



МЕЖДУНАРОДНЫЙ ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ ПО ОНКОЛОГИИ

ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ ОПУХОЛИ

Номер 3 • 2014

МАТЕРИАЛЫ XVIII РОССИЙСКОГО ОНКОЛОГИЧЕСКОГО КОНГРЕССА

МОСКВА, 11-13 НОЯБРЯ 2014

Официальный журнал Профессионального общества онкологов-химиотерапевтов (РФ)

Издается при финансовой поддержке Благотворительного фонда содействия профилактике, диагностике и лечению онкологических заболеваний "Онкопрогресс"

О:КО
ПРОГРЕСС
Благотворительный фонд

Соматические мутации в генах сигнального пути рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) встречаются с высокой частотой при различных онкологических заболеваниях. Определение мутаций в 12, 13 и 15 кодонах гена KRAS и в 15 экзоне гена BRAF позволяет предсказывать эффективность применения моноклональных антител и ингибиторов EGFR и BRAF. Разработанная нами методика, реализованная с помощью системы генетического анализа «PyroMark Q24» («Qiagen», Германия), позволяет однозначным образом определять нуклеотидную последовательность 12–15 кодонов гена KRAS и 592–601 кодонов гена BRAF и выявлять все мутации, описанные в этих локусах (www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/). Предел детекции составляет 3% для мутаций в гене KRAS (G12C, G12D, G13D) и мутаций 600 кодона гена BRAF (V600E, V600K, V600M, V600R), 5–7% для мутаций D594G (5%) и D594V (7%) и 15% для K601N гена BRAF.

Соматическая мутация V617F в гене JAK2 выявляется в большинстве случаев Ph-негативных хронических миелопролиферативных заболеваний (до 90–95% при истинной полицитемии). Количественное определение мутантного аллеля может использоваться для уточнения диагноза, прогнозирования течения заболевания, выбора оптимального лечения и мониторинга эффективности терапии. Методика для количественной оценки мутации V617F в гене JAK2 с использованием системы генетического анализа «PyroMark Q24» позволяет с высокой точностью определять долю мутантного аллеля (коэффициент корреляции Спирмена между ожидаемой и измеренной аллельной нагрузкой 0,999), предел детекции методики составил 7%. Зависимость ожидаемой доли мутантного аллеля в образце от детектируемого значения описывается уравнением прямой со следующими коэффициентами регрессии: $y=0,97x-1,32$.

Анализ генетических полиморфизмов в генах, участвующих в транспорте и метаболизме лекарственных препаратов, а также в генах, кодирующих молекулы-мишени препаратов, позволяет прогнозировать ответ организма на назначение различных лекарственных препаратов или их сочетаний, предсказывать эффективность и безопасность лечения. Набор реагентов «АмплиСенс® Пироскрин» (ФСР 2012/13246) включает 7 профилей генетического исследования, позволяющих определять 34 SNP в 14 генах первой и второй фаз биотрансформации и генах белков-транспортёров. Определение этих полиморфизмов направлено на оценку индивидуальных фармакогенетических особенностей организма с целью подбора наиболее эффективной и безопасной лекарственной терапии.

Разработанный при создании набора реагентов «АмплиСенс® Пироскрин» универсальный протокол исследования генетических локусов может быть использован для создания методик выявления и количественного анализа соматических мутаций в других онкогенах, а также для расширения спектра анализируемых генетических полиморфизмов.

Полиморфизм гена фактора некроза опухолей TNF влияет на выраженность депрессии среди операбельных больных РМЖ

Маливанова Т.Ф., Ткаченко Г.А., Родионова М.В., Мазуренко Н.Н. Воротников И.К.

Место работы: ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Эл. почта: tmalivanova@yandex.ru

Цель работы: Исследования последних нескольких лет говорят о тесной связи социо-психологической и физиологической адаптации, значительную роль в которой играет фактор некроза опухоли TNF. Это многофункциональный цитокин, который способен вызывать как апоптоз, так и пролиферацию клеток различных тканей в зависимости от физиологического контекста. TNF секретируется, в основном, моноцитами и макрофагами, а его продукция микроглией контролирует гомеостаз в ЦНС. TNF играет важную роль в канцерогенезе на всех его этапах и ассоциирован с рядом онкологических заболеваний. В то же время показана его ассоциация с депрессией, которая в свою очередь повышает смертность онкологических больных. Известно, что полиморфизм гена TNF способен влиять на продукцию этого цитокина: одно-нуклеотидная замена в сайте –308 (G>A) TNF увеличивает, а в сайте –238 (G>A) TNF — снижает уровень транскрипции. Ранее нами была обнаружена зависимость общей выживаемости больных РМЖ от этих полиморфизмов. Целью работы было оценить влияние полиморфизма гена TNF на выраженность депрессии у российских больных РМЖ.

Материалы и методы: В исследование было включено 63 первичных больных РМЖ, получавших оперативное лечение в отделении опухолей молочной железы НИИ КО РОИЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. Средний возраст составил 58,5 (от 30 до 76) лет. Среди них 27,6% были в возрасте <50 лет; 80,0% РЭ+; 22,0% HER2/neu+; по стадиям заболевания I—29,3%, II—50,0%, III стадия—20,7%. Уровень тревоги (Т) и депрессии пациентов (Д) оценивался в баллах по результатам тестирования по шкале HADS, проводившегося в день госпитализации. Для сравнительного анализа использовали параметрический t-критерий Стьюдента. Для проведения генетического анализа препараты ДНК получали из лейкоцитов периферической крови больных РМЖ. Определение полиморфизмов — 308 (G/A) TNF и –238 (G/A) TNF проводили методами сайт-специфической ПЦР и ПЦР-ПДРФ, соответственно. Для сравнения частоты генотипов в отдельных группах использовали точный критерий Фишера.

Результаты: Аллель –238 (A) TNF был выявлен у 6 больных (9,5%), аллель –308 (A) TNF — у 16 больных РМЖ (25,4%), что не отличается от полученных нами ранее данных для больных РМЖ и женщин без онкологических заболеваний. По результатам генотипирования были выделены следующие группы: 1) носители аллеля –238 (A) TNF (n=6), 2) носители аллеля –308 (A) TNF (n=16), 3) не имеющие таких аллелей (n=42). Одна пациентка была носителем альтернативных (A) аллелей по двум исследуемым сайтам и была отнесена как к 1, так и к 2 группе. Выделенные генетические группы не имели статистически значимых отличий по основным клиническим характеристикам (возрасту, стадии заболевания, рецепторному статусу и гиперэкспрессии HER2/neu). В трех выделенных группах также не обнаружено отличий в показателях уровня тревожности (Т 1=10,5±2,2; Т 2=9,3±0,7; Т 3=8,8±0,5; p≥0,05). В то же время, выраженность депрессии была достоверно выше в группе 1 по сравнению с группой 3 (Д1=9,5±1,2 и Д3=5,0±0,5, соответственно; p<0,01), но не достигла статистически значимых величин при

сравнении с группой 2 ($D2 = 5,9 \pm 0,9$; $p \geq 0,05$), что коррелирует с обнаруженным ранее снижением общей выживаемости носителей аллеля -238 (A) TNF больных РМЖ (Маливанова Т. с соавт., 2013).

Заключение: Таким образом, носительство аллеля -238 (A) TNF (пациенты группы 1) сопровождается повышением уровня выраженности депрессии. Дальнейшее наблюдение, а также расширение исследуемой выборки, позволит оценить прогностическую значимость этих маркеров для РМЖ.

Роль молекулярно-генетического исследования при раке молочной железы

Снигирева Г.П., Агаджанян А.В., Новицкая Н.Н., Новикова Е.И., Румянцев В.А., Тельшева Е.Н., Хазинс Е.Д.

Место работы: ФГБУ «Российский научный центр рентгенодиагностики» Минздрава РФ, Москва

Эл. почта: snigiryova@rncrr.rusni_gal@mail.ru

Одной из актуальных проблем современной медицины является ранняя диагностика онкологической патологии и персонализированный выбор тактики лечения больных. Тестирование рака молочной железы (РМЖ) на молекулярные нарушения, ассоциированные с наследственной формой заболевания, позволяет более дифференцированно подходить к выбору оптимальной тактики хирургического и лекарственного лечения, а также профилактике онкопатологии у родственников.

Целью данной работы являлась разработка алгоритма молекулярно-генетического обследования лиц с доброкачественной и злокачественной патологией молочной железы для выявления наследственной формы заболевания.

Материалы и методы: Комплексное молекулярно-генетическое обследование пациентов включало: 1) сбор и анализ информации о наличии в семье родственников с онкопатологией; 2) анализ мутации в «горячих точках» генов BRCA1/2 методом аллель-специфичной ПЦР с последующим секвенированием по Сенгеру в случае положительного результата; 3) анализ мутаций в 94 генах методом секвенирования «нового поколения» (NGS); 4) медико-генетическую консультацию «носителей» мутаций.

Результаты: Разработанный алгоритм комплексного молекулярно-генетического обследования успешно применяется в клинике РНЦРР. К настоящему времени обследовано более 3000 пациенток с доброкачественными и злокачественными заболеваниями молочной железы. Примерно у 12% обследованных были выявлены наследственные мутации в «горячих точках» генов BRCA1/2 методом аллель-специфичной ПЦР. 108 пациенток с диагнозом рак молочной железы и клиническими признаками наследственного заболевания в возрасте от 30 до 50 лет были отобраны для исследования молекулярно-генетических нарушений в 94 генах методом секвенирования «нового поколения» (NGS). Для каждой пациентки было получено порядка 300 генетических вариантов в 94 генах, ассоциированных с повышенным риском возникновения онкологической патологии. При анализе генетических вариантов в генах предрасположенности к РМЖ (BRCA1, BRCA2, RAD51, TP53, STK11, NBN, PTEN, CHEK2, PALB2, BRIP1, ATM, MLH1, MSH2, MSH6) у 31% пациенток были выявлены клинически значимые мутации в генах BRCA1, BRCA2, CHEK2, NBS1, ATM, PALB2. Одним из интересных фактов является обнаружение

у 7 пациенток двух патогенных мутации в генах, ассоциированных с повышенным риском развития РМЖ, что в свою очередь, может значительно увеличивать риск развития онкологической патологии.

Заключение: Разработанный на основе патогенетического подхода алгоритм обследования лиц с доброкачественной и злокачественной патологией молочной железы позволит существенно улучшить раннюю диагностику и терапию РМЖ.

Микроматричное исследование связи генного полиморфизма и изменение экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы при проведении неoadъювантной химиотерапии

Цыганов М.М.^{1,2}, Литвяков Н.В.^{1,2}, Дерюшева И.В.³, Слонимская Е.М.^{1,3}, Чердынцева Н.В.^{1,2,3}

¹ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск, Россия

²Лаборатория трансляционной молекулярной и клеточной биомедицины Национального исследовательского Томского государственного университета, г. Томск, Россия

³ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Томск, Россия

Эл. почта: TsyganovMM@yandex.ru

Актуальность: Ранее нами было показано, что эффект неoadъювантной химиотерапии (НХТ) связан с изменением экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) в опухоли молочной железы (РМЖ). Непосредственный эффект НХТ отсутствует при повышении экспрессии генов МЛУ и отмечается при снижении их экспрессии в процессе НХТ [Litviakov N. et al., 2013]. Хорошо известно, что одним из факторов, определяющим на индивидуальном уровне вариабельность экспрессии генов, в том числе и генов множественной лекарственной устойчивости, является нормальная генетическая изменчивость, обусловленная генным полиморфизмом (SNP — Single Nucleotide Polymorphism). В этой связи, целью работы явилось широкогеномное исследование ассоциации полиморфизмов с изменением экспрессии генов МЛУ в опухоли молочной железы при проведении НХТ.

Материал и методы: В исследование были включены 69 больных РМЖ. Все пациенты получали 2–4 курса НХТ (FAC, SAK). ДНК выделяли из 69 биопсийных образцов опухолевой ткани до лечения. Тотальную РНК выделяли из 69 парных образцов до лечения и операционных образцов после НХТ. Концентрацию и чистоту выделения ДНК и РНК оценивали на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA). Целостность ДНК и РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA). Целостность РНК оценивалась по показателю RIN, который составил 5,6–7,6. Оценку экспрессии генов МЛУ: ABCB1, ABCG1, ABCG2, GSTP1 и MVP проводили при помощи qRT-PCR. Относительная экспрессия МЛУ была оценена с помощью метода Pfaffl. В качестве гена-реферери использовали ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH (glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase). В качестве конечного результата изменения экспрессии генов МЛУ использовалось логарифмически трансформированное, по основанию e, отношение уровня экспрес-