

Результаты

Во всех случаях для АХТ использовали два препарата из следующего списка: карбоплатин, винорельбин, гемзар, доксорубин, иринотекан. Для назначения химиопрепаратов выделяли высокую, среднюю и низкую экспрессию генов монорезистентности и в зависимости от гена прогнозировали хороший, плохой или неопределенный ответ на химиопрепарат. По экспрессии генов ABCC5, RRM1 и TYMS, было установлено, что назначение гемзара показано всего для 32% пациентов (7/22) и у 15 больных (68%) назначение гемзара либо не было показано, либо было не определено. У подавляющего большинства больных (18 случаев из 22) наблюдается низкий уровень экспрессии гена ERCC1 и назначено лечение карбоплатином, в 9% случаях уровень экспрессии ERCC1 был высоким. В 91% случаев отмечался низкий или средний уровень экспрессии гена Top1 и иринотекан этим больным не назначался. Высокая экспрессия топоизомеразы IIa наблюдалась у 9 пациентов, этим пациентам был назначен доксорубин. В соответствии с экспрессией TUBB3, лечение винорельбином назначено для 7 пациентов. Был проведен анализ безрецидивной выживаемости в группах. У группы с персонализированным назначением АХТ отмечается улучшение показателей годичной выживаемости у больных на 18% (Log-rank test, $p = 0,06$), по сравнению с контролем, что свидетельствует об эффективности предложенного персонализированного метода назначения АХТ больным НМРЛ III стадии.

Выводы

Установлена возможность определения, посредством экспрессионных характеристик, персонализированного назначения схемы адъювантной химиотерапии. Расчетные показатели годичной безрецидивной выживаемости больных возросли приблизительно на 18%, что говорит об эффективности предложенного метода комбинированного лечения.

АЛЛЕЛЬНЫЙ ИМБАЛАНС В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИО- ТЕРАПИИ

1, 2 Цыганов М.М., 1 Ибрагимова М.К.,
1 Казанцева П.В., 1, 3 Слонимская Е.М.,

1, 2 Чердынцева Н.В., 1, 2 Литвяков Н.В.

1 Томский НИИ онкологии, г. Томск, Россия
2 Лаборатория трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины НИ Томского государственного университета, г. Томск, Россия
3 ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрав РФ, г. Томск, Россия

Актуальность

Явление аллельного имбаланса (АИ) характерно для многих генов при различных злокачественных новообразованиях. В настоящей работе исследуется АИ в процессе химиотерапии (ХТ) в широкогеномном формате при помощи микроматриц.

Материалы и методы

Цель: исследование аллельного имбаланса в опухоли молочной железы в процессе проведения неоадъювантной химиотерапии (НХТ).

В исследование было включено 26 больных РМЖ со стадией IIA–IIIC. Больные в неоадъювантном режиме получали 2–4 курса ХТ по схемам FAC или CAH. Затем проводилась операция и 2 курса адъювантной химиотерапии по схеме FAC, лучевая терапия и/или гормональное лечение назначались по показаниям. ДНК из 26 парных образцов до лечения и операционных образцов выделяли с помощью набора QIAampDNA miniKit (Qiagen, Germany). Микроматричный анализ проводили на ДНК-чипах высокой плотности фирмы Affymetrix (USA) CytoScan™ HD Array, которые содержат более 750 тыс. SNP (Single Nucleotide Polymorphism). После микроматричного анализа проводили сравнение генотипов по SNP ДНК опухолевой ткани до лечения и после НХТ у каждого пациента и регистрировали аллельный имбаланс как изменение генотипов опухолевой ткани (AA→AB, AB→AA, BB→AB, AB→BB) в процессе терапии. Для анализа безметастатической выживаемости использовался метод Каплана-Майера. Сравнение частот по качественным признакам проводили при помощи двухстороннего критерия Фишера.

Результаты

Для однонуклеотидного полиморфизма – SNP характерно явление аллельного имбаланса, при котором происходит утрата (структурная или функциональная) одного из аллелей. Нами было показано, что частота АИ в опухоли молочной железы при проведении НХТ сильно варьирует в пределах 0,9%–66,5% от всех изученных SNP (6850 – 497979 SNP). Для каждого пациента была рассчитана частота изменений генотипов (гомозиготного генотипа в гетерозиготный и, наоборот) в процентах от всех изменений. Смена дикого или мутантного генотипов

в гетерозиготный (AA или BB→AB) объединяли в одну группу; вторую группу составила сумма изменений гетерозиготного генотипа в гомозиготный дикий генотип или мутантный (AB→AA или BB). В среднем, для первой группы частота аллельного имбаланса составила $44,9 \pm 6,4\%$, для второй – $55,1 \pm 6,4\%$ от всех изменений генотипов SNP в процессе НХТ. Нами было установлено, что с направлением АИ статистически значимо ассоциирован эффект НХТ. В группе пациентов с частичной регрессией чаще происходит АИ в направлении смены гомозиготного генотипа в гетерозиготный (AA или BB→AB) (9/14, 64% случаев). Предполагается, что это происходит из-за повышения стромально-паренхиматозного соотношения в опухоли и увеличения представленности стромы, которая является носителем нормального гетерозиготного генотипа. Тогда как для пациентов с отсутствием ответа на НХТ (со стабилизацией или прогрессированием), наблюдается обратная картина. У всех этих пациентов (12/12 случаев) происходит АИ в направлении смены гетерозиготного генотипа в гомозиготный (AB→AA или BB) ($p = 0,00071$), т.е. наблюдается снижение стромально-паренхиматозного соотношения и представленность опухолевой паренхимы, с мутантным генотипом, возрастает. АИ в процессе химиотерапии на уровне выраженной тенденции (Log-rank test, $p = 0,062$) связан с 5-ти летней безметастатической выживаемостью. У пациентов с АИ в направлении смены гетерозиготных генотипов в гомозиготные наблюдается низкая безметастатическая выживаемость, в то время как у больных с инверсией гомозиготных генотипов в гетерозиготные отмечена 100% выживаемость ($p = 0,062$), и такое направление аллельного имбаланса является благоприятным прогностическим признаком.

Выводы

АИ в опухоли молочной железы в процессе НХТ является массовым явлением и может затрагивать до 67% SNP. АИ в направлении смены гомозиготных генотипов на гетерозиготные ассоциирован с хорошим ответом на НХТ и 100% безметастатической выживаемостью.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-04-03091А

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ГЕНАХ RASSF1A И MGMT СВЯЗАННЫЕ С ПАТОГЕНЕЗОМ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

1 Чельшева Д.С., 2, 3 Логинов В.И.,
2, 3 Пронина И.В., 2, 4 Бурденный А.М.,
2, 3 Брага Э.А., 1 Казубская Т.П.

1 ФГБУ Российский Онкологический Научный Центр им. Н.Н. Блохина, Москва, Россия.

2 ФГБУ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии, Москва, Россия;

3 ФГБУ Медико-генетический научный центр, Москва, Россия;

4 ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия;

Актуальность

Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место по числу заболевших женщин в мире. Особая роль в процессе развития РМЖ отводится эпигенетическим изменениям, таким как, метилирование регуляторных участков в промоторных районах генов, что является характерной чертой опухолевых клеток.

Материалы и методы

Анализ метилирования промоторных CpG-островков генов RASSF1A и MGMT проводили в парных образцах ДНК ($n = 58$) взятых у одного и того же пациента (опухоль/гистологически нормальная ткань молочной железы), с использованием метода МС-ПЦР (метилспецифичная ПЦР и с использованием конвертируемой бисульфитом ДНК в качестве матрицы). Был использован резекционный материал с содержанием опухолевых клеток не менее 70% от пациенток, не подвергавшихся ранее лучевой или химиотерапии. В качестве дополнительного контроля использовали 10 образцов тканей молочной железы, полученных от доноров без онкологических заболеваний в анамнезе. Статистический анализ проводили с применением точного критерия Фишера. Уровень значимости принят равным 0,05. Расчеты проводили в системе для статистического анализа данных STATISTICA6.1 RUS.

Результаты. Показано, что частота метилирования промоторных районов генов RASSF1A и MGMT у пациенток с РМЖ составляет ~20%, в то же время метилирование промоторных районов генов RASSF1A и MGMT в образцах ДНК из гистологически нормальной ткани,