

РОЛЬ ПОВРЕЖДЕНИЙ ГЕНА *p53* И МАРКЕРОВ ПОТЕРИ ГЕТЕРОЗИГОТНОСТИ В УСТАНОВЛЕНИИ КЛОНАЛЬНОСТИ МНОЖЕСТВЕННЫХ КАРЦИНОМ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЧЕЛОВЕКА

Карциномы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) находятся на третьем месте в списке причин смерти от злокачественных образований.

По способу возникновения различают моно- и поликлональные раки. Моноклональные развиваются из одной стволовой клетки (клона), а поликлональные возникают независимо друг от друга. Выявление клональности играет важную роль для дальнейшего лечения пациента. Моноклональные опухоли представляют более тяжелый случай, чем поликлональные, т. к. требуют терапевтического воздействия на весь организм.

Для опухолей ЖКТ различают два пути развития: супрессорный и мутаторный. В предыдущих исследованиях, проведенных в нашей лаборатории, особое внимание уделялось опухолям, развивающимся по мутаторному пути. Основным звеном мутаторного пути является выход из строя системы коррекции неспаренных оснований ДНК. В текущих исследованиях анализируются опухоли, сопряженные с супрессорным путем. Для супрессорного пути ключевыми являются повреждения генов *APC*, *DCC*, *p53*. Одним из важнейших среди них является ген *p53*.

Мутации гена *p53* обнаруживаются более чем в половине всех опухолей человека (50-60% новообразований более чем 50 различных типов). Продукт этого гена, белок *p53*, является основным регулятором клеточного ответа на различные стрессовые воздействия, участвует в процессах дифференцировки клетки, поддержания стабильности ее генома и т.д.

Особенностью мутаций гена *p53* является то, что они часто гетерозиготны, т.е. поражают только один из двух аллелей гена. Причем, так как *p53* образует тетрамерные комплексы, мутации в одном аллеле гена *p53* вызывают инактивацию и продукта второго, неповрежденного аллеля. Дело в том, что коэкспрессирующиеся нормальный и мутантный белки *p53* образуют неактивные гетеромерные комплексы.

Генетические повреждения, относящиеся к супрессорному пути, часто ассоциированы с потерей гетерозиготности.

Потеря гетерозиготности, т.е. потеря одного аллеля в специфическом локусе вызывается делецией участка хромосомы или даже утерей одной хромосомы из хромосомной пары. Если в клетке имеется аллель дикого типа и аномальный, то чаще теряется именно аллель дикого типа, а остается аномальный аллель. Таким образом, вероятность перерождения клетки в злокачественную возрастает. Данный механизм называется двухударным и является одним из ключевых шагов в канцерогенезе опухолей ЖКТ, развивающихся по супрессорному пути.

Для карцином ЖКТ наиболее часто наблюдается потеря гетерозиготности в локусах, расположенных на 1, 5, 8, 17 и 18 хромосомах.

Цель работы — исследование роли повреждений гена *p53* и маркеров потери гетерозиготности для установления клональности множественных новообразований ЖКТ.

Основные этапы работы: геномную ДНК выделяли из парафиновых срезов нормальной и опухолевой ткани; необходимый фрагмент получали при помощи полимеразной цепной реакции; мутационный профиль каждой опухоли определяли с применением техники SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism) и/или электрофореза в денатурирующих условиях (ЭФДУ). SSCP позволяет определить наличие точечных мутаций в различных позициях исследуемого фрагмента, метод ЭФДУ позволяет определить характер мутаций, а также потерю гетерозиготности.

Мы анализировали 5–9 экзоны гена *p53*. Мутации обнаруживаются в разных участках молекулы белка *p53*, но чаще всего в его консервативном ДНК-связывающем домене, который кодируется данными экзонами.

Кроме того, мы исследовали маркеры потери гетерозиготности. Их выбор обусловлен тем, что они связаны с генами, задействованными в супрессорном пути: *APC*, *DCC*, *p53*. Лocusы D5S318, D5S346 расположены по разные стороны от гена *APC* на расстоянии ≈ 30 kb (5-я хромосома); TP53 расположен в первом интроне гена *p53*, CHRNB1 — на расстоянии 0,2 kb от первого экзона гена *p53*, D17S786 — на расстоянии 1,3 kb от гена *p53* (17-я хромосома).

Выводы.

1. Наиболее информативными маркерами клоальности для опухолей ЖКТ человека оказались 6-й экзон гена *p53* и микросателлит TP53, локализованный в его первом интроне.
2. На данном этапе работы экзоны гена *p53* являются более значимыми, чем маркеры потери гетерозиготности.

Работа поддержана грантом Министерства образования и науки РФ (грант РНП 2.2.1.1.4663).