

моноцентрическим раком молочной железы после органосохраняющего лечения.

Материал и методы. Проведен ретроспективный анализ историй болезни 320 больных как мультицентрическим, так и моноцентрическим раком молочной железы, получивших лечение на базе отделения радиохирургии РОНЦ им. Н.Н. Блохина и Челябинского областного онкологического диспансера за период с 1975 по 2003 г. Разделение больных на группы зависело от множественности опухолевого поражения молочных желез и характера хирургического лечения. Таким образом было сформировано три группы: больные с клинически выявленным мультицентрическим раком молочных желез $T_{1-2}N_{0-2}M_0$, которым было проведено органосохраняющее хирургическое лечение ($n=61$); больные с клинически выявленным мультицентрическим раком молочных желез $T_{1-2}N_{0-2}M_0$, которым проводилась радикальная мастэктомия ($n=75$); больные моноцентрическим раком молочных желез $T_{1-2}N_{0-2}M_0$, которым выполнено органосохраняющее хирургическое лечение ($n=184$).

Результаты. Из 1520 больных раком молочной железы, которым было выполнено органосохраняющее лечение с 1975 по 2003 г. в отделении радиохирургии РОНЦ им. Н.Н. Блохина, 4 % составили больные мультицентрическим раком молочной железы. Частота выявления мультицентрического рака молочной железы по

Челябинской области за 1993–1997 гг. составила 3,7 %. Общая, безрецидивная выживаемость и выживаемость без местного рецидива в течение 10 лет у больных моноцентрическим раком молочной железы $T_{1-2}N_{0-2}M_0$ после органосохраняющего лечения составила соответственно $79,2 \pm 3,5$; $66,9 \pm 3,9$ и $92,4 \pm 2,3$ %. Общая, безрецидивная выживаемость и выживаемость без местного рецидива в течение 10 лет у больных мультицентрическим раком молочной железы $T_{1-2}N_{0-2}M_0$ после радикальной мастэктомии составила соответственно $77,3 \pm 5,8$ %, $66,7 \pm 6,3$ % и $91,2 \pm 5,4$ %. Общая, безрецидивная выживаемость и выживаемость без местного рецидива в течение 10 лет у больных мультицентрическим раком молочной железы $T_{1-2}N_{0-2}M_0$ после органосохраняющего лечения составила соответственно $84 \pm 5,6$ %, $80,3 \pm 5,7$ % и $92,7 \pm 3,5$ %. Статистически значимых различий по всем видам выживаемости между группами больных получено не было.

Выводы. Показатели 10-летней выживаемости (общей, безрецидивной и без местного рецидива) у больных мультицентрическим раком молочной после органосохраняющего лечения сопоставимы с таковыми у больных с моноцентрическим раком молочной железы после органосохраняющего лечения и у больных с мультицентрическим раком молочной железы после органосохраняющего лечения.

АНАЛИЗ СТАТУСА МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОВ КОНТРОЛЯ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА (P14ARF, CDKN2B И RB1) ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

О.В. ВАСИЛЬЕВА¹, Е.Н. ТОЛМАЧЁВА¹, Е.А. МАЛИНОВСКАЯ², Е.В. ДЕНИСОВ²,
И.Н. ЛЕБЕДЕВ¹

ГУ «НИИ медицинской генетики Томского научного центра СО РАМН»¹

ГУ «НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН»²

Актуальность. Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место среди всех онкологических заболеваний у женщин. Развитие новых методов ранней диагностики РМЖ является необычайно актуальной и важной задачей. В последнее десятилетие было установлено, что

в многостадийном процессе образования опухолей нарушение функций клеточных генов может происходить не только в результате генетических событий (точечные мутации, делеции, амплификация), но и в результате эпигенетических изменений, в том числе локального гипермети-

лирования ДНК. В последнее время разработаны методы идентификации гиперметилованных районов ДНК, основанные на дифференциальном статусе метилирования CpG-островков в нормальных и опухолевых клетках.

Цель исследования. Изучение характера метилирования промоторных и регуляторных областей генов контроля клеточного цикла при спорадическом РМЖ. Для характеристики профиля метилирования при спорадическом РМЖ были выбраны гены *p14^{ARF}*, *CDKN2B* и *Rb1*.

Материал и методы. В качестве объекта исследовались 39 опухолей РМЖ. ДНК была выделена из опухолевых образцов с использованием набора GenElute™ Mammalian Genomic DNA («Sigma», США). Метилспецифическую ПЦР проводили с использованием праймеров на промоторные регионы генов (Xing et al., 1999; Roncalli et al., 2002; Gonzalez-Gomez et al., 2003). Бисульфитную модификацию ДНК проводили в течение 1 ч при 95 °С. Модифицированную ДНК очищали с помощью набора «Wizard® DNA Clean-up System» («Promega», США) в соответствии с рекомендациями производителя. Фрагменты ДНК фракционировали с помощью гель-электрофореза в 2,5 % агарозном геле и визуализировали в проходящем свете на установке «GelDoc» («Bio-Rad», США).

Результаты. Анализ статуса метилирования гена *p14^{ARF}* дал следующие результаты: 19 образцов из 33 имели как метилированный, так и неметилованный аллель, что составило около 58 % от общего количества исследуемых образцов; в четырех случаях наблюдали только метилированный аллель, что составило 12 % от общего количества. В целом aberrантное метилирование гена обнаружено в 70 % случаев. Ядерный белок p14 обладает способностью стабилизировать и активировать белок p53 – «хранитель генома», за счет инактивации белка MDM2, который вызывает деградацию p53. В то же время увеличение количества активного p53 подавляет экспрессию *p14^{ARF}* и активизирует транскрипцию MDM2. Таким образом, в клетке существует авторегуляторная «петля», которая действует по механизму обратной связи и связывает экспрессию ряда генов (*p53*, *p14^{ARF}* и *MDM2*). Гиперметилование промоторной области гена *p14^{ARF}* обнаружено при раке пищевода (15 %) (Xing E. et al., 1999), легкого (8 %) (Zochbauer-Muller S. et al., 2001) и

толстой кишки (28 %) (Esteller M. et al., 2001). Ген *p14^{ARF}* локализован в регионе 9p21, в одном районе с генами *p16/INK4a/CDKN2A* и *p15/INK4b/CDKN2B* в пределах 50 тыс. п. о. Статус метилирования гена *CDKN2B* в опухолях РМЖ составил около 8 % (3 из 39 исследуемых образцов, причём все имели как метилированный, так и неметилованный аллель). Ген *CDKN2B* расположен вблизи *CDKN2A*, обладает с ним высокой гомологией, а его продукт, как и *CDKN2A*, ингибирует циклинзависимую протеинкиназу cdk4. В отличие от *CDKN2A* ген *CDKN2B* экспрессируется не постоянно, а только в ответ на действие трансформирующего фактора роста β (TGF-β). Гиперметилование *CDKN2B* – доминирующий способ инактивации этого гена-супрессора в опухолях системы кровотока. Частота метилирования *CDKN2B* при В-клеточных острых лимфолейкозах составляет 64 %, при Т-клеточных острых лимфолейкозах – 44 % и при лимфомах – 62 % (Baur A.S. et al., 1999). В солидных опухолях метилирование *CDKN2B* встречается редко. Статус метилирования гена *Rb1* был проанализирован в 36 опухолях РМЖ. Aberrантного метилирования гена *Rb1* в нашем исследовании не было обнаружено. Отмечен вклад аномального метилирования этого гена в происхождение других опухолей. В частности, метилирование гена *Rb1* отмечено в 25 % образцов глиобластомы, а с помощью иммуногистохимических методов установлено снижение его экспрессии (Nakamura M. et al., 2001). Негативное влияние метилирования на экспрессию *Rb1* показано и при раке легкого (Geradts J. et al., 1999).

Выводы. При анализе статуса метилирования трех генов контроля клеточного цикла в опухолях РМЖ наибольшая частота aberrантного метилирования промоторного региона была выявлена для гена *p14^{ARF}* (70 %), аномальное метилирование гена *CDKN2B* встречается редко (8%) и не обнаружено гиперметилования гена *Rb1*. Метилирование промотора *p14^{ARF}* снижает экспрессию гена и, таким образом, способно нарушить механизм регуляции p53-пути в клетке и, соответственно, приводить к развитию опухоли.

Работа выполнена в рамках интеграционного проекта СО РАМН «Молекулярно-генетические механизмы формирования и прогрессии РМЖ»