

iTRAQ-масс-спектрометрии показали, что количество субъединиц 20S протеасомы в кондиционированной клетками среде в 2 раза выше, чем в клетке, однако, белков 19S регулятора, напротив, почти в 1.5 раза меньше. Это означает, что в среде протеасомная популяция обогащена 20S протеасомами и (или) 19S комплекс заменен на другой протеасомный регулятор, такой как, например, 11S или PA200 комплексы, что также подтверждается повышенным содержанием этих регуляторов в среде. Мы подтвердили с помощью электрофоретического разделения белков среды в нативных условиях, что популяция внеклеточных протеасом состоит по большей части из свободных 20S комплексов, что свидетельствует о функционировании внеклеточных протеасом вне убиквитин-зависимой системы. Мы выявили с помощью MALDI-ICR-масс-спектрометрии в составе аффинно-очищенных из кондиционированной клетками среды протеасом стандартный набор из субъединиц 20S протеасомы, а также PA200 регулятор, который, как полагали ранее, локализуется лишь в ядре клеток. Обнаружены нами новые сайты убиквитинирования протеасомных субъединиц $\alpha 2$ (K196), $\alpha 4$ (K189 и K234) и $\alpha 6$ (K217). Убиквитинирование субъединиц протеасом практически не исследовано. Мы полагаем, что эта модификация может участвовать в белок-белковых взаимодействиях, обеспечивая тонкую настройку на специфичность связывания белкового субстрата при убиквитин-независимом протеолизе, а также в транспорте протеасом из клетки во внеклеточное пространство.

Выводы

Внеклеточные протеасомы – 20S комплексы, которые, по всей видимости, осуществляют убиквитин-независимый протеолиз внеклеточных белков.

Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (15-04-08128) и правительства СПб с использованием оборудования ЦКП «Аналитический центр нано- и биотехнологий ГОУ СПбГПУ» на базе ФГБОУ ВПО СПбГПУ.

УЛУЧШЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ВЫЖИВАЕМОСТИ БОЛЬНЫХ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО ПРИ ПЕРСОНИФИЦИРОВАННОМ НАЗНАЧЕНИИ АДЪЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Цыганов М.М., Родионов Е.О.,
Дерюшева И.В., Миллер С.В.,
Тузиков С.А., Литвяков Н.В.

Томский НИИ онкологии, Томск, Россия
Национальный исследовательский Томский
государственный университет, Томск, Россия
ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России, Томск, Россия

Актуальность

Индивидуализация химиотерапии является важной задачей для лечения немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). Известно, что ответ опухоли на отдельные препараты коррелирует с уровнем экспрессии генов монорезистентности (MP), таких как: RRM1, ABCC5, ERCC1, Top1, Top2 α , TYMS и TUBB3.

Материалы и методы

Цель исследования: повышение эффективности лечения рака легкого за счет индивидуализации назначения схемы адъювантной химиотерапии (АХТ)

В исследование включены 22 больных НМРЛ III стадии, которые составили опытную группу. Больные в неоадъювантном режиме получали 2 курса химиотерапии по схеме винорельбин-карбоплатин. После НХТ пациентам проводилась операция, далее назначалась АХТ по персонифицированным показаниям в зависимости от уровня экспрессии генов MP в остаточной резидуальной опухоли. Исторический контроль составили 31 пациент, которым после НХТ по схеме винорельбин-карбоплатин и выполнения радикального хирургического лечения, назначалась адъювантная химиотерапия по этой же схеме. Тотальную РНК выделяли из операционных образцов опухоли больных опытной группы с помощью набора RNeasy Plus mini Kit (Qiagen, Germany). Уровень экспрессии генов маркеров химиочувствительности оценивали при помощи количественной обратной транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (Юмов Е.А. и др., 2014), относительно прилежащей нормальной ткани. Для анализа безрецидивной выживаемости использовали метод Каплана-Майера.

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