

УДК 616.33.34-006.6-092:575.113

Н.В.Мохова (6 курс, каф. БФ), О.А.Вострюхина, к.х.н., с.н.с. (ПИЯФ РАН)

КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ МУТАЦИЯМИ ГЕНА *p53* И СТЕПЕНЬЮ МИКРОСАТЕЛЛИТНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ В ГЕНОМЕ КЛЕТОК КАРЦИНОМ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ЧЕЛОВЕКА

Упорядоченный по времени возникновения ряд мутаций, произошедших в клетке в ходе канцерогенеза – это генетический путь развития опухоли. К настоящему времени для злокачественных опухолей желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) известны два основных пути развития – “супрессорный”, или *p-53* зависимый и т.н. “мутаторный” путь [1,2]. Каждый из этих путей характеризуется разным мутационным профилем, вследствие чего опухоли, развивающиеся по разным путям, имеют различное течение заболевания и чувствительность к γ - облучению, таким цитостатикам, как цисплатин, к метилирующим агентам, флюороацилу, алкилирующим агентам, а также к супрессорам топоизомеразы II [3].

Для “супрессорного” пути ключевыми являются повреждения генов *APC*, *k-ras*, *DCC*, *p-53*. Основным звеном “мутаторного” пути является выход из строя системы коррекции неспаренных оснований (КНО) и в дальнейшем повреждение генов, содержащих в своей структуре микросателлиты и так или иначе участвующих в канцерогенезе. К этим генам относятся: *TGF β RII*, *BAX*, *hMSH3*, *hMSH6*, *IGF2R*, *BLM*, *E2F4* и другие.

Цель работы:

Выявление корреляции между степенью микросателлитной нестабильности генома (МНГ) и мутациями гена *p53*.

Задачи работы:

- 1) выявить опухоли, инициированные повреждениями в системе КНО, используя чувствительные маркеры МНГ, описанные в литературе;
- 2) используя технику PCR-SSCP, исследовать мутационный профиль образцов ДНК, полученных из злокачественных образований ЖКТ, развивающихся по “мутаторному” пути, по 7-ми генам-мишеням дефектной работы системы КНО (*BLM*, *E2F4*); на основе этих данных определить степень МНГ;
- 3) провести поиск мутаций в гене *p-53* по 5-ти “горячим точкам” мутагенеза среди пациентов с различной степенью МНГ;
- 4) проанализировать полученные результаты с целью выбора маркеров для определения генетического пути развития злокачественного образования.

К настоящему времени создан первичный банк ДНК раков толстой кишки (14 образцов) и желудка (9 образцов). Осуществлён предварительный анализ имеющихся опухолей на наличие повреждения системы КНО с помощью высокочувствительных маркеров *BAT26* и *BAT40*. На настоящий момент проведены исследования на наличие генетических повреждений в пяти генах (*BAX*, *TGF β RII*, *hMSH6*, *hMSH3*, *E2F4*) для образцов ДНК из имеющегося банка опухолей, в результате чего они были разделены на следующие группы:

- не имеющие мутаций в семи данных маркерах (образцы РТК 574, РТК 575, РТК 75, РТК 78, РТК 80, РТК 81, РЖ 5, РЖ 7, РЖ 15, РЖ 42, РЖ 104, РЖ 108); клетки этих карцином мы классифицировали как обладающие микросателлитной стабильностью генома (МСГ);
- имеющие повреждения в одном или двух маркерах (РТК 554, РТК 70, РТК 65, РЖ12, РЖ 49, РТК 56-1); клетки этих карцином мы классифицировали как обладающие низкой степенью микросателлитной нестабильности генома (МНГ-Н);
- имеющие повреждение в трёх и более маркерах (РТК 56-2, РТК 56-3, РТК 56-4, РТК 56М, РЖ 49); клетки этих карцином мы классифицировали как обладающие высокой степенью микросателлитной нестабильности генома (МНГ-В);

ДНК трёх образцов, принадлежащих последней группе, были исследованы на наличие мутаций в гене *p-53*. Повреждений гена по 5-ти “горячим точкам” мутагенеза обнаружено не

было, что согласуется с представлением об альтернативности двух генетических путей в колоректальном канцерогенезе. Для завершения работы необходимо провести поиск мутаций во всех остальных образцах.

Выводы:

1) В 48% исследованных образцов была выявлена МНГ, в том числе в 26% – МНГ-Н и в 22% – МНГ-В.

2) В качестве наиболее характерных маркеров, позволяющих определить генетический путь развития злокачественного образования, мы предлагаем использовать *BAT-26*, *BAT-40*, *TGFβRII* и *IGF2R*.

Результаты работы могут лечь в основу разработки диагностической процедуры для выявления принадлежности раковых опухолей ЖКТ к одному из двух основных генетических путей развития – p53-зависимому или ‘мутаторному’, и, как следствие, подбора оптимальной терапии заболевания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Olschwang S., Hamelin R., Laurent-Puig P. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. V. 94. P. 12122-12127.
2. Fearon E. R., Vogelstein B. // Cell. 1990. V. 62. P. 759-767.
3. Fink D., Aebi., Howell S. // Clin.Cancer Res. 1998.V.4(1). Pp. 1-6.