

УДК 616.33/.34-006.6-092:575.113

Г.М.Бутрович (6 курс, каф. БФ), О.А.Вострюхина, к.х.н., с.н.с. ПИЯФ РАН

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МОНО- И БИКЛОНАЛЬНЫХ АДЕНОКАРЦИНОМ ЖЕЛУДКА

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. 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 (повторы одного или нескольких нуклеотидов) и так или иначе участвующих в канцерогенезе.

Каждый из этих путей характеризуется разным мутационным профилем, вследствие чего опухоли, развивающиеся по разным путям, имеют различия в клинических проявлениях заболевания, а также неодинаковую чувствительность к терапевтическим агентам. Для выбора эффективной терапии конкретного ракового заболевания важно определить генетический путь его развития, а при рецидивах заболевания проверить клетки на устойчивость к уже использованным антираковым препаратам.

Цель работы: Выявить пути развития моно- и биклональных аденокарцином желудка.

Задачи работы:

- 1) Выявить опухоли, инициированные повреждениями в системе КНО, используя чувствительные маркеры микросателлитной нестабильности генома (МНГ) *BAT-26*, *BAT-40*.
- 2) Используя технику PCR-SSCP, исследовать мутационный профиль образцов ДНК, полученных из злокачественных образований ЖКТ, развивающихся по мутаторному пути, по генам-мишеням дефектной работы системы КНО (*TGFβRII*, *BAX*, *hMSH3*, *hMSH6*, *IGF2R*, *E2F4*, *TCF4*, *Caspase-5*, *MED1*) и по 4-м генам, вовлеченным в рекомбинационную репарацию (*RAD50*, *MRE11*, *ATR*, *BLM*).
- 3) Провести поиск мутаций в гене *p-53*, применяя те же методы.
- 4) Сравнить полученные результаты с клинико-патологическими данными больных.

Результаты. Создан банк образцов ДНК для тринадцати спорадических раков ЖКТ (в паре рак/норма) шести пациентов. Проведен подробный генетический анализ трех множественных новообразований из банка опухолей, составленного в ходе исследований (Пациенты 1-3). Анализ предусматривал определение МНГ карцином по 16 микросателлитным маркерам, включающим *BAT*-сайты, гены мишени системы КНО и гены рекомбинационной репарации. Все образцы были проверены на наличие мутаций в горячих точках мутагенеза в гене *p-53*.

Таблица 1. Клинико-патологоанатомические данные злокачественных новообразований ЖКТ.

Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3
Высокодифференцированная тубулярная карцинома желудка (две опухоли).	Аденоакантома, диморфный рак желудка состоит из двух компонентов: железистого(1) и плоскоклеточного(2).	Мультифокальная низкодифференцированная аденокарцинома желудка (три опухоли).

Клинико-патологоанатомические данные злокачественных новообразований ЖКТ трех пациентов, подробно исследованных в ходе работы, представлены в табл. 1. Генетический анализ представлен в табл. 2.

Таблица 2. Генетический анализ мультицентрических карцином и диморфного рака желудка.

Па-циент	Опу-холь	BAT-сайты		Гены-мишени дефектной работы системы КНО			Экзоны гена p53				
		BAT26	BAT40	TGFβRII	BAX	E2F4, IGF1R, TCF4, Caspase-5, MED1, RIZ, BLM, hMSH6, hMSH3, MRE11, ATR, RAD50	5	6	7	8	9
I	1	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
II	1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
III	1	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
	2	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
	3	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

Полученные результаты показывают:

- 1) Во всех множественных карциномах пациента 3 наблюдали изменение длины микросателлитных маркеров *BAT26* и *BAT40*, а также повреждения в генах-мишенях дефектной работы системы КНО;
- 2) Все три синхронные множественные опухоли пациента 3 обладали одинаковым генетическим профилем нарушений в микросателлитных маркерах, однако, выявленное в карциномах 1 и 2 повреждение в шестом экзоне гена *p-53* не прослеживалось в третьей опухоли этого больного;
- 3) Повреждения гена *p-53* обнаружены у всех трех пациентов;
- 4) В синхронных множественных карциномах желудка пациента 1 наблюдали одинаковое изменение последовательности ДНК шестого экзона гена *p53*; дополнительное повреждение седьмого экзона этого гена выявлено только в опухоли 2;
- 5) При исследовании генетического профиля диморфного рака желудка (пациент 2), изменение последовательности ДНК седьмого экзона гена *p53* обнаружено в первом фрагменте опухоли (железистый рак), в то время как во втором фрагменте (плоскоклеточный рак) не выявлено генетических повреждений ни в гене *p-53*, ни в маркерах МНГ.

Полученные результаты позволяют предполагать, что множественные опухоли пациентов 1 и 2 не являются независимыми, вторичные опухоли образованы путем метастазирования первичных, то есть являются моноклональными. Наличие дополнительных мутаций в гене p53 можно объяснить накоплением генетических изменений в ходе канцерогенеза. Диморфный рак (пациент 2) является биклональным новообразованием. Его анализ показал возможность изменения в пределах одной опухоли различных генетических детерминант, сопряженного с разной гистологической структурой фрагментов одного новообразования.

