

Молекулярно–генетические маркеры при раке пищевода

Петрусенко Н.А., Мещерякова М.Ю., Кутилин Д.С., Непомнящая Е.М., Колесников Е.Н., Шульгина О.Г., Ульянова Е.П.



ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России

Рак пищевода является одним из самых агрессивных злокачественных новообразований и занимает 6 место в структуре смертности в мире. Важную роль в прогрессии онкологических заболеваний играет изменение копийности генетических локусов (CNV). CNV является одним из основных механизмов контроля раковой клеткой ключевых для выживания и малигнизации экспессии генов.

Цель исследования

Сравнительная характеристика aberrантного числа копий генов, ответственных за регуляцию клеточного цикла и репарацию ДНК, в опухолевых и нормальных клетках пищевода для поиска потенциальных онкомаркеров у больных раком пищевода (плоскоклеточная и железистая карцинома).

Материалы и методы

В исследование вошло 48 пациентов в возрасте 33-76 года (12 женщин, 36 мужчин) с диагнозом рак средней трети и рак нижней трети пищевода, T1-4N0-3M0-1, стадия I-IV. Диагноз был верифицирован гистологически плоскоклеточный рак (n=34) G1-3; аденокарцинома (n=14) G2-3. Материалом служили парафиновые срезы тканей толщиной 3мкм, которые фиксировали на предметных стеклах, покрытых полиэтиленом (MembraneSlide 1,0 PEN), подвергали депарафинизации (о-ксилолом) и окрашивали гематоксилином-эозином. С помощью лазерной микродиссекции (Palm MicroBeam, Carl Zeiss, Germany) выделяли опухолевые и нормальные клетки, из которых фенолхлороформным методом проводили экстракцию ДНК.

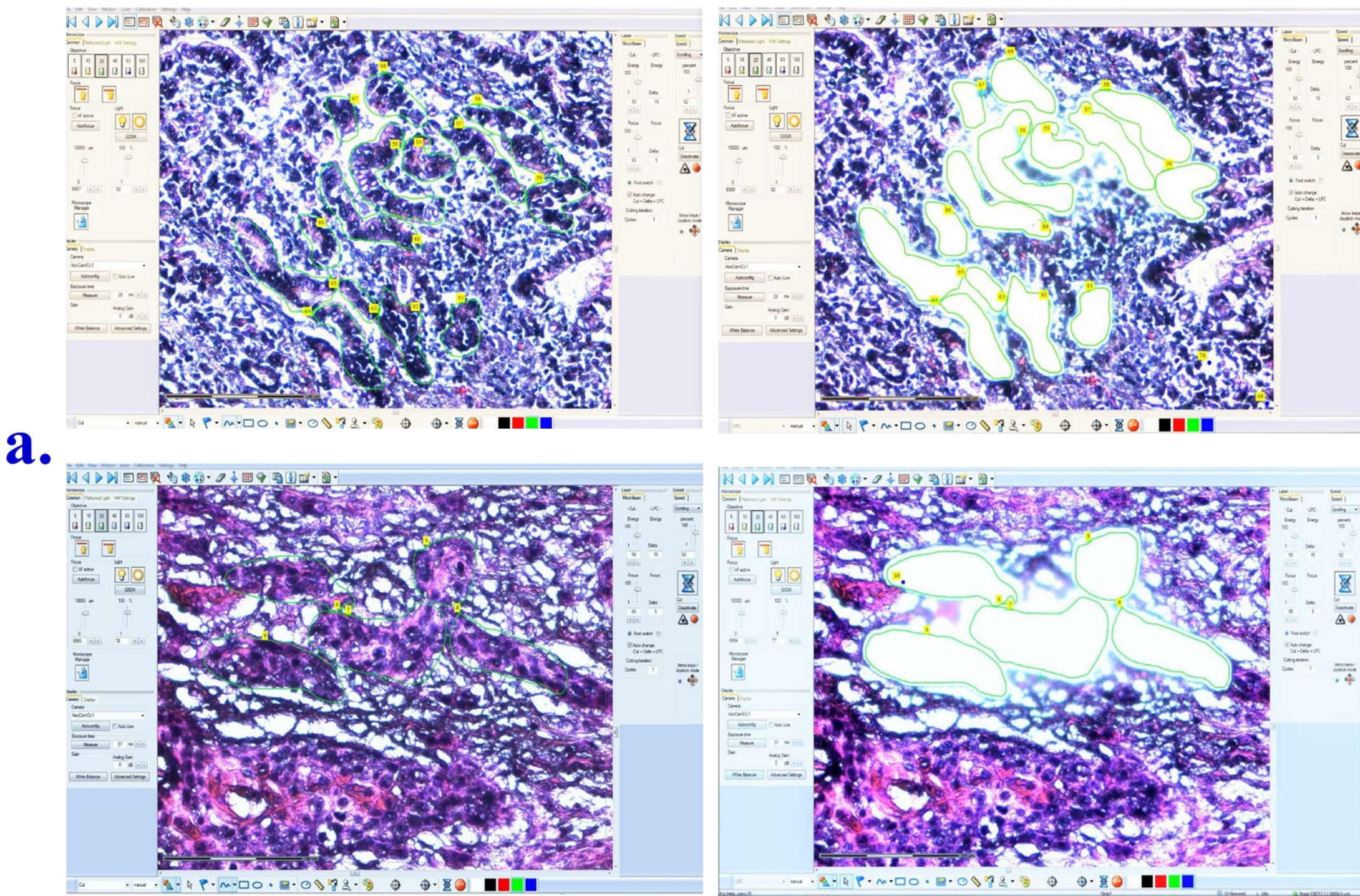
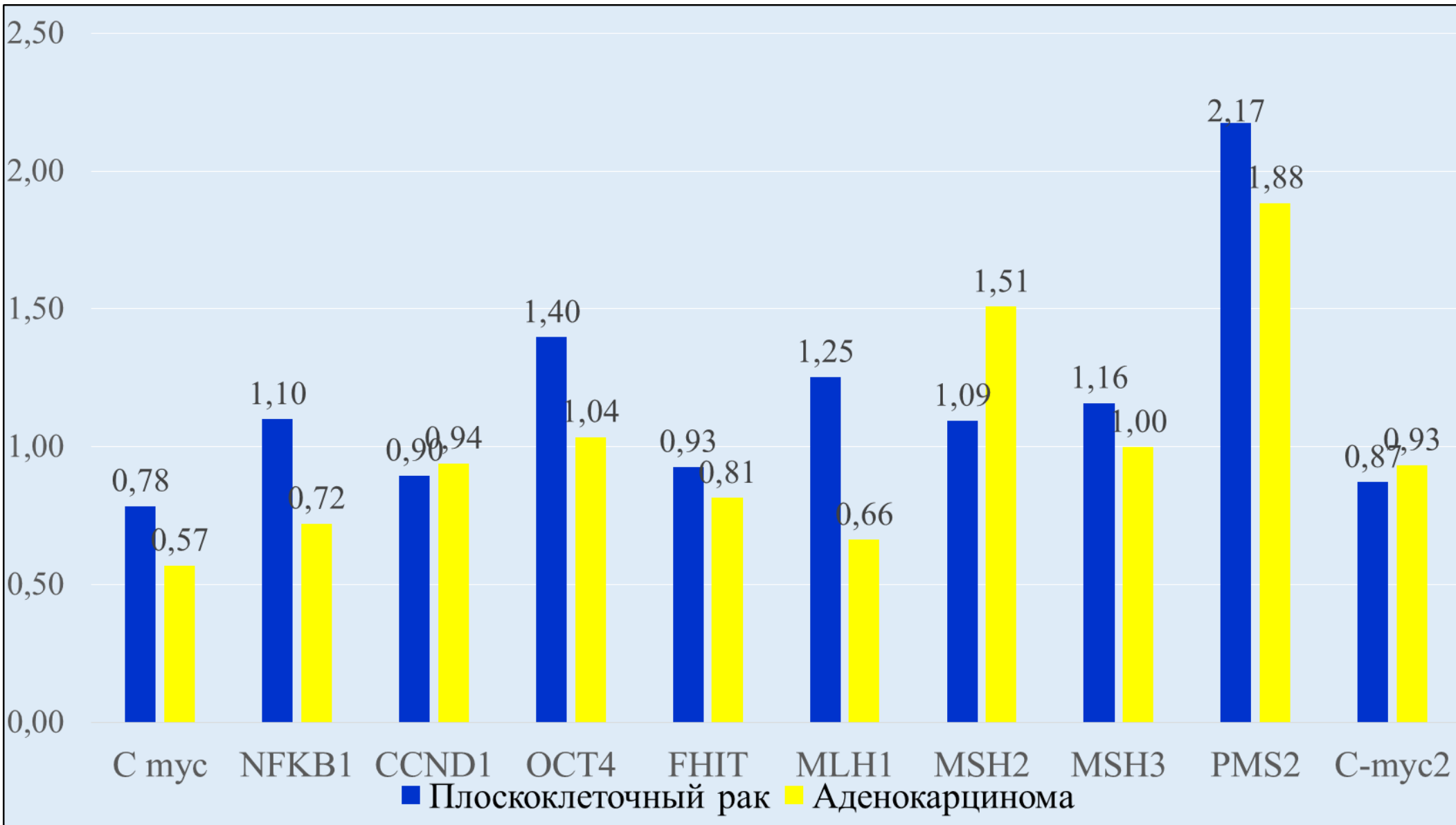


Рисунок 1. Лазерная микродиссекция опухолевых клеток при раке пищевода:
а. аденокарцинома, б. плоскоклеточный рак

Методом RT-qPCR (Bio-Rad, CFX96, USA) проводили анализ относительной копийности 9-ти генетических локусов *NF-kB*, *CCND1*, *OCT4*, *FHIT*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *PMS2* и *C-myc*, и референсных генов *GAPDH* и *ACTB*. Статистический анализ проводили с использованием критерия Манна-Уитни.

Результаты

Получено изменение дозы генов в раковых клетках пищевода обеих групп относительно нормальных: увеличение копийности генов *NF-kB*, *CCND1*, *OCT4*, *FHIT*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *PMS2* и *C-myc* соответственно в 39,5%, 42%, 47%, 24%, 37%, 39,5%, 26%, 68% и 36% случаев и снижение копийности генов *NF-kB*, *CCND1*, *OCT4*, *FHIT*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH3*, *PMS2* и *C-myc* соответственно в 32%, 21%, 16%, 16%, 29%, 32%, 24%, 10,5% и 39,5% случаев. Статистически значимое увеличение копийности ($p < 0,05$) обнаружено только для гена *PMS2*, при этом в группе с аденокарциномой пищевода увеличение копийности гена *PMS2* в 1,9 раз, а в группе с плоскоклеточным раком пищевода в 2,1 раз соответственно, в раковых клетках пищевода относительно нормальных. Статистически значимого изменения копийности других генов не выявлено.



*- статистически достоверное ($p < 0,05$) значение

Заключение

Обнаружено увеличение копийности гена *PMS2* в раковых клетках относительно нормальных как при плоскоклеточном раке, так и при аденокарциноме. Полученные данные могут быть использованы для диагностики рака пищевода.