

DOI 10.29254/2077-4214-2020-1-155-219-223

УДК 575.224:577.29:616-006.48-092.6

Шимон Д. М., Іномістова М. В., Скачкова О. В., Горбач О. І., Климнюк Г. І., Храновська Н. М.

АСОЦІАЦІЯ АМПЛІФІКАЦІЇ ГЕНА *MYCN* ТА ПЕРЕБУДОВИ ХРОМОСОМНИХ ДІЛЯНОК 1p36 ТА 11q З ЕФЕКТИВНІСТЮ ЛІКУВАННЯ НЕЙРОБЛАСТОМИ

Національний інститут раку (м. Київ)

shimon1803@ukr.net

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи науково-дослідної лабораторії експериментальної онкології Національного інституту раку за темою «Дослідити на генетичному та епігенетичному рівнях ознаки прогресії нейроblastоми та визначити нові маркери прогнозу перебігу захворювання у дітей», № державної реєстрації: 0113U002151. 2013-2015 рр.

Вступ. Нейробластома (НБ) є однією з найбільш розповсюджених солідних пухлин дитячого віку, які виникають з незрілих клітин симпатичної нервової системи [1]. НБ походить з ембріональної *симпато-адреналової лінії* нервового гребеня і може виникати в будь-якому місці вздовж симпатичної нервової системи, при цьому більшість пухлин зустрічається в черевній порожнині (65%), особливо в наднирниках. Регіонарні лімфатичні вузли, кістковий мозок, кістки, печінка – місця де найчастіше спостерігаються метастази [2]. НБ є гетерогенною як за генотипом, так і за клінічною відповіддю на лікування. Нещодавні дослідження свідчать, що ці дві особливості пов'язані між собою і що генотип пухлини часто є прогностичною ознакою на ефективність лікування пацієнта [3,4]. Нейробластома з агресивним перебігом часто містить ампліфікацію гена *MYCN* ($\gamma \sim 20\%$ пухлин), делецію дистальної частини короткого плеча 1 хромосоми (втрата 1p), подовження довгого плеча хромосоми 17 (подовження 17q) та делецію частини довгого плеча хромосоми 11 (втрата 11q), хоча ці випадки зазвичай показують диплоїдний або майже тетраплоїдний каріотип [5].

MYCN був першим ампліфікованим онкогеном, який виявився клінічно значущим, через його зв'язок з агресивним фенотипом пухлини [6,7]. Хоча статус гена *MYCN* є біологічним маркером для визначення групи ризику, але ампліфікація гену *MYCN* не виявляється в більшості метастатичних НБ [8,9]. Делеція довгого плеча 11 хромосоми виявляється в 15-22% первинних нейроblastомах [10]. Делеції хромосоми 11q часто зустрічаються в пухлинах високої стадії хвороби без ампліфікації *MYCN* і з інтактною 1p хромосомою. Показано, що втрата 11q хромосоми пов'язана із зменшенням безрецидивного періоду [11]. Від 70% до 80% пацієнтів із нейроblastомою та 4 стадією захворювання мають ампліфікацію гена *MYCN* або делецію 11q [12]. Делеція 1p сильно корелює як з ампліфікацією *MYCN*, так і з несприятливим результатом лікування, що говорить про наявність одного або декількох генів-супресорів пухлини в даній області [13].

Для призначення протоколу лікування, використовується схема, яка включає вік, стадію, статус гена

MYCN і патогістологічне заключення для розділення пацієнтів на групи ризику несплікування відповідно з ризиком виникнення рецидиву. Отже, протоколи лікування пацієнтів із нейроblastомою включає широкий спектр лікування: хірургічне втручання, хіміотерапія, променева терапія та аутологічна трансплантація кісткового мозку [14].

Мета дослідження. Встановити частоту виникнення ампліфікації гена *MYCN* та перебудови хромосомних ділянок 1p36 та 11q у пацієнтів дитячого віку з нейроblastомою та дослідити їх асоціацію з ефективністю проведеного лікування.

Об'єкт і методи дослідження. Проаналізовано біологічний матеріал 103 пацієнтів із встановленим діагнозом нейроblastома віком від 3 місяців до 16 років, що отримували лікування на базі науково-дослідного відділення дитячої онкології Національного інституту раку МОЗ України. Зразки пухлинної тканини були отримані шляхом біопсії чи під час хірургічного видалення пухлини. Всі пацієнти отримували лікування відповідно до міжнародних протоколів лікування для нейроblastоми. Письмову інформовану згоду було отримано від батьків пацієнтів для забору зразків пухлинної тканини відповідно до вимог протоколу № 35 від 1.03.2015, затвердженого етичною комісією Національного інституту раку. Жоден пацієнт не отримував хіміотерапії або променевої терапії до отримання зразка пухлини.

Для виявлення делеції 1p36 та 11q використовували метод флуоресцентної гібридизації *in situ* (FISH), а для встановлення ампліфікації гену *MYCN* використовували метод FISH та ПЛР з детекцією результатів в режимі реального часу.

При діагностиці делеції хромосомної ділянки 11q використовували Vysis ATM/ CEP 11 FISH Probe Kit (Abbott Molecular, США) проба містила мітки для хромосомної ділянки 11q і для α -сателітної ділянки 11 хромосоми (зелена). При аналізі делеції хромосомної ділянки 1p36 використовували Vysis 1p36/1q25 FISH Probe Kit (Abbott Molecular, США) проба містила мітки для хромосомної ділянки 1p36 і для контрольної ділянки 1q25 (зелена).

В нормальному ядрі результат гібридизації проявлявся у вигляді двох зелених сигналів гена і двох помаранчевих сигналів. При наявності делеції хромосомної ділянки 11q або 1p36 спостерігався лише один помаранчевий сигнал та два зелених. Аналіз не проводився для ядер, в яких виявляли один зелений сигнал CEP 11 або 1q25. Для кожного препарату досліджувалось 50-100 окремих ядер, перераховуючи у відсотковий показник ядер, що містять відповідну кількість сигналів. Делеція хромосомної ділянки 11q та 1p36 встановлюється кількістю ядер з одним пома-

ранчевим сигналом і двома зеленими перевищувала 15%.

Виділення ДНК з пухлинної тканини здійснювали комерційним набором NucleoSpin Tissue (Macherey-Nagel, Німеччина). Ампліфікацію проводили на приладі 7300/7500 Real-Time PCR Systems, (Applied Biosystems, США). При дослідженні статусу гена *MYCN* за допомогою ПЛР наявність ампліфікації встановлювалась у випадку коли крива ПЛР ампліфікації *MYCN* випереджала криву контрольного гена домашнього господарства β -актин більше ніж на 2 цикли ПЛР.

Після закінчення реакції ампліфікації проводили облік одержаних результатів в режимі реального часу згідно рекомендацій виробника.

Кількість копій гена *MYCN* розраховували за формулою:

$$x = 2^{-\Delta Ct}$$

де x – кількість копій гену *MYCN*,

Ct (пороговий цикл) – кількість циклів після яких флуоресцентний сигнал перетинає поріг (перевищує фоновий рівень),

$$\Delta Ct = Ct(\beta\text{-actin}) - Ct(MYCN).$$

Для встановлення статистично значущого зв'язку у пацієнтів з нейробластомою між віком, статтю та ампліфікацією гена *MYCN* з наявністю або відсутністю делеції 1р36 та 11q використали метод χ^2 . За допомогою оцінки Каплан-Майєра встановили безрецидивну виживаність відповідно до наявності делецій 1р36 та 11q та ампліфікації гена *MYCN* у дітей хворих на нейробластому.

Результати дослідження та їх обговорення. Досліджувана група на наявність ампліфікації *MYCN* становила 103 пацієнтів віком від 3 місяців до 16 років, (середній вік $54,5 \pm 4,2$ місяці, медіана 48 місяців, до 1 року – 18,5% (19/103) пацієнтів, 1-2 року – 26,2% (27/103) пацієнтів і старші 2 років – 55,3% (57/103)

Таблиця 1 – Клінічні і біологічні характеристики пацієнтів з нейробластомою

Характеристики	Показники
Стать чоловіча	103
жіноча	47 (45,6%)
	56 (54,4%)
Вік (M \pm SE)	54,5 \pm 4,2 місяці
Стадія I-II	29 (28,2%)
III	28 (27,2%)
IV	46 (44,6%)
<i>MYCN</i> статус	36 (35%)
1р36 делеція	5 (4,9%)
11q делеція	4 (3,9%)

пацієнта, розподіл за статтю: 47 осіб чоловічої статі і 56 – жіночої (табл. 1). Ампліфікація гена *MYCN* була виявлена в 35% (36/103) зразків пухлинного матеріалу.

Досліджено наявність делеції 11q23 у 103 хворих на нейробластому. Делеція ділянки 11q виявлена у 47 (45,6%) хворих чоловічої статі і 56 (54,4%) – жіночої.

За результатами досліджень делецію 11q виявлено у чотирьох пацієнтів (3,9%) з нейробластомою, серед них у двох також виявлена ампліфікація гена *MYCN* (табл. 2). Делецію ділянки 11q найчастіше ви-

Таблиця 2 – Характеристики пацієнтів з нейробластомою

Ознака	Кількість (%)	<i>MYCN</i> ампліфікація (%)		1р36 делеція (%)		11q делеція (%)	
		+	-	+	-	+	-
Стать жіноча	103						
	56 (54,4)	19 (18,5)	37 (36)	3 (2,9)	53 (51,5)	3 (2,9)	53 (51,5)
чоловіча	47 (45,6)	17 (16,5)	30 (29)	2 (1,9)	45 (43,7)	1 (1)	46 (44,6)
	103						
Вік < 1 року	19 (18,5)	5 (4,8)	14 (13,6)	1 (1)	18 (17,5)	1 (1)	18 (17,5)
	27 (26,2)	11 (10,7)	16 (15,5)	1 (1)	26 (25,2)	1 (1)	26 (25,2)
	57 (55,3)	20 (19,4)	37 (36)	3 (2,9)	54 (52,4)	2 (1,9)	55 (53,4)

являли у пацієнтів старших 2 років (2/4). Ribelles J.A. із спів. авторами отримали схожі дані, а саме делеція 11q зустрічалася частіше у пацієнтів старше 2 років [15]. Більшість пацієнтів з нейробластомою в яких виявили делецію 11q були жіночої статі (2,9%). Серед пацієнтів з ампліфікацією гена *MYCN* у двох пацієнтів було виявлено делецію 11q (2/36).

При дослідженні методом χ^2 по таким ознакам як стать, вік і статус гену *MYCN*, не виявлено статистично значущого зв'язку між пацієнтами у яких наявна чи відсутня делеція ділянки 11q хромосоми.

Не відмічено статистично значимої різниці між групами пацієнтів із делецією 11q хромосоми та розподілом за статтю ($\chi^2=0.714$, $p=0.399$). Згідно методу χ^2 , не встановлено статистично значимої різниці між групами пацієнтів із делецією короткого плеча 11 хромосоми та розподілом за віком ($\chi^2=0.121$, $p=0.94$). Між групами пацієнтів із делецією 11q хромосоми та розподілом за статусом гена *MYCN* не відмічено статистично значимої різниці ($\chi^2=0.42$, $p=0.52$).

Досліджено частоту розподілу делеції 1р36 у 103 хворих на нейробластому віком від 2 місяців до 16 років.

За результатами досліджень делецію 1р36 виявлено у п'ятьох пацієнтів (4,9%) з нейробластомою, серед них усіх також присутня ампліфікація гена *MYCN*.

Делецію 1р36 найчастіше виявляли у пацієнтів старших 2 років (3/5). У 3 пацієнтів жіночої статі з нейробластомою (2,9%) виявлено делецію 1р36, та у 2 пацієнтів чоловічої статі з нейробластомою (1,9%) було також виявлено делецію.

Не відмічено статистично значимої різниці у пацієнтів із делецією 1р36 та розподілом за статтю ($\chi^2=0.067$, $p=0.8$) та віком ($\chi^2=0.105$, $p=0.95$). Згідно методу χ^2 , встановлено статистично значиму різницю між групами пацієнтів у яких наявна чи відсутня делеція 1р36 хромосоми та статусом гена *MYCN* ($\chi^2=9,8$, $p=0.002$). Отримані дані підтверджуються Attiyeh E.F. і спів. авторами, показали зв'язок делеції 1р36 з ампліфікацією гена *MYCN* у дітей хворих на нейробластому ($p < 0,001$) [16].

Наступним етапом дослідження заплановано встановити вплив ампліфікації гену *MYCN* та перебудови хромосомних ділянок 1р36 та 11q на безрецидивну виживаність дітей із нейробластомою. Встановлено, що наявність ампліфікації гена *MYCN* не впливає на тривалість безрецидивного періоду, $p=0,73$ (рис. 1).

Аналіз виживаності за Каплан-Мейєром показав, що однорічна безрецидивна виживаність становила на 8,9% вища в групі з відсутньою ампліфікацією гену *MYCN* порівняно із пацієнтами в яких присутня

ампліфікація гена *MYCN* (рис. 1). Показано, що дворічна безрецидивна виживаність була на 7,6% вищою в групі пацієнтів без ампліфікації гена *MYCN* в порівнянні до групи з ампліфікацією гена *MYCN*. Дослідна група Van Heerden J отримала схожі дані, встановили збільшення дворічної загальної виживаності на 14% у пацієнтів без ампліфікації гена *MYCN* [17]. Інша дослідна група Lee J.W. отримали схожі результати серед китайського населення, показали зменшення загальної трирічної виживаності на 12,8% у хворих з ампліфікацією гена *MYCN* [18].

Проаналізовано також зв'язок делеції 1p36 із безрецидивною виживаністю хворих на нейробластому. Показано, що тривалість без рецидивної виживаності статистично значимо вища у пацієнтів, що не мають делеції 1p36 ділянки, $p=0,002$ (рис. 2).

У групі пацієнтів хворих на нейробластому з делецією 1p36 безрецидивна виживаність на 6 місяців становила $60 \pm 2\%$, проте протягом року у всіх пацієнтів з делецією виникали локальні рецидиви та/або віддалені метастази (рис. 2). У пацієнтів з нейробластомою за відсутності делеції 1p36 піврічна безрецидивна виживаність становила $90,6 \pm 4\%$, в свою чергу однорічна безрецидивна виживаність – $87 \pm 5\%$.

Схожу тенденцію спостерігали при аналізі безрецидивної виживаності хворих на нейробластому в залежності від наявності делеції хромосомної ділянки 11q. Встановлено, що наявність делеції 11q не впливає на тривалість безрецидивного періоду у дітей хворих на нейробластому, $p=0,07$ (рис. 3). В роботі Ribelles J.A. та співавторів отримано схожі дані, а саме, 5-річна безрецидивна виживаність на 40% ($p < 0,001$) нижча в пацієнтів із делецією ділянки хромосоми 11q [15]. Криві виживання Каплана-Мейера показали, що однорічна безрецидивна виживаність була на 49,5% вищою в групі пацієнтів без делеції 11q в порівнянні до групи пацієнтів із делецією 11q. Аналогічно дворічна безрецидивна виживаність у пацієнтів з нейробластомою без делеції довгого плеча 11 хромосоми становила $53 \pm 5\%$, на противагу у пацієнтів із делецією 11q у всіх виникають рецидиви протягом дворічного періоду.

Дана делеція рідко зустрічається і в вибірці тільки 4 пацієнти з делецією 11q, тому потрібно далі продовжувати дослідження і збільшувати вибірку

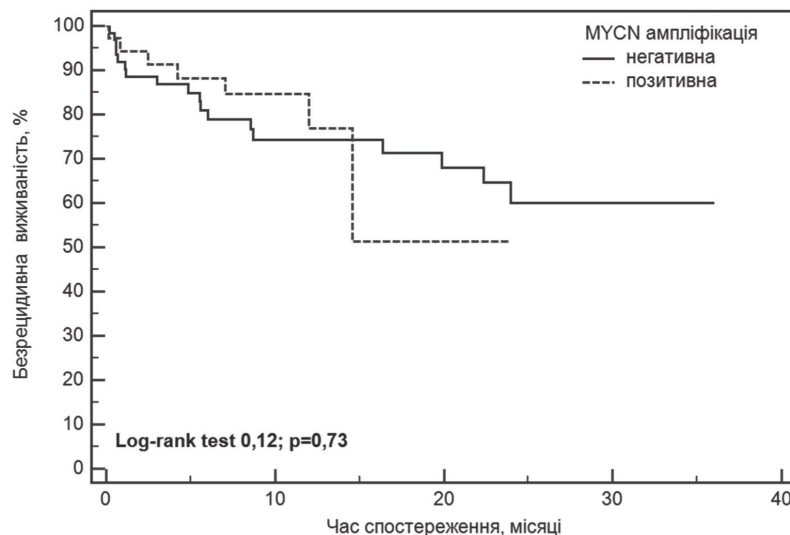


Рисунок 1 – Безрецидивна виживаність у дітей хворих на нейробластому при наявності ампліфікації гену *MYCN*.

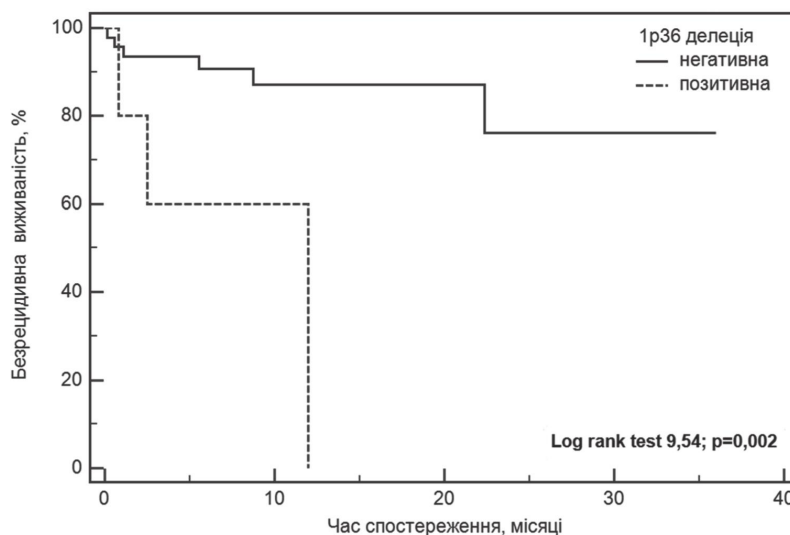


Рисунок 2 – Безрецидивна виживаність у дітей хворих на нейробластому при наявності делеції ділянки 1p36.

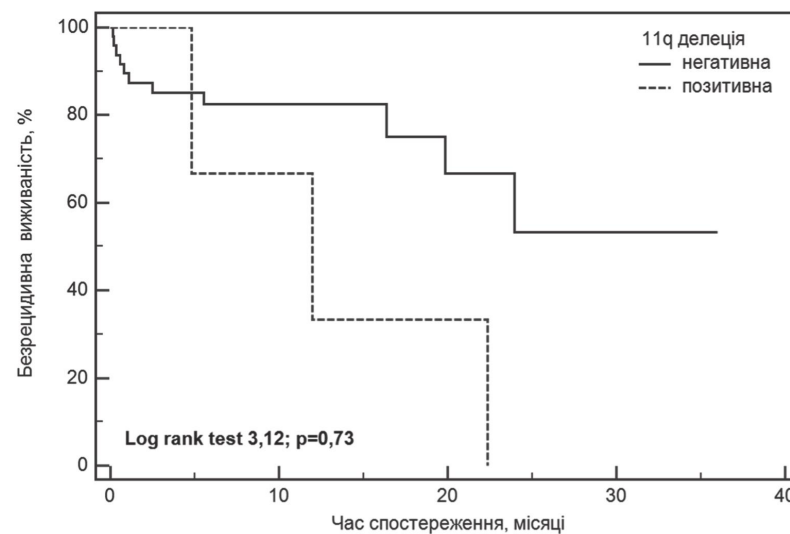


Рисунок 3 – Безрецидивна виживаність у дітей хворих на нейробластому при наявності делеції ділянки 1p36.

хворих, щоб досягти більшої доказовості отриманих результатів.

Висновки. У пухлинній тканині 3,9% (4/103) пацієнтів та 4,9% (5/103) пацієнтів з нейробластомою виявлено делецію хромосомної ділянки 11q та 1p36 відповідно. Ампліфікацію гена *MYCN* виявлено у пухлинній тканині 35% (36/103) пацієнтів з нейробластомою. Показано асоціацію між делецією хромосомної ділянки 1p36 та ампліфікацією гена *MYCN* ($\chi^2=9.8$, $p=0.002$). Встановлено, що наявність ампліфікації гена *MYCN* та делеції хромосомної ділянки 11q статистично значимо не впливає на тривалість безрецидивного періоду у пацієнтів з нейробластомою. Однак, делеція хромосомної ділянки 1p36 статистич-

но значимо зменшувала тривалість безрецидивного періоду, а саме у всіх пацієнтів з делецією 11q виникають рецидиви або віддалені метастази протягом року ($p=0,002$).

Перспективи подальших досліджень. Необхідно продовжити спостереження за пролікованими пацієнтами, а також збільшити розмір вибірки пацієнтів у дослідній групі, щоб досягти більшої доказовості отриманих результатів. На основі досліджених мутацій (ампліфікація гена *MYCN* та делеції ділянок хромосом 11q та 1p36) планується виділити групи високого ризику та відповідно відкорегувати протоколи лікування з метою покращення віддалених результатів лікування.

Література

1. Van Roy N, De Preter K, Hoebeeck J, Van Maerken T, Pattyn F, Mestdagh P, et al. The emerging molecular pathogenesis of neuroblastoma: implications for improved risk assessment and targeted therapy. *Genome Med.* 2009 Jul 27;1(7):74.
2. Pizzo PA, Poplack DG. Principles and Practice of Pediatric Oncology. Philadelphia: Sixth ed: Wolters Kluwer Health / Lippincott Williams and Wilkins; 2010.
3. Brodeur GM, Nakagawara A. Molecular basis of clinical heterogeneity in neuroblastoma. *Am J Pediatr Hematol Oncol.* 1992 May;14(2):111-6.
4. Inomistova MV, Khranovska NM, Skachkova OV, Klymniuk GI, Demydov SV, Svergun NM. MiR-137 expression in neuroblastoma: a role in clinical course and outcome. *Biopolym. Cell.* 2016;32(3):222-8.
5. Nakagawara A, Li Y, Izumi H, Muramori K, Inada H, Nishi M. Neuroblastoma. *Jpn J Clin Oncol.* 2018;48(3):214-41.
6. Rosenbaum H, Webb E, Adams JM, Cory S, Harris AW. N-myc transgene promotes B lymphoid proliferation, elicits lymphomas and reveals cross-regulation with c-myc. *EMBO J.* 1989 Mar;8(3):749-55.
7. Schwab M. Amplification of the MYCN oncogene and deletion of putative tumour suppressor gene in human neuroblastomas. *Brain Pathol.* 1990 Sep;1(1):41-6.
8. Brodeur GM, Seeger RC, Schwab M. Amplification of n-Myc in untreated human neuroblastomas correlates with advanced disease stage. *Science.* 1984;224(4653):1121-4.
9. Inomistova MV, Khranovska NM, Skachkova OV, Klymnyuk GI, Demydov SV. Significance of miR-885-5p in neuroblastoma outcome. *Biol. Stud.* 2015;9(3-4):23-30.
10. Vandesompele J, Baudis M, De Preter K, Van Roy N, Ambros P, Bown N, et al. Unequivocal delineation of clinicogenetic subgroups and development of a new model for improved outcome prediction in neuroblastoma. *J Clin Oncol.* 2005;23:2280-99.
11. Attiyeh EF, London WB, Mosse YP, Wang Q, Winter C, Khazi D, et al. Chromosome 1p and 11q deletions and outcome in neuroblastoma. *N Engl J Med.* 2005;353:2243-53.
12. Mlakar V, Mlakar SJ, Lopez G, Maris JM, Ansari M, Gumy-Pause F. 11q deletion in neuroblastoma: a review of biological and clinical implications. *Mol Cancer.* 2017;16:114.
13. White PS, Thompson PM, Gotoh T, Okawa ER, Igarashi J, Kok M, et al. Definition and characterization of a region of 1p36.3 consistently deleted in neuroblastoma. *Oncogene.* 2005;24:2684-94.
14. Evans AE, D'Angio GJ. Age at diagnosis and prognosis in children with neuroblastoma. *J Clin Oncol.* 2005;23(27):6443-4.
15. J Ribelles A, Barberá S, Yáñez Y, Gargallo P, Segura V, Juan B, et al. Clinical features of neuroblastoma with 11q deletion: an increase in relapse probabilities in localized and 4s stages. *Sci Rep.* 2019 Sep 24;9(1):13806.
16. Attiyeh EF, London WB, Mossé YP, Wang Q, Winter C, Khazi D, et al. Chromosome 1p and 11q deletions and outcome in neuroblastoma. *N Engl J Med.* 2005 Nov 24;353(21):2243-53.
17. Van Heerden J, Hendricks M, Geel J, Sartorius B, Hadley GP, Du Plessis J, et al. Overall survival for neuroblastoma in South Africa between 2000 and 2014. *Pediatr Blood Cancer.* 2019 Nov;66(11):e27944.
18. Lee JW, Son MH, Cho HW, Ma YE, Yoo KH, Sung KW, et al. Clinical significance of MYCN amplification in patients with high-risk neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer.* 2018 Oct;65(10):e27257.

АСОЦІАЦІЯ АМПЛІФІКАЦІЇ ГЕНА *MYCN* ТА ПЕРЕБУДОВИ ХРОМОСОМНИХ ДІЛЯНОК 1p36 ТА 11q З ЕФЕКТИВНІСТЮ ЛІКУВАННЯ НЕЙРОБЛАСТОМИ

Шимон Д. М., Іномістова М. В., Скачкова О. В., Горбач О. І., Климнюк Г. І., Храновська Н. М.

Резюме. Нейробластома – найбільш поширена дитяча солідна пухлина екстракраніальної локалізації і становить 8-10% випадків в структурі дитячої онкологічної патології. Метою дослідження було встановити частоту виникнення ампліфікації гена *MYCN*, перебудови хромосомних ділянок 1p36 та 11q у пацієнтів дитячого віку з нейробластомою та дослідити їх асоціацію з ефективністю проведеного лікування. Встановлено, що ампліфікація гена *MYCN* зустрічалася у 35% (36/103), делеція ділянки 11q – у 3,9% (4/103) та делеція ділянки 1p36 – у 4,9% (5/103) пацієнтів хворих на нейробластоми. У всіх пацієнтів в яких встановлено делецію 1p36 виявлено ампліфікацію гена *MYCN*. Ампліфікацію гена *MYCN* виявлено в 2 пацієнтів (1,9%) з чотирьох в яких встановлено делецію 11q. Відповідно до методу Каплана-Мейера, встановлено, що наявність делеції ділянки 1p36 хромосоми значно зменшує тривалість безрецидивного періоду ($p=0,002$), протягом року у всіх дітей виникали локальні рецидиви та/або віддалені метастази.

Ключові слова: нейробластома, *MYCN*, 11q, 1p36.

АССОЦИАЦИЯ АМПЛИФИКАЦИИ ГЕНА *MYCN* И ПЕРЕСТРОЙКИ ХРОМОСОМНЫХ УЧАСТКОВ 1p36 И 11q С ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ ЛЕЧЕНИЯ НЕЙРОБЛАСТОМЫ

Шимон Д. Н., Иномистова М. В., Скачкова О. В., Горбач О. И., Климнюк Г. И., Храновская Н. Н.

Резюме. Нейробластома – наиболее распространенная детская солидная опухоль экстракраниальной локализации и составляет 8-10% случаев в структуре детской онкологической патологии. Целью исследования было установить частоту возникновения амплификации гена *MYCN*, перестройки хромосомных участков 1p36 и 11q у пациентов детского возраста с нейробластомой и исследовать их ассоциации с эффективностью проводимого лечения. Установлено, что амплификация гена *MYCN* встречалась в 35% (36/103), делеция участка 11q – в 3.9% (4/103) и делеция участка 1p36 – в 4,9% (5/103) пациентов с нейробластомой. У всех пациентов у которых установлено делецию 1p36 обнаружена амплификация гена *MYCN*. Амплификацию гена *MYCN* выявлено у 2 пациентов (1,9%) из четырех у которых установлено делецию 11q. В соответствии с методом Каплана-Мейера, установлено, что наличие делеции участка 1p36 хромосомы значительно уменьшает продолжительность безрецидивного периода ($p=0,002$), в течение года у всех детей возникали локальные рецидивы и/или отдаленные метастазы.

Ключевые слова: нейробластома, *MYCN*, 11q, 1p36.

ASSOCIATION OF *MYCN* GENE AMPLIFICATION AND REARRANGEMENTS OF CHROMOSOMAL REGION 1p36 AND 11q WITH EFFICACY OF NEUROBLASTOMA TREATMENT

Shymon D., Inomistova M., Skachkova O., Gorbach O., Klymnyuk G., Khranovska N.

Abstract. Neuroblastoma (NB) is an embryonal tumor of the sympathetic nervous system, which causes 15% of pediatric cancer deaths. NB cells with *MYCN* amplification is one of the most aggressive NB subgroups that comprises 20-25% of all primary tumors and is associated with tumor progression with poor prognosis. 1p36 deletion is a frequent chromosomal abnormality observed in NB cell lines and primary tumors; 11q deletion is one of the most frequent events that occurs during NB aggressive development.

The aim is to determine the frequency of *MYCN* gene amplification occurrence; also to describe the rearrangement of chromosomal region 1p36 and 11q in pediatric patients with NB; and then to investigate its association with the effectiveness of treatment.

Paraffin-embedded tumor tissues of 103 patients, from 2 months old to 16 years old ($54.5 \pm 4,2$ months), with verified NB were used in the study. All samples were analyzed on *MYCN* amplification and rearrangements of chromosomal regions 1p36 and 11q. Tumor samples were obtained prior to chemotherapy treatment. *MYCN* amplification was analyzed by FISH microscopy and real-time PCR, and deletions of 1p36 and 11q chromosomal regions were determined by FISH microscopy.

In tumor tissues, 11q deletion was determined in 3.9% (4/103) of patients with NB. Deletion of the chromosomal region 1p36 was detected in 4.9% (5/103) of NB patient tumor tissues. *MYCN* gene amplification was detected in 35% (36/103) out of patients with NB. Amplification of the *MYCN* gene was detected in 2 patients (1.9%) out of 4 with detected 11q deletion, which is the most commonly observed in female (3/4) patients, older than 2 years (2/4). A statistically significant difference between groups of patients with and without deletion of the 11q chromosome, such as sex ($\chi^2 = 0.714$, $p = 0.399$), age ($\chi^2 = 0.121$, $p = 0.94$), and *MYCN* gene status ($\chi^2 = 0.42$, $g = 0.52$), was not observed. Amplification of the *MYCN* gene was detected in all patients with 1p36 deletion. The 1p36 deletion was detected most commonly in female (3/5) patients older than 2 years (3/5). The difference between the presence/absence of 1p36 deletion and *MYCN* gene status was statistically significant ($\chi^2 = 9.8$, $p = 0.002$). According to the Kaplan-Meier method, the deletion of 11 chromosome's long arm didn't affect the duration of recurrent period, $p = 0.07$. Similarly, the *MYCN* gene amplification didn't affect the duration of progression free period, $p = 0.6$. However, the deletion of the 1p36 chromosome significantly reduced the duration of relapse-free period in children with NB ($p = 0.002$). NB patient's with 1p36 deletion 6-month disease-free survival was $60 \pm 2\%$, but throughout the one year all patients with 1p36 deletion had local recurrences and/or distant metastases. Among the patients without 1p36 deletion the 6-month progression free survival rate was $90.6 \pm 4\%$ and the one-year progression free survival was $87 \pm 5\%$.

We established that only 1p36 deletion was decreased significantly progression free survival rate in patients with NB and all patients with 1p36 deletion had local recurrences and/or distant metastases in one year period.

Key words: neuroblastoma, *MYCN*, 11q, 1p36.

Рецензент – проф. Старченко І. І.

Стаття надійшла 13.02.2020 року