. 10. – P. 62 – 67.

162. Kim, D.H., Crawford, B., Ziegler, J., Beattie, M.S. Prevalence and characteristics of pancreatic cancer in families with BRCA1 and BRCA2 mutations // Familial cancer. - 2009. - Vol. 8. - P. 153 - 158.

163. Klein, A.P., Hruban, R.H., Brune, K.A., et al. Familial pancreatic cancer// Cancer. – 2001. – Vol. 7(4). – P. 266 – 273.

164. Klein, A.P. Lindström, S., Mendelsohn, J.B., et al. An absolute risk model to identify individuals at elevated risk for pancreatic cancer in the general population // PLos one. – 2013. – Vol. 8. – P. 1 – 10.

165. Knudson, A.G.Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma // PNAS. – 1971. – Vol. 68. – P. 820 – 823.

166. Komatsu, M., Sumizawa, T., Mutoh, M., et al. Copper-transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) is associated with cisplatin resistance // Cancer research. – 2000. – Vol. 60. – p. 1312 – 1316.

167. Lal, G., Liu, G., Schmocker, B., et al. Inherited predisposition to pancreatic adenocarcinoma: role of family history and germ-line p16, BRCA1, and BRCA2 mutations // Cancer research. - 2000. - Vol. 60. - P. 409 - 416.

168. Landi, S. Genetic predisposition and environmental risk factors to pancreatic cancer: A review of the literature // Mutation Research. - 2009. - Vol. 681. - P. 299-307.

169. Lau, J., Kawahira, H., Hebrok, M. Hedgehog signaling in pancreas development and disease // Cellular and molecular life sciences. – 2006. – Vol. 63. – P. 642 – 652.

170. Lawniczak, M., Gawin, A., Białek, A., et al. Is there any relationship between BRCA1 gene mutation and pancreatic cancer development? // Polish archives of internal medicine. - 2008. - Vol. 118. - P. 645 - 649.

171. Legmann, P., Vignaux, O., Dousset, B., et al. Pancreatic tumors: comparison of dual-phase helical CT and endoscopic sonography // AJR. – 1998. – Vol. 170. –P. 1315 – 1322.

172. Lemke, A.J., Niechues, S.M., Hosten, N., et al. Retrospective digital image fusion of multidetector CT and 18F-FDG PET: clinical value in pancreatic lesions--a prospective study with 104 patients // Journal of nuclear medicine. – 2004. – Vol. 45. – P. 1279 – 1286.

173. Levi, E., Klimstra, D.S., Andea, A., et al. MUC1 and MUC2 in pancreatic neoplasia // journal of clinical pathology. – 2004. – Vol. 57. – P. 456 – 462.

174. Levy, M.J., Jondal, M.L., Clain, J., et al. Preliminary experience with an EUS-guided trucut biopsy needle compared with EUS-guided FNA // Gastrointestinal endoscopy. – 2003. – Vol. 57. – P. 101 – 106.

175. Lewis, G.H., Wang, H., Bellizi, A.M., et al. Prognosis of minimally invasive carcinoma arising in mucinous cystic neoplasms of the pancreas // American journal of surgical pathology. – 2013. – Vol. 37. – P. 601 – 605.

176. Li, S.M., Zhang, Z.T., Chan, S., et al. Detection of circulating uroplakin-positive cells in patients with transitional cell carcinoma of the bladder // The journal of urology. – 1999. – Vol. 162. – P. 931 – 935.

177. Liao, Q., Zhao, Y.P., Yang, Y.C., et al. Combined detection of serum tumor markers for differential diagnosis of solid lesions located at the pancreatic head // Hepatobiliary and pancreatic disease international. – 2007. – Vol. 6., - P. 641 – 645.

178. Lin, Z., Pearson, C., Chinchilli, V., et al. Polymorphisms of human SP-A, SP-B, and SP-D genes: association of SP-B Thr131Ile with ARDS // Clinical genetics. – 2001. – Vol. 58. - P. 181 – 191.

179. Ling, J., Kang, Y., Zhao, R., et al. KrasG12D-induced IKK2/β/NF-κB activation by IL-1α and p62 feedforward loops is required for development of pancreatic ductal adenocarcinoma // Cancer cell. – 2012. – Vol. 21. – P. 105 – 120.

180. Locatelli, E., Gil, L., Israel, L.L., et al. Biocompatible nanocomposite for PET/MRI hybrid imaging // International journal of nanomedicine. – 2012. – Vol. – 7. – P. 6021 – 6033.

181. Louer E.M., David C.L., Dubrow R.A. et al. Vascular involvement in pancreatic adenocarcinoma: reassessment by thin-section CT // Abdom. Imaging. 1996. - Vol. 21. - P. 202-206.

182. Lowenfels, A.B., Maisonneuve, P., DiMagno, E.P., et al. Hereditary pancreatitis and the risk of pancreatic cancer. International Hereditary Pancreatitis Study Group // journal of the national cancer institute. – 1997. – Vol. 89. – P. 442 – 446.

183. Lowery, M.A., Kelsen, D.P., Stadler, Z.K., et al. An emerging entity: pancreatic adenocarcinoma associated with a known BRCA mutation: clinical descriptors, treatment implications, and future directions // Oncologist. - 2011. - Vol. 16. - P. 1397 – 1402.

184. Lubinski, J., Phelan, C.M., Ghadirian, P., et al. Cancer variation associated with the position of the mutation in the BRCA2 gene // Familial cancer. - 2004. - Vol. 3. - P. 1 - 10.

185. Mackenzie, R.P., McCollum, A.D. Novel agents for the treatment of adenocarcinoma of the pancreas // Expert review of anticancer therapy. 2009. – Vol. 9. – P. 1473 – 1485.

186. Maitra, A., Lacobuzio-Donahue, C., Rahman, A., et al. Immunohistochemical validation of a novel epithelial and a novel stromal marker of pancreatic ductal adenocarcinoma identified by global expression microarrays: sea

urchin fascin homolog and heat shock protein 47 // American journal of clinical pathology. – 2002. – Vol. 118. – P. 52 – 59.

187. Makrilia, N., Kollias, A., Manopoulus, L., et al. Cell adhesion molecules: role and clinical significance in cancer // Cancer investigation. – 2009. – Vol. 27. – P. 1023 – 1037.

188. Malleo, G., Crippa, S., Butturini, G., et al. Delayed gastric emptying after pylorus-preserving pancreaticoduodenectomy: validation of International Study Group of Pancreatic Surgery classification and analysis of risk factors // HPB. – 2010. – Vol. 12. – P. 610 – 618.

189. Malvezzi, M., Bertuccio, P., Levi, F., et al. European cancer mortality predictions for the year 2012 // Annals of oncology. – 2012. – Vol. 23. – P. 1044 – 1052.

190. Martinez-Noguera, A. Quo vadis ultrasonography? // Radiologia. – 2008. - Vol. 50. – P. 533.

191. Masamune, A., Shimosegawa, T. Pancreatic stellate cells-multi-functional cells in the pancreas // Pancreatology. – Vol. 13. – P. 102 – 105.

192. Massague, J., Gomis, R.R. The logic of TGFbeta signaling // FEBS letters. – 2006. - Vol. 580. – P. 2811 – 2820.

193. Meszoely, I.M., Means, A.L., Scoggins, C.R., et al. Developmental aspects of early pancreatic cancer // Cancer. – 2001. – Vol. 7. – P. 242 – 250.

194. McWilliams, R.R., Bamlet, W.R., Rabe, K.G., et al. Association of Family History of Specific Cancers With a Younger Age of Onset of Pancreatic Adenocarcinoma// Clinical gastroenterology and hepatology. – 2006. – Vol. 4 (9). – P. 1143 – 1147.

195. McCabe, N., Lord, C.J., Tutt, A.N.J., et al. BRCA2-deficient CAPAN-1 cells are extremely sensitive to the inhibition of Poly (ADP-Ribose) polymerase: an issue of potency// Cancer biology and therapy. – 2005. – Vol. 4. – P. 934 – 936.

196. McCarthy, D.M., Maitra, A., Argani, P., et al. Novel markers of pancreatic adenocarcinoma in fine-needle aspiration: mesothelin and prostate stem cell antigen

labeling increases accuracy in cytologically borderline cases // Applied immunohistochemistry and molecular morphology. – 2003. – Vol. 11. – P. 238 – 243.

197. Minnard, E.A., Conlon, K.C., Hoos, A. Laparoscopic ultrasound enhances standard laparoscopy in the staging of pancreatic cancer // Annals of surgery. - 1998. - Vol. 228. - P. 182-187.

198. Mizoshita, T., Inada, K., Tsukamoto, T., et al. Expression of the intestine-specific transcription factors, Cdx1 and Cdx2, correlates shift to an intestinal phenotype in gastric cancer cells // journal of cancer research and clinical oncology. – 2004. – Vol. 130. – P. 29 – 36.

199. Mocci, E., Milne, R.L., Méndez - Villamil, E.Y., et al. Risk of pancreatic cancer in breast cancer families from the breast cancer family registry // Cancer epidemiology, biomarkers and prevention. - 2013. - Vol. 22. - P. 803 - 811.

200. Moertel, C.G., Fryatak, S., Hahn, R.G., et al. Therapy of locally unresectable pancreatic carcinoma: a randomized comparison of high dose (6000 rads) radiation alone, moderate dose radiation (4000 rads + 5-fluorouracil), and high dose radiation + 5-fluorouracil: The Gastrointestinal Tumor Study Group // Cancer. – 1981. – Vol. 48. – P. 1705 – 1710.

201. Moran, A., O'Hara, C., Khan, S., et al. Risk of cancer other than breast or ovarian in individuals with BRCA1 and BRCA2 mutations // Familial cancer. - 2012. - Vol. 11. - P. 235 - 242.

202. Moskaluk, C.A., Zhang, H., Powell, S.S., et al. Cdx2 protein expression in normal and malignant human tissues: an immunohistochemical survey using tissue microarrays // Modern pathology. – 2003. – Vol. 16. – P. 913 – 919.

203. Moslehi, R., Singh, R., Lessner, L., et al. BRCA1 and BRCA2 mutation analysis of 208 Ashkenazi Jewish women with ovarian cancer // American journal of human biology. – 2000. – Vol. 66. – P. 1259 – 1272.

204. Mulcahy, H.E., Lyautey, J., Lederrey, C., et al. A prospective study of K-ras mutations in the plasma of pancreatic cancer patients // Clinical cancer research. – 1998. – Vol. 4. – P. 271 – 275.

205. Mullenbach, R., Lagoda, P.J., Welter C. An efficient salt-chloroform extraction of DNA from blood and tissues // Trends in genetics. - 1989. - Vol. 5. - P. 391.

206. Muniz, C.K., Braga, C.B., Kemp, R., et al. Clinical and nutritional status in the late postoperative of pancreaticoduodenectomy: influence of pylorus preservation procedure. – 2012. – Vol. 27. – P. 123 – 130.

207. Murakami, K. FDG-PET for hepatobiliary and pancreatic cancer: advances and current limitations // World journal of clinical oncology. – 2011. – Vol. 2. – P. 229 – 236.

208. Murphy, K.M., Brune, K.A., Griffin, C., et al. Evaluation of candidate genes MAP2K4, MADH4, ACVR1B, and BRCA2 in familial pancreatic cancer// Cancer Research. - 2002. - Vol. 62. - P. 3789–3793.

209. Murtaugh, L.C., Stangler, B.Z., Kwan, K.M., et al. Notch signaling controls multiple steps of pancreatic differentiation // PNAS. – 2003. – Vol. 100. – P. 14920 – 14925.

210. Nagai, H., Kuroda, A., Kimura, W., et al. Limitations of extended surgical pancreatic tumor removal and the necessity for combined modality therapy // Nihon rinsho. – 1986. Vol. – 44. – P. 1863 – 1872.

211. Narod, S.A., Sun, P., Risch, H.A., et al. Ovarian cancer, oral contraceptives, and BRCA mutations // The New England journal of medicine. – 2001. – Vol. 345. – P. 1706 – 1707.

212. NCCN guidelines version 2.2012 updates pancreatic adenocarcinoma. – National comprehensive cancer network. – 2012.

213. Neoptolemos, J.P., Stocken, D.D., Bassi, C., et al. Adjuvant chemotherapy with fluorouracil plus folinic acid vs gemcitabine following pancreatic cancer resection: a randomized controlled trial // JAMA. – 2010. Vol. 304. – P. 1073 – 1081.

214. Nichihary T., Yamashita Y., Abe Y. et al. Local extension of pancreatic carcinoma: Assessment with Thin-section helical CT versus with Breath-hold fast MR Imaging-ROC analysis // Radiology. 1999. - Vol. 202. - P. 445-452.

215. Nomi, T., Sho, M., Akahori, T., et al. Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer // Clinical cancer research. – 2007. – Vol. 13. – P. 2151 – 2157.

216. Oettle, H., Neuhaus, P., Hochhaus, A., et al. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine and long-term outcomes among patients with resected pancreaticcancer: the CONKO-001 randomized trial // JAMA. – 2013. – Vol. 310. – P. 1473 – 1481.

217. Ogawa, M., Kawaguchi, Y., Uchida, T., et al. A case of small pancreatic cancer with intra-pancreatic metastasis diagnosed by endoscopic ultrasound // The Tokai journal of experimental and clinical medicine. – 2011. – Vol. 36. – P. 75 – 78.

218. Olive, K.P., Jacobetz, M.A., Davidson, C.J., et al. Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer // Science. – 2009. Vol. 324. – P. 1457 – 1461.

219. Olivie, D., Lepanto, L., Billiard, J.S., et al. Predicting resectability of pancreatic head cancer with multi-detector CT. Surgical and pathologic correlation // Journal of the pancreas. – 2007. – Vol. 8. – P. 753 – 758.

220. Olivier, M., Hollstein, M., Hainaut, P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use // Cold spring harbor and perspectives in biology. – 2010. – Vol. 2. –P. 1 – 17.

221. Ono, H., Yanagihara, K., Sakamoto, H., et al. Prostate stem cell antigen gene is expressed in islets of pancreas // Anatomy and cell biology. – 2012. – Vol. 45. – P. 149 – 154.

222. Ouellete, R.J., Richard, D., Maicas, D. RT-PCR for mammaglobin genes, MGB1 and MGB2, identifies breast cancer micrometastases in sentinel lymph nodes // American journal of clinical pathology. – 2004. – Vol. 121. – P. 637 – 643.

223. Overholser, J.P.,Prewett, M.C., Hooper, A.T., et al. Epidermal growth factor receptor blockade by antibody IMC-C225 inhibits growth of a human pancreatic carcinoma xenograft in nude mice // Cancer. – 2000. – Vol. 69. – P. 74 – 89.

224. Pal, T., Permuth-Wey, J., Betts, J.A., et al. BRCA1 and BRCA2 mutations account for a large proportion of ovarian carcinoma cases // Cancer. – 2005. –Vol. 104. –P. 2807 – 2816.

225. Panarelli, N.C., et al. Tissue-Specific cadherin CDH17 is a useful marker of gastrointestinal adenocarcinomas with higher sensitivity than CDX2 // American journal of clinical pathology. – 2012. - Vol. 138. – P. 211 – 222.

226. Pardoll, D. Does the immune system see tumors as foreign or self? // Annual review of immunology. – 2003. – Vol. 21. – P. 807 – 839.

227. Parlak, C., Topkan, E., Onal, C., et al. Prognostic value of gross tumor volume delineated by FDG-PET-CT based radiotherapy treatment planning in patients with locally advanced pancreatic cancer treated with chemoradiotherapy // Radiation oncology. – 2012. – Vol. 7. – P. 1 – 8.

228. Parsons, L. Jr., Palmer, C.H. How accurate is fine-needle biopsy in malignnant neoplasia of the pancreas? // Archive of Surgery. 1989. - Vol. 124. - P. 681-683.

229. Paulos, C.M., June, C.H. Putting the brakes on BTLA in T cell-mediated cancer immunotherapy // The journal of clinical investigation. – 2010. – Vol. 120. P. 76 – 80.

230. Pedrazzoli, S., Beger, H.G., Obertop, H., et al. A surgical and pathological based classification of resective treatment of pancreatic cancer. Summary of an international workshop on surgical procedures in pancreatic cancer // Digestive surgery. – 1999. – Vol. 16. – P. 337 – 345.

231. Petersen, G.M., de Andrade, M., Goggins, M., et al. Pancreatic cancer genetic epidemiology consortium// Cancer epidemiology, biomarkers and prevention. – 2006. – Vol. 15. – P. 704 – 710.

232. Philip P.A. Improving treatment of pancreatic cancer // The lancet oncology. – 2008. - Vol. 9. – P. 7 – 8.

233. Philip, P.A., Benedetti, J., Corless, C.L., et al. Phase III study comparing gemcitabine plus cetuximab versus gemcitabine in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma: Southwest Oncology Group-directed intergroup trial S0205 // Journal of clinical oncology. – 2010. – Vol. 28. – P. 3605 – 3610.

234. Pichler, B.J., Judenhofer, M.S., Pfannenberg, C. Multimodal imaging approaches: PET/CT and PET/MRI // Handbook of experimental pharmacology. – 2008. – Vol. 185. – P. 109 – 132.

235. Poplin, E., Feng, Y., Berlin, J., et al. Phase III, randomized study of gemcitabine and oxaliplatin versus gemcitabine (fixed-dose rate infusion) compared with gemcitabine (30-minute infusion) in patients with pancreatic carcinoma E6201: a trial of the Eastern Cooperative Oncology Group// Journal of clinical oncology. – 2009. – Vol.27(23). – P. 3778 – 3785.

236. Raimondi, S., Maisonneuve, P., Lowenfels, A.B. Epidemiology of pancreatic cancer: an overview// Nature. Review Gastroenterology and Hepatology. - 2009. - Vol. 6. - P. 699 - 708.

237. Regine, W.F., Winter, K.A., Abrams, R.A., et al. Fluorouracil vs gemcitabine chemotherapy before and after fluorouracil-based chemoradiation following resection of pancreatic adenocarcinoma: a randomized controlled trial // JAMA. – 2008. – Vol. 299. – P. 1019 – 1026.

238. Riediger, H., Keck, T., Wellner, U., et al. The lymph node ratio is the strongest prognostic factor after resection of pancreatic cancer // journal of gastrointestinal tumor. – 2009. - Vol. 13. – P. 1337 – 1344.

239. Risch, H.A., McLaughlin, J.R., Cole, D.E., et al. Population BRCA1 and BRCA2 mutation frequencies and cancer penetrances: a kin-cohort study in Ontario, Canada // Journal of national cancer institute. - 2006. - Vol. 98. - P. 1694 - 1706.

240. Ritts, R.E., Pitt, H.A. CA 19-9 in pancreatic cancer // Surgical oncology clinics of North America. – 1998. – Vol. 7. – P. 93 – 101.

241. Robins, D.B., Katz, R.L., Evans, D.B., et al. Fine needle aspiration of the pancreas: In quest of accuracy // Acta cytologica. - 1995. - Vol. 39. - P. 1 - 10.

242. Rozenblum, E., Schutte, M., Goggins, M., et al. Tumor-suppressive pathways in pancreatic carcinoma // Cancer research. – 1997. – Vol. 57. – P. 1731 – 1734.

243. Rowinsky, E.K., Windle, J.J., Von Hoff, D.D. Ras protein farnesyltransferase: A strategic target for anticancer therapeutic development // journal of clinical oncology. – 1999. – Vol. 17. – P. 3631 – 3652.

244. Saeki, N., Saito, A., Choi, I.J., et al. A functional single nucleotide polymorphism in mucin 1, at chromosome 1q22, determines susceptibility to diffuse-type gastric cancer // Gastroenterology. – 2011. – Vol. 140. – P. 892 – 902.

245. Safi, F., Roscher, R., Bittner, R., et al. High sensitivity and specificity of CA 19-9 for pancreatic carcinoma in comparison to chronic pancreatitis. Serological and immunohistochemical findings// Pancreas. – 1987. – Vol. 2(4). – P. 398-403.

246. Sakai, W., Swisher, E.M., Karian, B.Y., et al. Secondary mutations as a mechanism of cisplatin resistance in BRCA2-mutated cancers // Nature. 2008. - Vol. 451. – 1116 – 1120.

247. Sandgren, E.P., Luetteke, N.C., Qiu, T.H., et al. Transforming growth factor alpha dramatically enhances oncogene-induced carcinogenesis in transgenic mouse pancreas and liver // Molecular and cellular biology. – 1993. – Vol. 13. – P. 320 – 330.

248. Satake, K., Takeuchi, T. Comparison of CA19-9 with other tumor markers in the diagnosis of cancer of the pancreas // Pancreas. – 1994. – Vol. 9. – P. 720 – 724.

249. Saufferlein, T., Bachet, J.B., Van Cutsen, E., et al. Pancreatic adenocarcinoma: ESMO–ESDO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up // Annals of Oncology. - 2012. - Vol. 23. - P. 33-40.

250. Schima, W., Ba-Ssalamah, A., Goetzinger, P., et al. State-of-the-art magnetic resonance imaging of pancreatic cancer// Topics in magnetic resonance imaging. - 2007. - Vol.18(6). - P.421-429.

251. Scully, R. Interactions between BRCA proteins and DNA structure // Experimental call research. – 2001. – Vol. 264. – P. 67 – 73.

252. Semelka, R.C., Simm, F.C., Recht, M.P., et al. MR imaging of the pancreas at high field strength: comparison of six sequences // Journal of computer assisted tomography. – 1991. – Vol. 15. – P. 966 – 971.

253. Senzatimore S. Chronic pancreatic cancer: a slow-burning wick or an explosive event? // Gastroenterol. - 1994. - Vol. 89. - P. 1593-1594.

254. Sjödin, A., Ljuslinder, I., Henriksson, R. Mammaglobin and lipophilin B expression in breast tumors and their lack of effect on breast cancer cell proliferation // Anticancer research. – 2008. – Vol. 28. – P. 1493 – 1498.

255. Shi, C., Hruban, R.H., Klein, A.P. Familial pancreatic cancer // Archives of pathology and laboratory medicine. – 2009. – Vol. 133. – P. 365 – 374.

256. Siegel, R., Naishadham, D., Jemal, A. Cancer statistics, 2013 // CA: A cancer journal for clinicians. – 2013. – Vol. 63. – P. 11 – 30.

257. Sierzega, M., Popiela, T., Kulig, J., et al. The ratio of metastatic/resected lymph nodes is an independent prognostic factor in patients with node-positive pancreatic head cancer // Pancreas. – 2006. – Vol. 33. – P. 240- 245

258. Silverman, D.T. Risk factors for pancreatic cancer: a case-control study based on direct interviews // Teratogenesis, carcinogenesis and mutagenesis. - 2001. – Vol. 21. – P. 7 – 25.

259. Slater, E.P., Langer, P., Fendrich, V., et al. Prevalence of BRCA2 and CDKN2a mutations in German familial pancreatic cancer families // Familial cancer. - 2010. - Vol. 9. - P. 335 - 343.

260. Smith E.H. Complications of percutaneous abdominal fine-needle biopsy // Radiology. 1991.-Vol. 178. - P. 253-258.

261. Sohn, T.A., Yeo, C.J., Cameron, J.L., et al. Resected adenocarcinoma of the pancreas-616 patients: results, outcomes, and prognostic indicators// Journal of gastrointestinal surgery. – 2000. Vol. 4. – P. 567 – 579.

262. Sokolenko, A.P., Iyevleva, A.G., Mitiushkina, N.V., et al. Hereditary breast-ovarian cancer syndrome in Russia // Acta naturae. - 2010. - Vol. 2. - P 31-35.

263. Sokolenko AP, Rozanov ME, Mitiushkina NV, et al. Founder mutations in early-onset, familial and bilateral breast cancer patients from Russia // Fam Cancer. 2007, Vol. 6. P. 281-286.

264. Somasundaram, K., Zhang, H., Zeng, Y.X., et al. Arrest of the cell cycle by the tumour-suppressor BRCA1 requires the CDK-inhibitor p21WAF1/CiP1 // Nature. – 1997. – Vol. 389. – P. 187 – 190.

265. Stadler, Z.K., Salo-Mullen, E., Patil ,S.M., et al. Prevalence of BRCA1 and BRCA2 mutations in Ashkenazi Jewish families with breast and pancreatic cancer // Cancer. - 2012. - Vol. 118. - P. 493-499.

266. Su, G.H., Hruban, R.H., Bansal, R.K., et al. Germline and somatic mutations of the STK11/LKB1 Peutz-Jeghers gene in pancreatic and biliary cancers // The American journal of pathology. – 1999. – Vol. 154. – P. 1835 – 1840.

267. Suh, E., Wang, Z., Swain, G.P., et al., Clusterin gene transcription is activated by caudal-related homeobox genes in intestinal epithelium // American journal of physiology. Gastroenterology and liver physiology. – 2001. – Vol. 280. – P. 149 – 156.

268. Sultana, A.,Tudur Smith, C., Cunningham, D., et al. Systematic review, including meta-analyses, on the management of locally advanced pancreatic cancer using radiation/combined modality therapy // British journal of cancer. – 2007. – Vol. 96. – P. 1183 – 1190.

269. Tachihara-Yoshikawa, M., Ishida, T., Watanabe, K., et al. Expression of secretoglobin3A2 (SCGB3A2) in primary pulmonary carcinomas // Fukushima journal of medicine science. - 2008. – Vol. 54. – P. 61–72.

270. Takamura, M., Sakamoto, M., Ino, Y., et al. Expression of liver-intestine cadherin and its possible interaction with galectin-3 in ductal adenocarcinoma of the pancreas // Cancer science. – 2003. – Vol. 94. – P. 425 – 430.

271. Talantov, D., Baden, J., Jatkoe, T., et al. A quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay to identify metastatic carcinoma tissue of origin // The journal of molecular diagnostics. – 2006. – Vol. 6. – P. 320 – 329.

272. Tan, W.J., Kow, A.W., Liau, K.H. Moving towards the New International Study Group for Pancreatic Surgery (ISGPS) definitions in pancreaticoduodenectomy: a comparison between the old and new // HPB. – 2011. – Vol. 13. – P. 566 – 572.

273. Tassi, R., Calza, S., Ravaggi, A., et al. Mammaglobin B is an independent prognostic marker in epithelial ovarian cancer and its expression is associated with reduced risk of disease recurrence // BMC cancer. – 2009. – Vol. 9. – P. 1-9.

274. Thompson, D., Easton, D.F. Breast Cancer Linkage Consortium. Cancer Incidence in BRCA1 mutation carriers // Journal of national cancer institute. - 2002. - Vol. 94. - P. 1358-1365.

275. Tonin P, Weber B, Offit K, et al. Frequency of recurrent BRCA1 and BRCA2 mutations in Ashkenazi Jewish breast cancer families // Nat. Med. 1996. Vol. 2. P. 1179-1183.

276. Tulinius, H., Olafsdottir, G.H., Sigvaldason, H., et al. The effect of a single BRCA2 mutation on cancer in Iceland // Journal of medical genetics. - 2002. - Vol. 39. - P. 457 - 462.

277. Vachiranubhap, B., Kim, Y.H., Balci, N.C., et al. Magnetic resonance imaging of adenocarcinoma of the pancreas // Topics in magnetic resonance imaging. – 2009. – Vol. 20. – P. 3 – 9.

278. Valls, C., Andia, V., Sanchez A., et al. Dual-phase helical CT of pancreatic adenocarcinoma: assessment of resectability before surgery// American journal of roentgenology. -2002. -Vol.178(4). -P.821-826.

279. Van Hoe L., Giyspeedt S., Marchal G. et al. Helical CT for the preoperative localization of islet cell tumours of the pancreas: value of arterial and parenchymal images // Am. J. Roentgenol. 1995. - Vol. 165. - P. 1437-1439.

280. Verbeke, C.S. Resection margins in pancreatic cancer // The surgical clinics of North America. – 2013. – Vol. 93. – P. 647 – 662.

281. Verna, E.C., Hwang, C., Stevens, P.D., et al. Pancreatic cancer screening in a prospective cohort of high-risk patients: a comprehensive strategy of imaging and genetics// Clinical cancer research. -2010. -Vol.16. -P. 5028-5037.

282. Vestergaard, E.M., Heine, H.O., Meyer, H., et al. Reference values and biological variation for tumor marker CA 19-9 in serum for different Lewis and secretor genotypes and evaluation of secretor and Lewis genotyping in a Caucasian population // Clinical chemistry. – 1999. – Vol. 45. – P. 54 – 61.

283. Vickers, M.M., Powell, E.D., Asmis, T.R., et al. Comorbidity, age and overall survival in patients with advanced pancreatic cancer - results from NCIC CTG PA.3: a phase III trial of gemcitabine plus erlotinib or placebo // European journal of cancer. – 2012. – Vol. 48. – P. 1434 – 1442.

284. Vilpo, J.A., Vilpo, L.M. Restriction, methylation and ligation of 5-hydroxymethyluracil-containing DNA // Mutation research. – 1995. – Vol. 316. – P. 123 – 131.

285. Voss, M., Hammel, P., Molas, G., et al. Value of endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration biopsy in the diagnosis of solid pancreatic masses // Gut. – 2000. – Vol. – 46. – P. – 244 – 249.

286. Watson, M.A., Dintzis, S., Darrow, C.M., et al. Mammaglobin expression in primary, metastatic, and occult breast cancer // Cancer research. –1999. - Vol. 59. P. 3028–3031.

287. Whipple, A.O., Parsons, W.B., Mullins, C.R. Treatment of carcinoma of the ampulla of the Vater // Annals of surgery. – Vol. 102. – P. 763 – 779.

288. Witkiewicz, A., Williams, T.K., Cozzitorto, J., et al. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase in metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma recruits regulatory T cells to avoid immune detection // Journal of the American college of surgeons. – 2008. – Vol. 206. – P. 849 – 854.

289. Wong, J.C., Lu, D.S. Staging of pancreatic adenocarcinoma by imaging studies // Clinical gastroenterology and hepatology. – 2008. – Vol. 6. – P. 1301 – 1308.

290. Yamamoto, H., Itoh, F., Nakamura, H., et al. Genetic and clinical features of human pancreatic ductal adenocarcinomas with widespread microsatellite instability // Cancer research. – 2001. – Vol. 61. – P. 3139 – 3144.

291. Yasuda, I., Iwashita, T., Doi, S., et al. Role of EUS in the early detection of small pancreatic cancer// Digestive endoscopy. -2011. -Vol. 23. -P. 22-25.

292. Yopp, A.C., Allen, P.J. Prognosis of invasive intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas // World journal of gastrointestinal surgery. – 2010. – Vol. 2. – P. 359 – 362.

293. Zafrakas, M., Petschke, B., Donner, A., et al. Expression analysis of mammaglobin A (SCGB2A2) and lipophilin B SCGB1D2) in more than 300 human tumors and matching normal tissues reveals their co-expression in gynecologic malignancies // BMC Cancer. – 2006. – Vol. 6.-P. 88.

294. Zeiss, J., Coombs, R.J., Bielke, D. CT presentation and staging accuracy of pancreatic adenocarcinoma// International journal of pancreatology. -1990. -Vol.7. - P. 49-53.

295. Zimny, M., Bares, R., Fass, J., et al. Fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the differential diagnosis of pancreatic carcinoma: a report of 106 cases // European journal of nuclear medicine. – 1997. – Vol. 24. – P. 678 – 682.

296. Zuo, L., Li, L., Wang, Q., et al. Mammaglobin as a potential molecular target for breast cancer drug delivery // Cancer cell international. – 2009. – Vol. 9. – P. 1- 10.

Приложение 1.

Анкета для сбора и обработки информации.

Карта №_____ месяц год
Обследование больных по теме « Значение молекулярно-генетических методов в диагностике и лечении рака поджелудочной железы»

1. История болезни № _____
2. Фамилия_____Имя_____
Отчество_____ масса___, рост_____, потеря массы_____
3. Возраст_____(лет) Пол муж/жен (подчеркнуть),Группа крови:_____
4. Адрес_____
тел:_____
5. Диагноз(локализация опухоли, TNM)_____
6. Начало заболевания:_____
7.Жалобы (отметить желтуху, потерю массы тела):
_____
_____
_____
8. Госпитализация (лечебное учреждение)
_____
_____
9. Продолжительность лечения в ЛУ_____(суток)
10. Данные общего обследования больного (сопутствующие. общесоматические заболевания)_____
_____
-наличие сахарного диабета (с потребностью/ без потребности в инсулине):
_____
а) длительность заболевания:
б) колебания сахаров
11. Онкологический анамнез (наличие предшествующей патологии):_____
_____
12. Семейный онкологический анамнез_____
_____
_____
13. Вид первичной помощи (оперативное, консервативное лечение, длительность госпитализации, исход):_____
_____
14. Радикальное оперативное лечение_____
15. Гистологическая структура опухоли_____
16. Размеры опухоли(мм)_____*___*_____
17. Наличие BRCA1(185 delAG, 5382 insC, 4153delA(подчеркнуть))_____
18. Онкомаркеры: CA 19/9(ед/мл)(до 30.9Ед/мл)_____

20. Данные ЭндоУЗИ
_____
_____
21. Данные МРТ __
_____
_____
_____
22. Данные КТ _____
23. Данные УЗИ
_____
_____

24. Другие методы обследования: _____

_____

_____

24. Краткий протокол оперативного вмешательства:

25. Послеоперационное течение:

26. Общее количество обезболивающих средств(наркотические, НПВС):

_____

_____

_____

26. Сроки снятия швов после операции:

_____

27. Сроки удаления дренажей

_____

_____

28. Консервативная терапия(антибактериальная, антисекреторная, дезагрегантная):

_____

_____

_____

_____

_____

_____

29. Наблюдение онколога (химиотерапия да/нет):

_____

_____

30. Отдаленные результаты (рецидивы, прогрессирование опухоли)

_____

_____

_____

_____

31. Общая продолжительность жизни: _____

32. Причина смерти:

_____

_____

33. Общие замечания и выводы о результатах лечения больного:

_____

_____

_____

_____

_____