

УДК 616.33.34-006.6-092:575.113

А.В.Тимофеев (6 курс, СПбГПМА), О.А.Вострюхина, к.х.н., с.н.с. НОЦ «Биофизика»

ВЫЯВЛЕНИЕ КЛОНАЛЬНОЙ ПРИРОДЫ СМЕШАННЫХ ОПУХОЛЕЙ С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Новообразования, и особенно злокачественные опухоли, устойчиво занимают второе место в структуре заболеваемости и смертности человека. Помимо патологоанатомической диагностической классификации опухолей, сегодня стало возможным построение теоретических моделей с применением методов молекулярной биологии.

В основу современной морфологической классификации опухолей положен принцип тканевого происхождения. Из эпителиальных тканей развиваются раки (карциномы), а из соединительных (мезенхимальных) тканей саркомы. Хотя соединительная ткань у человека по своей массе превышает эпителиальную почти в пять раз, раки встречаются в 11 раз чаще. Как правило, клетки опухоли могут воспроизводить любое направление гистологической дифференцировки внутри эпителиального и соединительнотканного гистотипов. Иногда в ткани опухоли эпителиальной или мезенхимальной природы происходит метаплазия, т.е. одна дифференцированная ткань замещается другой дифференцированной тканью в пределах одного типа. К опухолям такого рода относится аденокарцинома с плоскоклеточной метаплазией. Ещё реже встречаются опухоли, представленные двумя компонентами: эпителиальным и соединительнотканым. Это так называемые карциносаркомы. В настоящее время существует четыре теории гистогенеза этих неоплазий, из которых наиболее вероятной считается комбинационная теория. Она постулирует, что оба элемента происходят из клона одной стволовой клетки. Согласно этой теории эпителиальный компонент является первостепенным в определении поведения и прогноза данной опухоли. Таким образом, данная теория подразумевает моноклональность карциносарком и определяет их как метапластические карциномы. Целью данной работы явился молекулярно-генетический анализ смешанных опухолей (аденокарциномы с плоскоклеточной метаплазией и карциносарком).

Задачи работы:

- 1) используя технику PCR-SSCP, сравнить мутационные профили образцов ДНК, полученных из различных компонентов этих новообразований и тем самым подтвердить или опровергнуть теорию моноклонального происхождения смешанных опухолей; для этого необходимо проанализировать пять экзонов гена *p53*, а также микросателлиты, локализованные в следующих генах: *hMSH2*, *3-β-HSD*, *TGFβRII*, *BAX*, *hMSH3*, *hMSH6*, *IGF2R*, *E2F4*, *TCF4*, *Caspase-5*, *MED*, *RAD50*, *MRE11*, *ATR* и *BLM*.
- 2) провести сопоставление генетического профиля смешанных опухолей с их клинико-патологоанатомическими характеристиками (в первую очередь с характером их метастазирования); и с результатами применения того или иного лечения – радиооблучения или химиотерапии.

Из архива НИИ онкологии отобран 61 образец парафиновых блоков; для шести из них получены и морфологически охарактеризованы срезы толщиной 25-30 микрон, причем каждый образец представлен по крайней мере тремя срезами, содержащими различные компоненты опухолевых и нормальной ткани. В каждом срезе соответствующий компонент составляет не менее 80–90% всего исследуемого материала. Начата работа по выделению ДНК из парафиновых срезов и анализ опухолевой ДНК на наличие мутаций в вышеперечисленных генах, наиболее часто вовлечённых в мутагенез в злокачественных новообразованиях различной природы. В табл. 1 приведены примеры молекулярно-генетического анализа двух смешанных новообразований – аденокарциномы с плоскоклеточной метаплазией и карциносаркомы.

Таблица 1. Молекулярно-генетическая характеристика двух смешанных новообразований.

Опухоль	Компонент	Микросателлиты	Эзоны гена <i>p53</i>				
			5	6	7	8	9
Аденокарцинома с плоскоклеточной метаплазией	плоскоклеточный	-	-	-	+	-	-
	железистый	-	-	-	-	-	-
Карциносаркома	мезенхимальный	не определялись	-	-	-	+	-
	эпителиальный	не определялись	+	-	-	+	-

Примечание. “+” и “-” означают, соответственно, наличие или отсутствие мутаций в микросателлитах или экзонах гена *p53*.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что:

- а) при исследовании генетического профиля аденокарциномы желудка с плоскоклеточной метаплазией изменение последовательности ДНК 7-го экзона гена *p53* обнаружено в плоскоклеточном компоненте, в то время как анализ железистого компонента не выявил генетических повреждений ни в гене *p-53*, ни в других маркерах;
- б) анализ карциносаркомы выявил мутации в 5-ом экзоне последовательности ДНК гена *p53*, выделенной из эпителиального компонента и в 8-ом экзоне обоих компонентов.

Из проведенной работы можно сделать следующие выводы:

1. Анализ аденокарциномы с плоскоклеточной метаплазией показал возможность изменения в пределах одной опухоли различных генетических детерминант, сопряжённых с разной гистологической характеристикой компонентов. Вероятно поэтому она является биклональным новообразованием.
2. Результаты анализа карциносаркомы пока не позволяют определить клональность данной опухоли, хотя наличие в эпителиальном компоненте дополнительного повреждения в 5-ом экзоне гена *p53* объясняется скорее генетической дивергенцией тканевых субклонов в ходе опухолевой прогрессии.