

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

ВАСИЛЕВСКАЯ
Полина Дмитриевна

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ПАТОГЕНЕЗ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
Зав. онкологическим отделением
(генетики) РНПЦ ОМР
им. Н.Н. Александрова,
кандидат медицинских наук,
доцент Е.И. Субоч

Минск, 2025

РЕФЕРАТ

Дипломная работа, 65 страниц, 16 рисунков, 22 таблицы, 77 источников.

КОЛОРЕКТАЛЬНЫЙ РАК, РАК ОБОДОЧНОЙ КИШКИ, РАК ПРЯМОЙ КИШКИ, NGS, АЛЛЕЛЬ-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПЦР, ЦИФРОВАЯ КАПЕЛЬНАЯ ПЦР, *KRAS*, *BRAF*, ЦИРКУЛИРУЮЩАЯ ОПУХОЛЕВАЯ ДНК, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ.

Объект исследования: парафинизированная опухолевая ткань пациентов со II-III стадиями КРР, плазма крови.

Предмет исследования: молекулярно-генетические маркеры КРР.

Методы исследования: аллель-специфическая ПЦР, цифровая капельная ПЦР, высокопроизводительное секвенирование, статистический метод, анализ данных.

С использованием технологии АС-ПЦР были протестированы образцы опухолевой ткани 223 пациентов с КРР. В гене *KRAS* всего детектировано 78 мутаций в 223 протестированных образцах (35%). Основными мутациями явились с.35G>A (р.G12D) и с.38G>A (р.G13D), выявленные в 35% (27/78) и 23% (18/78) случаев соответственно. При тестировании гена *BRAF* в 13 из 221 случая диагностирован патогенный вариант V600E (6%), остальные 208 образцов (94,1%) отнесены к «дикому» типу.

Молекулярно-генетические исследования с использованием технологии NGS выполнены 112 пациентам. В исследуемой когорте пациентов преобладали нарушения в генах, кодирующих белки-участники системы поддержания целостности генома (*TP53* и *ATM*) - 97% образцов, фосфотидил-инозитол-3-киназного сигнального каскада (*PNET*, *PIK3CA* и *AKT1*) - 86%, а также митоген-активированного пути (*ERBB4*, *FGFR2*, *FGFR3*, *KIT*, *EGFR*, *MET*, *RET*, *FLR3*, *PDGFRA*, *ERBB2*) - 97%.

Результаты цкПЦР 54 пациентов подтверждают зависимость между наличием цоДНК в плазме крови и прогнозом прогрессирования заболевания, так как получены значимые различия в частоте обнаружения цоДНК у пациентов с III стадией заболевания (53,6% случаев (15/28)) в сравнении со II стадией заболевания (23,1% случаев (6/26)) ($p=0,03$).

Если сопоставить результаты всех лабораторных исследований, то, создавая профили стандартов, можно внедрить новый метод прогнозирования течения таких заболеваний, как КРР.

Область применения: клиническая онкология, медицинская диагностика.

Рекомендации по использованию: для оценки вероятности прогрессирования заболевания КРР в клинко-диагностических лабораториях.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца, 65 старонак, 16 малюнкаў, 22 табліцы, 77 крыніц.

КАЛАРЭКТАЛЬНЫ РАК, РАК АБАДКОВАЙ КІШКІ, РАК ПРАМОЙ КІШКІ, NGS, АЛЕЛЬ-СПЕЦЫФІЧНАЯ ПЛР, ЛІЧБАВАЯ КРОПЕЛЬНАЯ ПЛР, *KRAS*, *BRAF*, ЦЫРКУЛЮЮЧАЯ ПУХЛІННАЯ ДНК, МАЛЕКУЛЯРНА-ГЕНЕТЫЧНЫЯ МАРКЕРЫ.

Аб'ект даследавання: парафінізаваная пухлінная тканіна пацыентаў са II-III стадыямі КРР, плазма крыві.

Прадмет даследавання: малекулярна-генетычныя маркеры КРР.

Метады даследавання: алель-спецыфічная ПЛР, лічбавая кропельная ПЛР, высокапрадукцыйнае секвеніраванне, статыстычны метада, аналіз даных.

З выкарыстаннем тэхналогіі АС-ПЛР былі пратэставаны ўзоры опухолевай тканіны 223 пацыентаў з КРР. У гене *KRAS* дэтэктавана 78 мутацый у 223 пратэставаных узорах (35%). Асноўнымі мутацыямі з'явіліся с.35G>A (р.G12D) і с.38G>A (р.G13D), выяўленыя ў 35% (27/78) і 23% (18/78) выпадкаў адпаведна. Пры тэставанні гена *BRAF* у 13 з 221 выпадку дыягнаставаны патагенны варыянт V600E (6%), астатнія 208 узораў (94,1%) аднесены да "дзікага" тыпу.

Малекулярна-генетычныя даследаванні з выкарыстаннем тэхналогіі NGS выкананы 112 пацыентам. У доследнай кагорце пацыентаў пераважалі парушэнні ў генах, кадавальных бялкі -удзельнікі сістэмы падтрымання цэласнасці геному (*TP53* і *ATM*) – 97% узораў, фасфатыдыл-инозитол-3-кіназнага сігнальнага каскаду (*PNET*, *PIK3CA* і *AKT1*) – 86%, а таксама мітаген-актываванага шляху (*ERBB4*, *FGFR2*, *FGFR3*, *KIT*, *EGFR*, *MET*, *RET*, *FLR3*, *PDGFRA*, *ERBB2*) – 97%.

Вынікі лкПЛР 54 пацыентаў пацвярджаюць залежнасць паміж наяўнасцю цпДНК ў плазме крыві і прагнозам прагрэсавання захворвання, так як атрыманы значныя адрозненні ў частаце выяўлення цпДНК ў пацыентаў з III стадыяй захворвання (53,6% выпадкаў (15/28)) у параўнанні са II стадыяй захворвання (23) ($p = 0,03$).

Калі супаставіць вынікі ўсіх лабараторных даследаванняў, то, ствараючы профілі стандартаў, можна ўкараніць новы метада прагназавання плыні такіх захворванняў, як КРР.

Вобласць ужывання: клінічная анкалогія, медыцынская дыягностыка.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: для ацэнкі верагоднасці прагрэсавання захворвання КРР у клініка-дыягнастычных лабараторыях.

ABSTRACT

Diplom work, 65 pages, 16 figures, 22 tables, 77 sources.

COLORECTAL CANCER, COLON CANCER, RECTAL CANCER, NGS, ALLELE-SPECIFIC PCR, DROPLET DIGITAL PCR, *KRAS*, *BRAF*, CIRCULATING TUMOR DNA, MOLECULAR GENETIC MARKERS.

Objective: paraffinized tumor tissue of patients with stages II-III colorectal cancer, blood plasma.

The subject of the study: molecular genetic markers of colorectal cancer.

Research methods: allele-specific PCR, droplet digital PCR, next-generation sequencing, statistical method, data analysis.

Tumor tissue samples from 223 patients with CRC were tested using AS-PCR technology. A total of 78 mutations were detected in the *KRAS* gene in 223 tested samples (35%). The main mutations were c.35G>A (p.G12D) and c.38G>A (p.G13D), detected in 35% (27/78) and 23% (18/78) of cases, respectively. *BRAF* gene testing showed that 13 out of 221 cases were diagnosed with the pathogenic V600E variant (6%), the remaining 208 samples (94.1%) were classified as "wild" type.

Molecular genetic studies using NGS technology were performed on 112 patients. The cohort of patients was dominated by abnormalities in genes encoding proteins involved in the genome integrity maintenance system (*TP53* and *ATM*) - 97% of samples, phosphatidyl-inositol-3-kinase signaling cascade (*PNET*, *PIK3CA* and *AKT1*) - 86%, and the mitogen-activated pathway (*ERBB4*, *FGFR2*, *FGFR3*, *KIT*, *EGFR*, *MET*, *RET*, *FLR3*, *PDGFRA*, *ERBB2*) - 97%.

The results of ccPCR of 54 patients confirm the relationship between the presence of ctDNA in blood plasma and the prognosis of disease progression, as significant differences in the frequency of ctDNA detection were obtained in patients with stage III disease (53.6% of cases (15/28)) compared with stage II disease (23.1% of cases (6/26)) ($p=0.03$).

By comparing the results of all laboratory studies, by creating profiles of standards, it is possible to introduce a new method for predicting the course of diseases such as CRC.

Application of the result: clinical oncology, medical diagnostics.

Recommendations for use: to assess the probability of CRC disease progression in clinical diagnostic laboratories.