

Individuálna rádiosenzitivita pacientiek s rakovinou prsníka



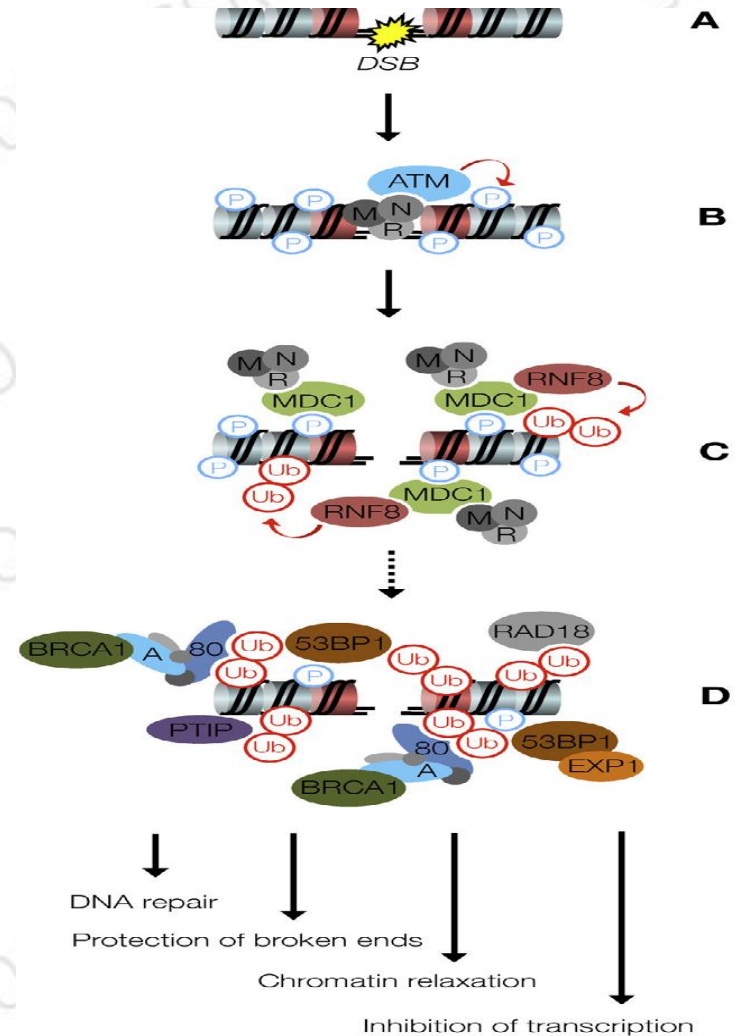
Mgr. Matúš Durdík, PhD.
Oddelenie Radiobiológie
Ústav experimentálnej
onkológie BMC SAV

Rádiosenzitivita u pacientiek s rakovinou prsníka

- Najčastejší typ rakoviny u žien
- Liečba chemoterapia (CHT), rádioterapia (RT)
- U približne 1-5% pacientiek podstupujúcich RT sa vyskytne vážna akútna toxicita (Gr2-Gr3 podľa RTOG)
- Akútna toxicita: kožné reakcie ako napr. erytém, telangiektázie
- Ionizujúce žiarenie (IŽ) používané pri rádioterapii indukuje DNA dvojvláknové zlomy, apoptózu a chromozomálne aberácie

DNA dvojvláknové zlomy (DSB)

- Najnebezpečnejší typ poškodenia DNA – sú indukované IŽ
- Proteíny zapojené v oprave DNA môžu byť vizualizované pomocou špecifických protilátok a kvantifikované fluorescenčnou mikroskopiou
- γ H2AX/53BP1 DNA opravné fokusy
- Neopravené DSB vedú k apoptóze, nesprávne opravené k vzniku chromozomálnych aberácií



Ciele práce

- Študovať vplyv individuálnej rádiosenzitivity pacientiek s rakovinou prsníka na odpoveď DNA na poškodenie v *in vivo* a *in vitro* podmienkach.

Materiál a metódy

Biologický materiál: Lymfocyty periférnej krvi pacientiek s rakovinou prsníka (n = 57) odobrané pred, počas (po 1. týždni RT) a po skončení RT (1 mesiac a 1 rok).

Metódy *in vivo*: γ H2AX/53BP1 DNA opravné fokusy (fluorescenčná mikroskopia – METAFER), apoptóza (prietoková cytometria), chromozomálne aberácie (dicentrické a kruhové chromozómy) a mikrojadrá

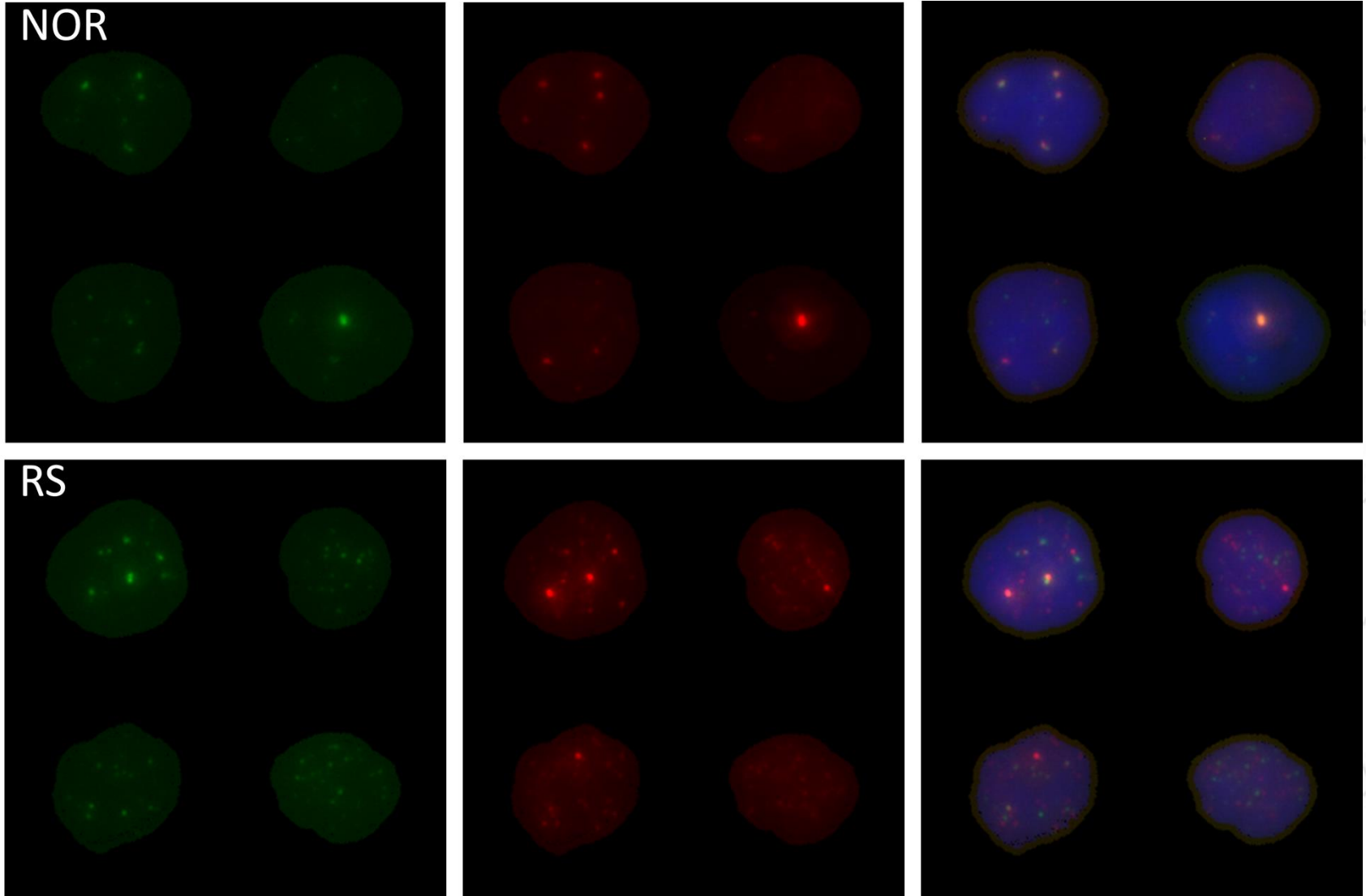
Metódy *in vitro*: *in vitro* ožarovanie dávkou 2 Gy (Lineárny urýchľovač Varian TruBeam – OUSA), analýza γ H2AX/53BP1 DNA opravných fokusov 30 minút, 2 a 24 hod a radiačne indukovanej apoptózy 0, 24 a 48 hodín po ožiarení

DNA opravné fokusy *in vivo*

γ H2AX

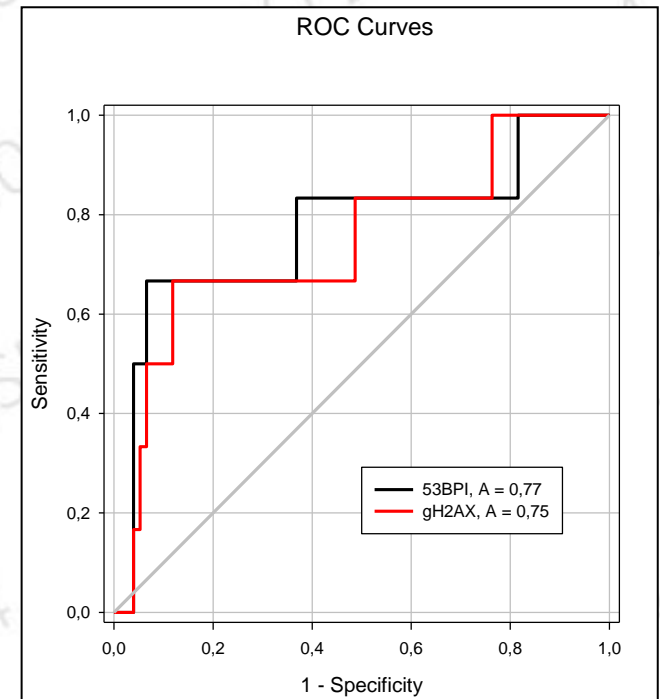
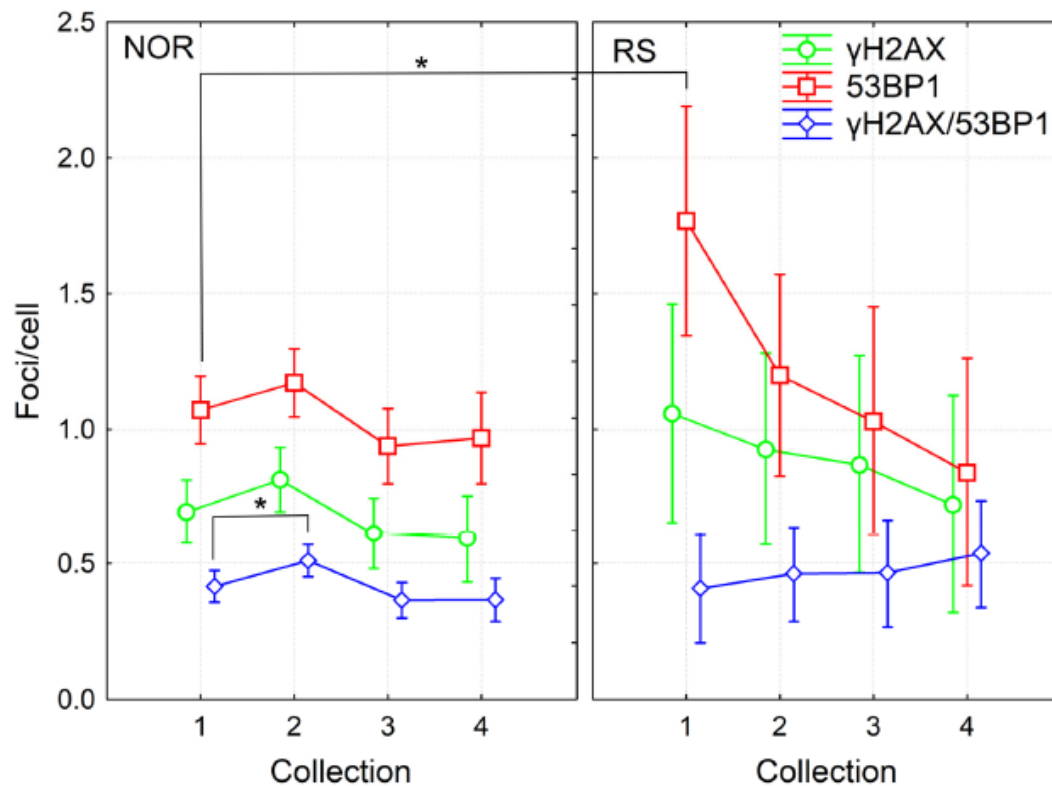
53BP1

Merge



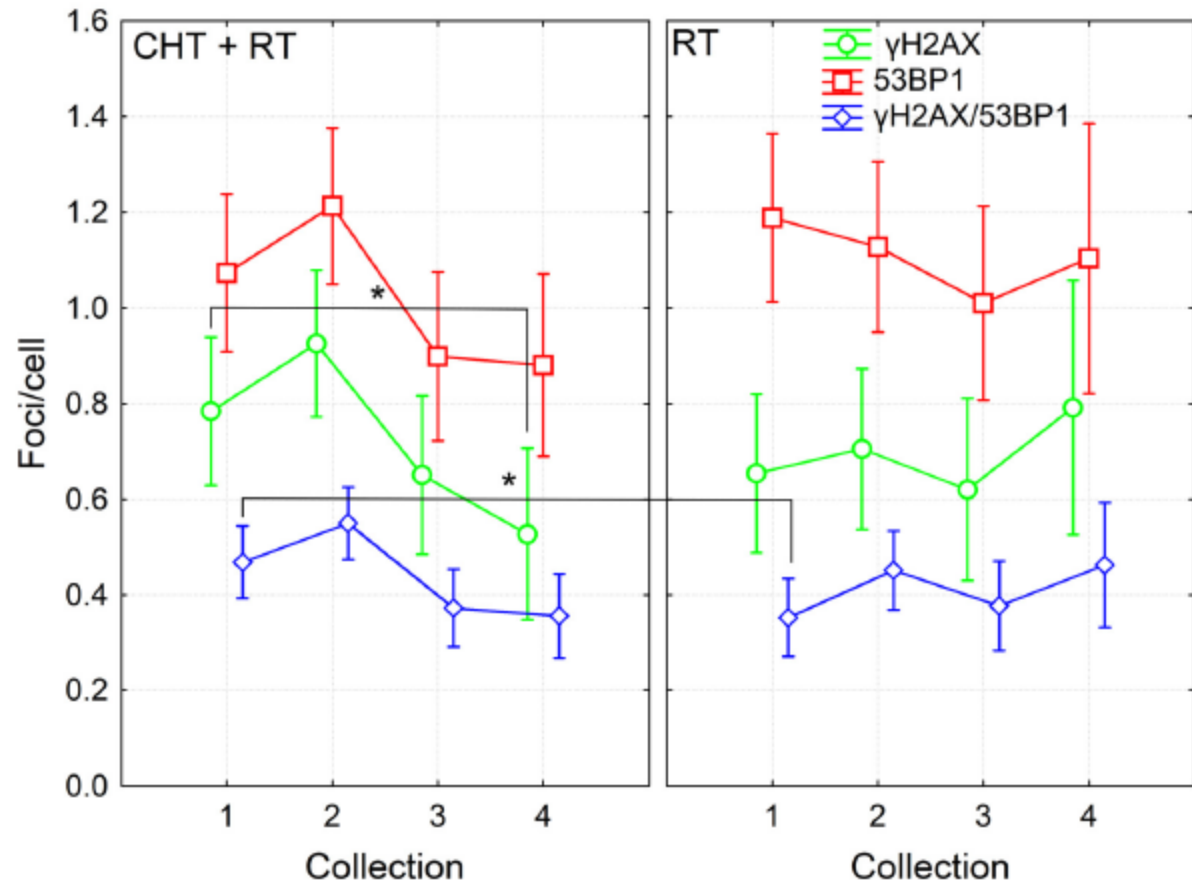
DNA opravné fokusy *in vivo*

- významne zvýšenie 53BP1 fokusov a trend k vyššej úrovni γ H2AX u pacientiek s akútnou toxicitou Gr2 (podľa RTOG) (n = 5) v porovnaní s pacientkami s normálnou odpoveďou na liečbu (n = 52)
- ROC analýza ukazuje na nedostatočnú prediktívnu hodnotu gH2AX a 53BP1 ako markerov individuálnej rádiosenzitivity (AUC = 0,75 a 0,77 resp.)
- 1** – pred RT, **2** – po týždňi RT, **3** – mesiac po RT, **4** – rok po RT



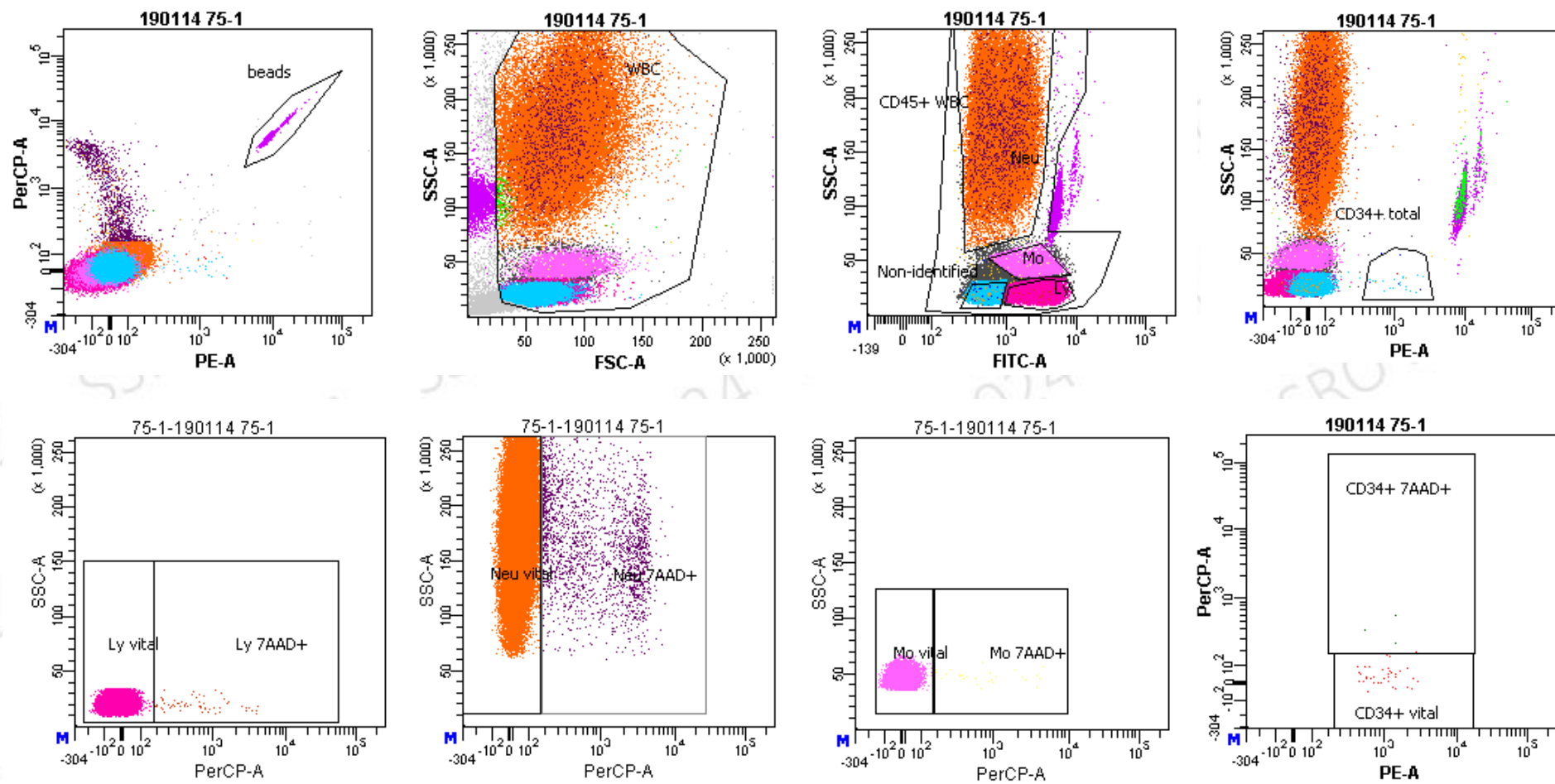
DNA opravné fokusy *in vivo*

- CHT + RT (n = 27),
iba RT (n = 30)
- Vyššia úroveň
DNA poškodenia u
pacientiek, ktoré
absolvovali CHT



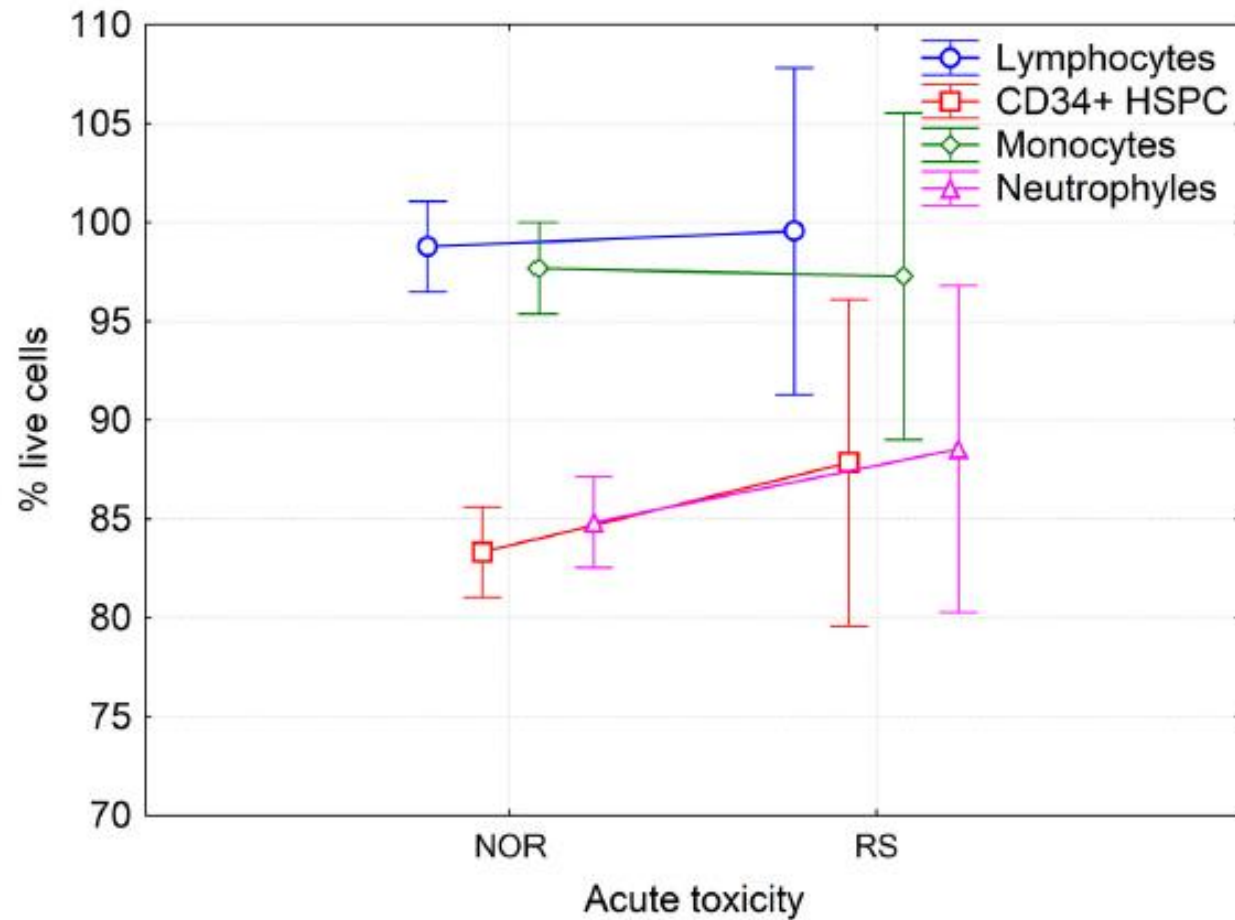
1 – pred RT, 2 – po týždni RT, 3 – mesiac po RT, 4 – rok po RT

Analýza apoptózy *in vivo*

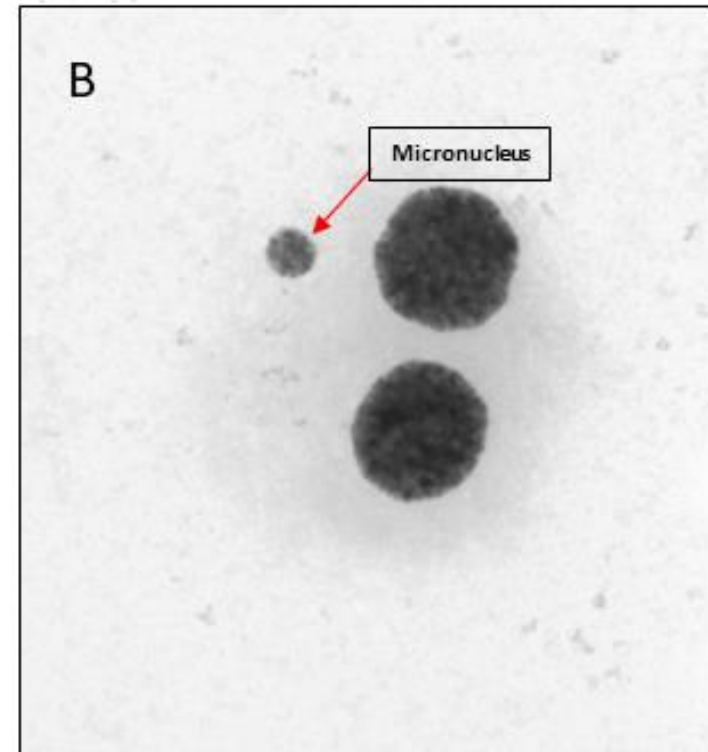
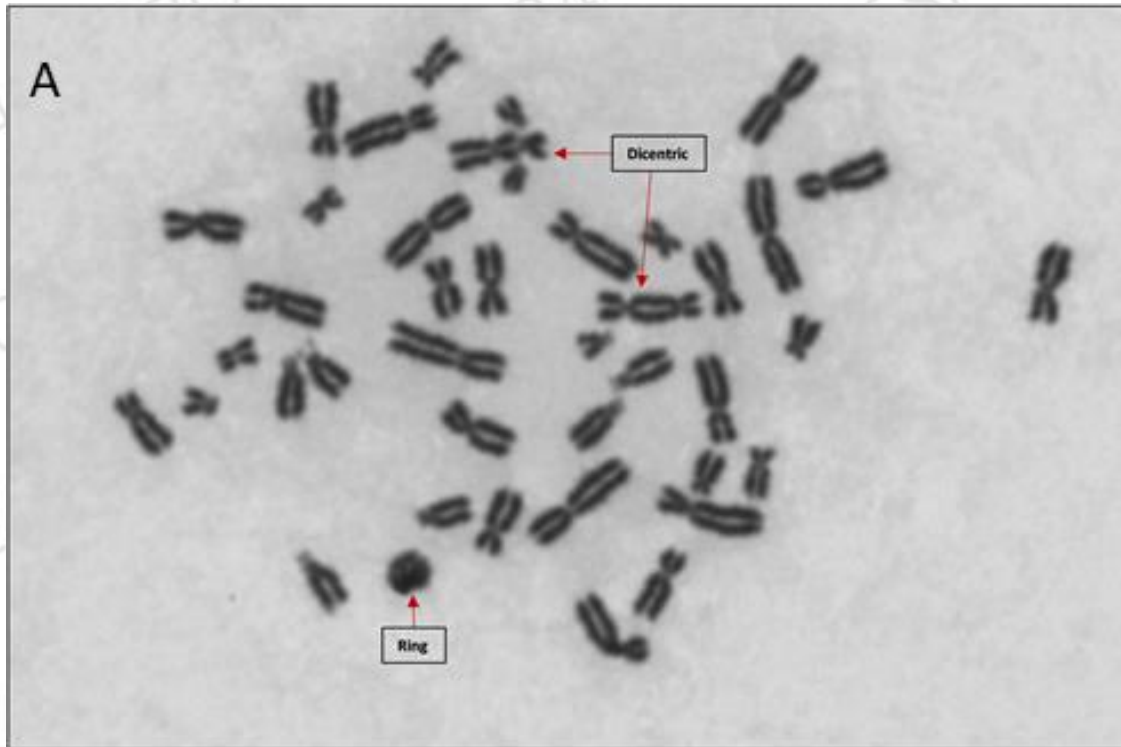


Analýza apoptózy *in vivo*

- Nepozorovali sme rozdiel medzi rádiosenzitívnymi a nerádiosenzitívnymi pacientkami v prežívaní buniek periférnej krvi pred začiatkom RT
- Trend k vyššiemu prežívaniu HSPC a neutrofilov u rádiosenzitívnych pacientiek



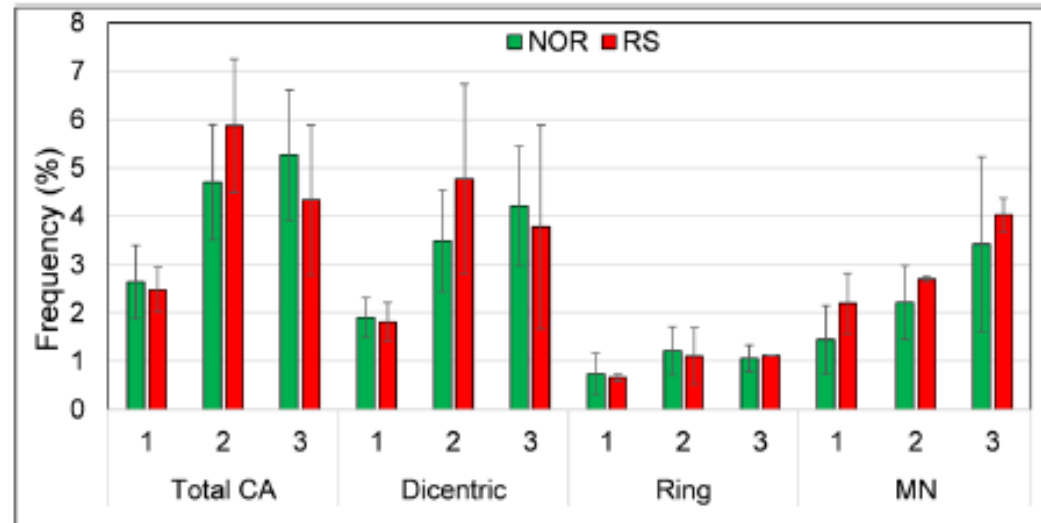
Analýza Chromozomálních aberací a mikrojadier *in vivo*



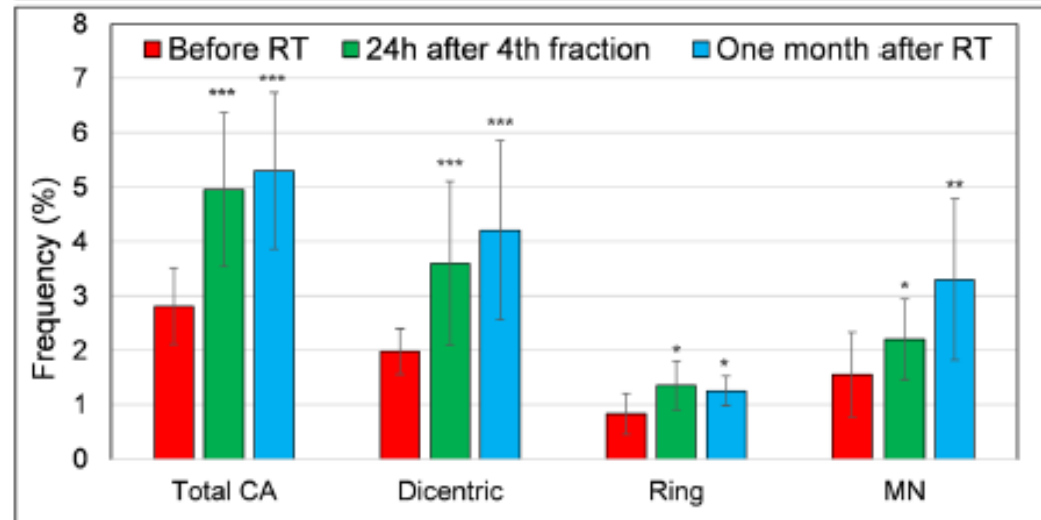
Analýza Chromozomálnych aberácií a mikrojadier *in vivo*

- Iba 2 rádiosenzitívne pacientky, NOR (n = 11)
- Trend k vyššej úrovni mikrojadier u RS pacientiek vo všetkých analyzovaných odberoch
- Akumulácie chromozomálnych aberácií a mikrojadier a pretrvávanie zvýšenia mesiac po skončení RT

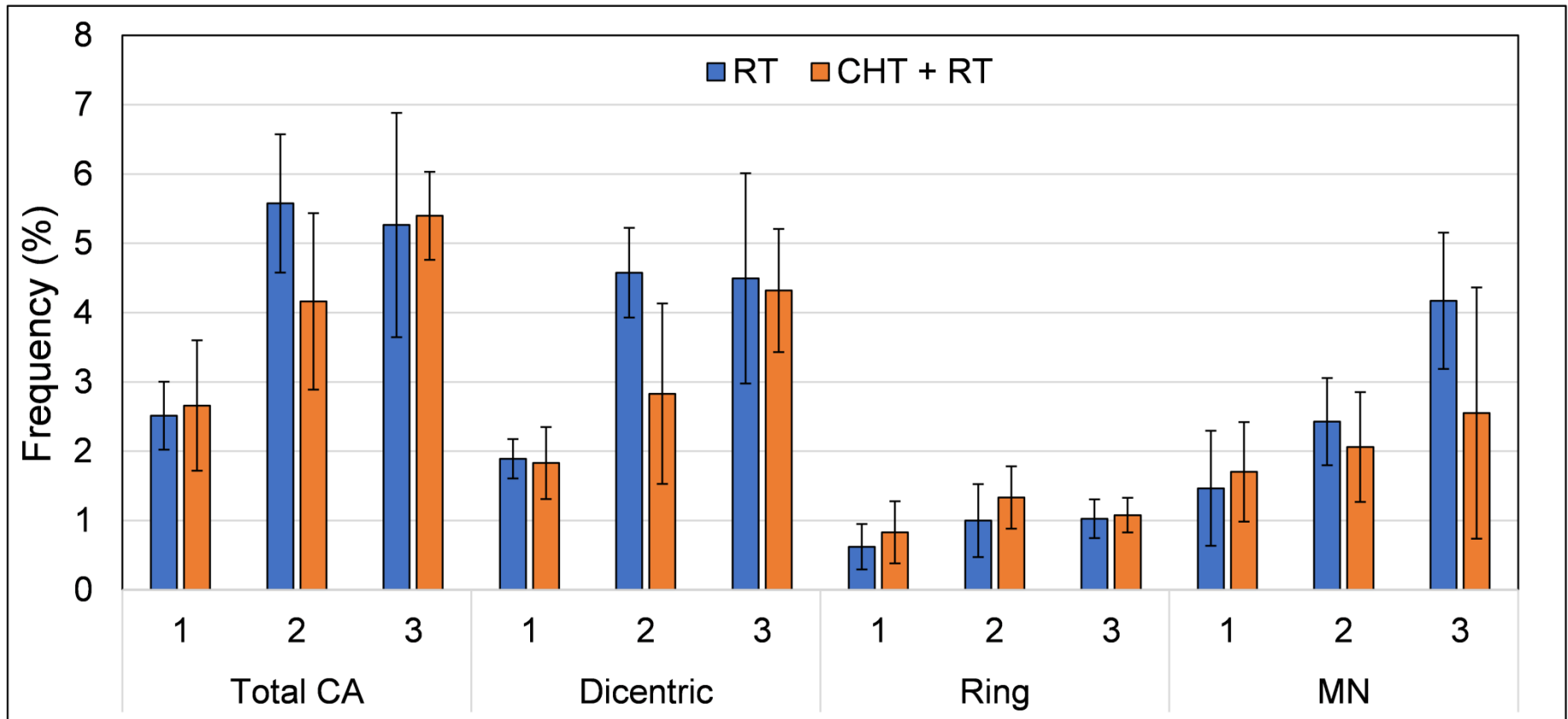
A



B

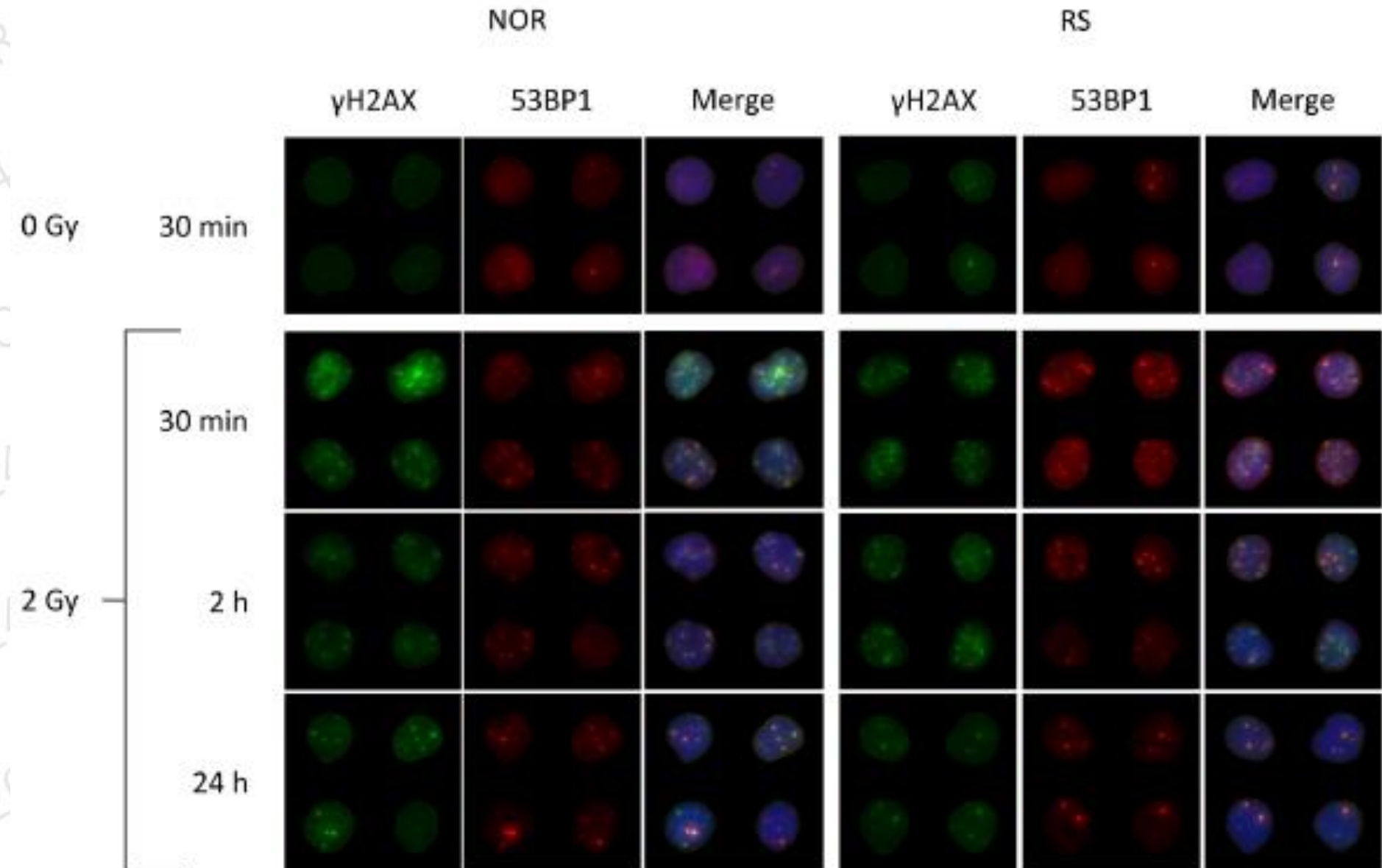


Analýza Chromozomálnych aberácií a mikrojadier *in vivo*

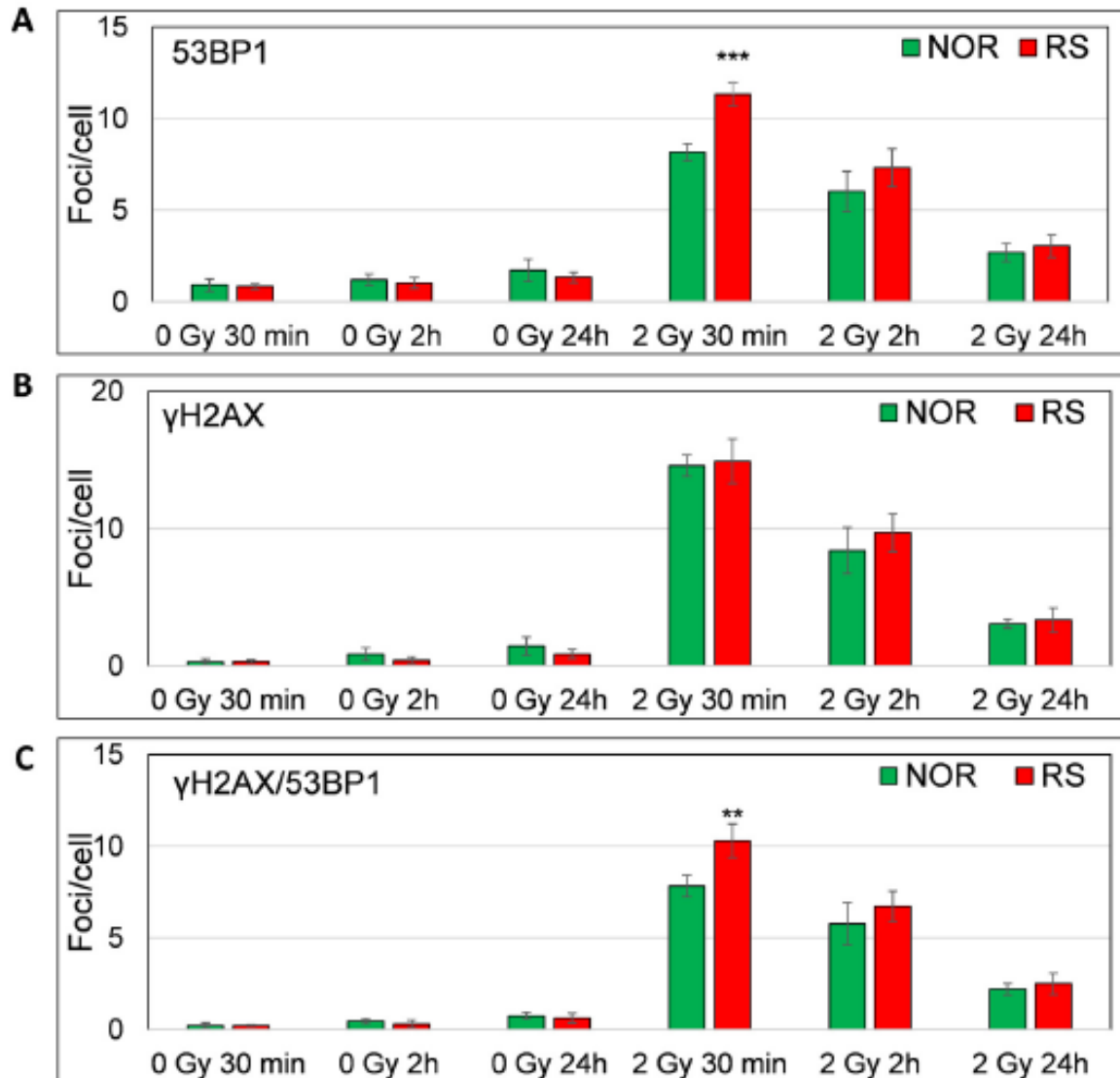


Rozdielna kinetika akumulácie chrom. Aberácií u pacientiek ktoré podstúpili CHT aj RT (n = 6) a tými, čo boli liečené iba RT (n = 7)

DNA opravné fokusy *in vitro* indukované IŽ

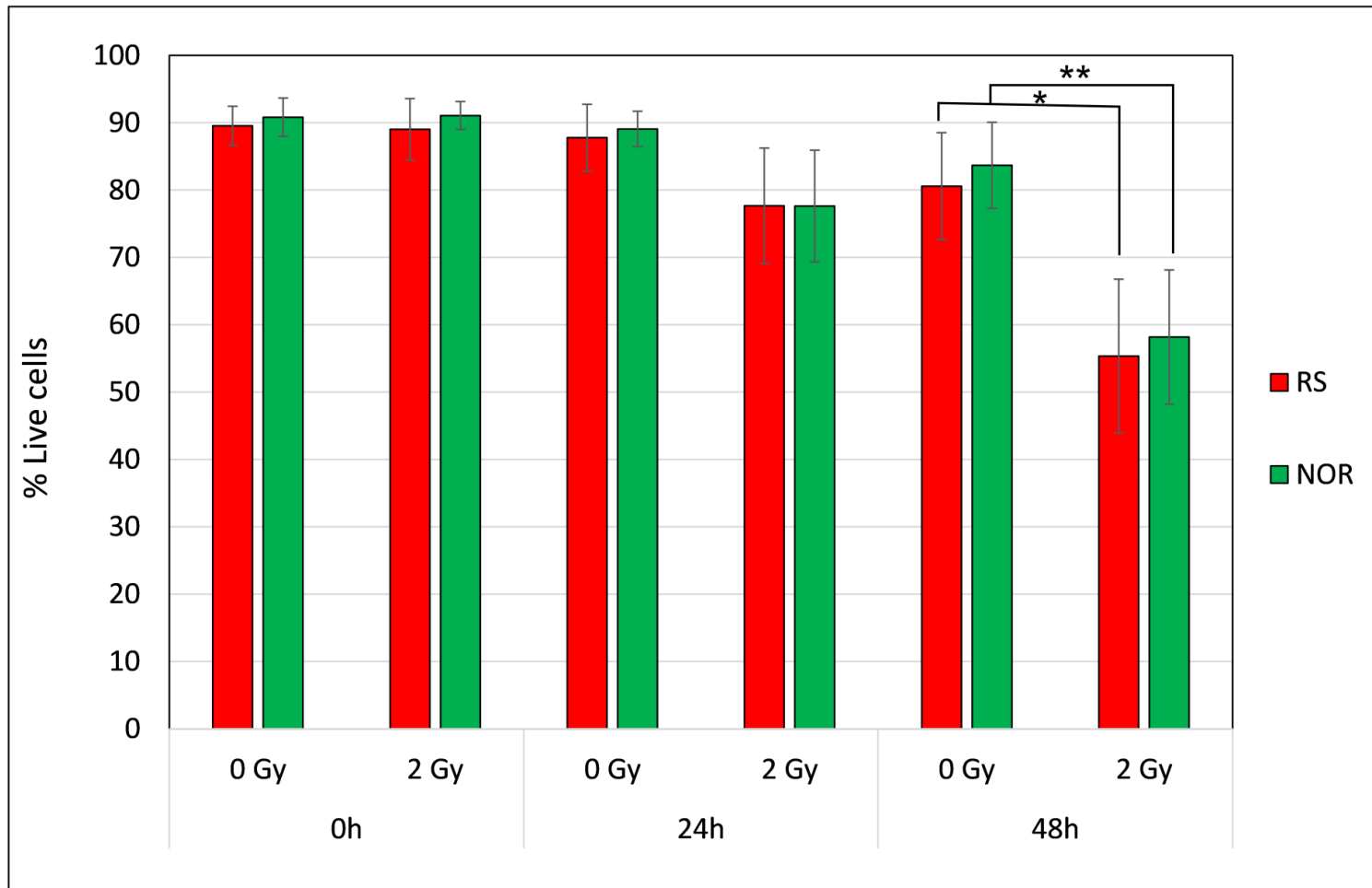


DNA opravné fokusy *in vitro*



- Vyššia hladina 53BP1 a kolokalizujúcich γ H2AX/53BP1 fokusov u RS pacientiek 30 minút po ožiarení dávkou 2 Gy
- Žiadny rozdiel 2 a 24 hodín po ožiarení

Apoptóza *in vitro*



- Žiadny rozdiel v úrovni radiačne indukovanej apoptózy medzi RS a NOR pacientkami
- Nárast apoptózy 48 hodín po ožiarení 2 Gy IŽ *in vitro*

Záver

- Vyššia úroveň *in vivo* a *in vitro* indukovaného DNA poškodenia u rádiosenzitívnych pacientiek s rakovinou prsníka pred začatím RT
- Žiadny rozdiel v úrovni apoptózy a chromozomálnych aberácií
- Avšak žiadny z biomarkerov nie je dosť senzitívny na použitie v klinickej praxi (nové biomarkery, kombinácia viacerých biomarkerov)

Pod'akovanie

- **BMC SAV** – Oddelenie rádiobiológie
- **NOÚ** - MUDr. Dolinská, MUDr. Fekete, MUDr. Závacká a MUDr. Pobijaková
- **OUSA** - RNDr. Kontrišová za *in vitro* ožarovanie buniek

Financovanie: VEGA 2/0079/23 a 2/0147//17; TRANSMED 2, ITMS 26240120030

Ďakujem za pozornosť