

УДК 577.2:616.006

АЛЛЕЛЬНЫЙ ДИСБАЛАНС ЛОКУСОВ 17p13.1 (*TP53*), 1p36.1 (*RUNX3*), 16p22 (*CDH1*) И МИКРОСАТЕЛЛИТНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА

© 2013 г. М. В. Немцова^{1,2}, И. И. Быков¹, А. А. Удилова¹, Д. В. Залетаев^{1,2}, Т. В. Хоробрых¹

¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Москва, 119991

²Медико-генетический научный центр Российской академии медицинских наук, Москва, 115478

Поступила в редакцию 25.03.2013 г.

Принята к печати 25.04.2013 г.

В работе исследовали аллельный дисбаланс и микросателлитную нестабильность в операционном материале 78 больных раком желудка. В опухолевой и прилежащей, морфологически нормальной, ткани слизистой желудка определяли микросателлитный полиморфизм локусов 17p13.1 (*TP53*), 1p36.1 (*RUNX3*) и 16p22 (*CDH1*) и МН (BAT26). Аллельный дисбаланс локусов 17p13.3 ($p = 0.038$) и 16p22 ($p = 0.023$), по двум и более локусам в одном образце ($p = 0.0176$), а также микросателлитная нестабильность ($p = 0.047$) достоверно чаще наблюдаются в опухолях интестинального типа, чем в опухолях диффузного. При сравнении клинических групп с различной степенью дифференцировки опухолевых клеток показано, что аллельный дисбаланс по локусу 16p22 ($p = 0.041$) и по двум и более локусам в одном образце ($p = 0.0057$) чаще наблюдается в высокодифференцированных или умеренно дифференцированных опухолях. Мы не обнаружили достоверных различий в группах пациентов с метастазами или без них в регионарных лимфатических узлах с различной локализацией и на разных стадиях опухолевого процесса.

Ключевые слова: рак желудка, аллельный дисбаланс, микросателлитная нестабильность, хромосомная нестабильность, *RUNX3*, *CDH1*, *TP53*.

ALLELIC IMBALANCE OF LOCI 17p13.1 (*TP53*), 1p36.1 (*RUNX3*), 16p22 (*CDH1*) AND MICROSATELLITE INSTABILITY IN GASTRIC CANCER, by M. V. Nemtsova^{1,2*}, I. I. Bykov¹, A. A. Udilova¹, D. V. Zaletaev^{1,2}, T. V. Khorobrych¹ (¹Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, 119991 Russia, *e-mail: nemtsova_m_v@mail.ru; ²Research Centre of Medical Genetics, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 115478 Russia). We examined allelic imbalance (AI) on loci 17p13.1 (*TP53*), 1p36.1 (*RUNX3*) and 16p22 (*CDH1*) and microsatellite instability (MI) with BAT26 in 78 patients with gastric cancer. We have shown a significant difference in the frequency of allelic imbalance of the studied loci among different types of gastric cancer. Frequency of AI in 16p22.1 (*CDH1*) ($p = 0.023$), 17p13.1 (*TP53*) ($p = 0.038$), microsatellite instability ($p = 0.047$) and AD two and more loci in a single sample ($p = 0.0176$) was significantly higher in the intestinal type of gastric cancer than in the diffuse type. We have shown, that, frequency of AI in 16p22.1 (*CDH1*), and AD two and more loci in a single sample, was higher in the tumors with high or moderate type of tumor cells differentiation ($p = 0.0414$, $p = 0.0057$ respectively). We found no significant differences in the groups with metastases in regional lymph nodes, different tumor stage, localization of tumors and the generalization process.

Keywords: gastric cancer, allelic imbalance, chromosome instability, microsatellite instability, *TP53*, *RUNX3*, *CDH1*.

DOI: 10.7868/S0026898413050157

Из онкологической заболеваемости в России рак желудка занимает одно из первых мест, уступая лишь раку легкого у мужчин и раку молочной железы у женщин, причем здесь рак желудка

встречается в 2.5 раза чаще, чем в западноевропейских странах, и в шесть раз чаще, чем в США. Ежегодно регистрируется 40–50 тыс. новых случаев [1].

Принятые сокращения: MRG (Mismatch Repair Genes) – гены системы репарации неспаренных оснований ДНК; АД – аллельный дисбаланс; МН – микросателлитная нестабильность; ПГ – потеря гетерозиготности; BAT26 – мононуклеотидный микросателлитный повтор 4q12.

* Эл. почта: nemtsova_m_v@mail.ru

Рак желудка — гетерогенное заболевание, в котором можно выделить два больших гистологических типа (по классификации Лорен) — диффузный и интестинальный (кишечный), которые клинически, морфологически и эпидемиологически различаются. Интестинальный чаще наблюдается у больных пожилого возраста, имеющих мультифокальный атрофический гастрит, который со временем переходит в кишечную метаплазию или дисплазию. Диффузный тип встречается чаще среди молодых пациентов, и его связь с гастритом и метаплазией не очевидна. Клинические различия этих двух типов, вероятно, определяются различными молекулярными механизмами опухолевого развития и прогрессии [2]. Существует наследственная форма диффузного рака желудка (примерно 1–3% всех карцином желудка), причиной которого служат герминальные мутации в гене *CDH1* (16q22.1), их число достигает более сотни [3].

Канцерогенез — это многостадийный процесс, при котором этапы опухолевого развития характеризуются появлением в геноме различных молекулярных нарушений, накопление которых приводит к возникновению нестабильности генома. Феномен генетической нестабильности касается хромосом и микросателлитов. Хромосомная нестабильность проявляется в виде анеуплоидии (исчезновение целых хромосом или появление дополнительных) или аллельного дисбаланса (АД) и транслокации, при которых изменения затрагивают только определенные хромосомные локусы. При этом нарушается генная экспрессия, характерная для нормального функционирования клетки, что приводит к дефициту нормальных или к появлению аномальных белков [4]. Эти изменения могут влиять также на экспрессию онкогенов, генов-супрессоров опухолевого роста, генов, вовлеченных в процессы репарации ДНК, регулирующих клеточный рост и дифференцировку. Хромосомная нестабильность является наиболее распространенным типом геномной нестабильности в солидных опухолях и отмечается в 84% случаев рака желудочно-кишечного тракта [5].

Феномен микросателлитной нестабильности при раке желудка выражается в нарушении репликации микросателлитных повторов в опухолевой ткани. Это сопровождается изменением длины ди-, три- тетра-нуклеотидных повторов, которые более или менее равномерно распределены по геному, вследствие нарушения функции генов системы репарации неспаренных оснований ДНК (Mismatch Repair Genes, MRG). Этот дефект приводит к аномальной репликации не только микросателлитных повторов, расположенных в некодирующей области, но и к накоплению мутаций в генах, содержащих эти последовательности в кодирующей области. Микро-

сателлитная нестабильность в большей степени характерна для наследственного типа рака желудка, описанного в контексте синдрома Линча, и в меньшей степени — для спорадического рака (примерно 15–20% случаев).

Чтобы оценить вклад хромосомной и микросателлитной нестабильности в канцерогенез желудка, мы изучали АД локусов 17p13.1 (*TP53*), 1p36.1 (*RUNX3*) и 16p22 (*CDH1*) и микросателлитную нестабильность маркера BAT26 (4q12) в операционном материале, полученном от больных раком желудка I–IV-ой стадии заболевания. Гены в указанных локусах играют важную роль в развитии и прогрессии рака желудка, их потеря в результате делеций может оказать влияние на клиническое течение этого заболевания.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Характеристика клинического материала. Клинический материал получен от 78 пациентов с диагнозом рак желудка I–IV-ой стадии заболевания, проходивших обследование и лечение в Первом Московском государственном медицинском университете им. И.М. Сеченова с 2008 г. по 2011 г. Средний возраст больных — 63.4 года (от 44 до 82 лет). Женщины составили 41.5%. Среди лиц в возрасте 50–60 лет преобладали мужчины (73.7%). Из мужчин на возрастную группу 50–60-летних и группу от 61 года и старше приходилось по 45.2 %, а возраст более половины пациентов-женщин составлял 61 год и старше (63.7%).

Из всей группы 35 больных (45%) были подвергнуты гастрэктомии, а 43 (55%) — субтотальной резекции желудка. Диагноз у всех пациентов подтвержден стандартным патоморфологическим исследованием материала, полученного путем эзофагогастродуоденоскопии или интраоперационно.

Анализ АД и микросателлитной нестабильности. ДНК из опухоли, из морфологически нормальной ткани и лимфоцитов периферической крови выделяли стандартным способом [6]. Для исследования АД анализировали микросателлитный полиморфизм локусов 17p13.1 (*TP53*), 1p36.1 (*RUNX3*) и 16p22 (*CDH1*) в ДНК из опухолевой ткани, морфологически нормальной ткани слизистой желудка, расположенной в зоне резекции, и в ДНК из лимфоцитов периферической крови. Отсутствие одного из гетерозиготных аллелей микросателлитного повтора в ДНК из опухоли (при ее анализе методом электрофореза в ПААГ) и наличие его в ДНК из нормальной ткани и из лимфоцитов периферической крови у одного пациента определяли как АД (рис. 1). Гомозиготное состояние аллелей микросателлитного повтора во всех трех образцах ткани одного пациента считалось неинформативным; в этих случаях ис-

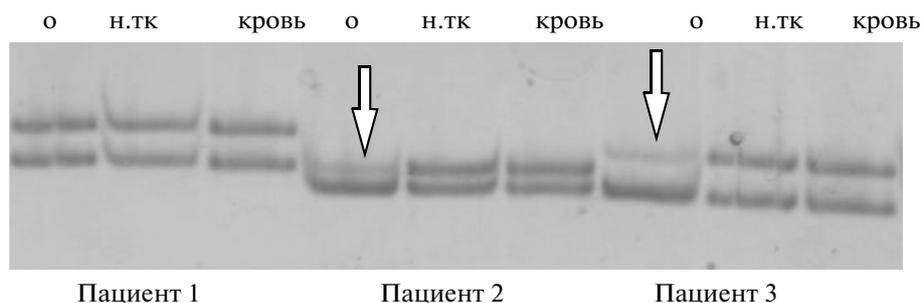


Рис. 1. Определение аллельного дисбаланса (АД) локуса 17p13.1 (*TP53*) методом анализа микросателлитного полиморфизма пентануклеотидного повтора, расположенного в первом интроне гена. Одному пациенту соответствуют три дорожки в ПААГ. Дорожка “о” – ДНК из опухолевого материала, дорожка “н.тк” – ДНК из морфологически нормальной ткани, расположенной рядом с опухолью, дорожка “кровь” – ДНК из лимфоцитов периферической крови. Стрелками показано ослабление сигнала, соответствующего одному из аллелей полиморфного повтора, что характерно для аллельного дисбаланса в опухолевой ткани. В нормальной ткани и лимфоцитах периферической крови дисбаланса по этому локусу нет. АД определяется только в опухоли пациентов 2 и 3. В опухоли пациента 1 дисбаланса по локусу 17p13.1 нет.

пользовали другие повторы для оценки АД. Делеции локуса 16p22, области локализации гена *CDH1*, определяли, используя полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и анализ STR-маркеров D16S3043, D16S3050, D16S752.

Для анализа делеций локуса 1p36.1 (*RUNX3*) использовали маркеры D1S234, а также тетра-нуклеотидный повтор (ТТТА), локализованный в локусе 1p36.11 (F: tgggtctggcacacttcttc, R: acctacgtaa-saaacctgac) вблизи гена *RUNX3*. Неинформативное состояние обеих пар используемых маркеров для оценки АД локуса 1p36.1 наблюдалось у семи пациентов (табл. 2).

Чтобы определить делеции гена *TP53*, использовали три маркера – пентануклеотидный повтор, расположенный в первом интроне этого гена, тетра-нуклеотидный повтор в промоторном районе гена, а также микросателлитный повтор D17S135. Информация о микросателлитных маркерах и их расположении по отношению к генам представлена в табл. 1.

Микросателлитную нестабильность определяли, используя маркер VAT26 (4q12) (рис. 2). Учитывали также дополнительные аллели повторов, выявляемые при проведении микросателлитного анализа для исследования АД.

Для статистической обработки данных, полученных при исследовании наших образцов, использовали программу Graph Pad InStat 3.05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования АД и микросателлитной нестабильности в клинических группах больных раком желудка представлены в табл. 2. Показано, что АД по локусам *TP53* ($p = 0.038$) и *CDH1* ($p = 0.023$), микросателлитная нестабильность ($p = 0.047$), а также дисбаланс более чем од-

ного локуса у одного пациента ($p = 0.0176$) проявляются достоверно чаще в случае интестинального рака желудка, чем в случае диффузного типа рака (табл. 2). В группах пациентов, различающихся по степени клеточной дифференцировки в опухоли, АД локуса *CDH1* ($p = 0.041$), а также дисбаланс более чем одного локуса у одного пациента ($p = 0.0057$) наблюдается достоверно чаще в высокодифференцированных и умеренно дифференцированных опухолях, чем в низкодифференцированных (табл. 2). Для низкодифференцированных опухолей, в которых имеются перстневидные клетки, характерна низкая частота АД, а микросателлитная нестабильность не наблюдается. Однако достоверных различий в группах низкодифференцированных опухолей с перстневидными клетками и опухолей, не содержащих этих клеток, не выявлено. Мы не обнару-

Таблица 1. Расположение микросателлитных маркеров по отношению к генам

Локус	Гены и маркеры	Координаты по базе данных UCSC Genome Browser
17p13	<i>TP53</i> D17S1353 (AAAAT) int1 (ATCT) повтор	7579312–7590863 7617413–7617640 7582575–75826837 7567577–7567821
16p22	<i>CDH1</i> D16S3043 D16S3050 (<i>CDH11</i>) D16S752	68771195–68869444 65492372–65492497 65067011–65067301 71335190–71335295
1p36.1	<i>RUNX3</i> D1S234 (ТТТА) повтор	25226002–25256770 25151413–25151642 25215150–25215357

Таблица 2. Результаты исследования аллельного дисбаланса (АД) локусов 17p13.1 (*TP53*), 1p36.1 (*RUNX3*) и 16p22 (*CDH1*) и микросателлитной нестабильности (МН) ВАТ26 (4q12) в клинических группах пациентов

Клинические группы	Всего пациентов	<i>TP53</i> 17p13.1	<i>RUNX3</i> * 1p36.1	<i>CDH1</i> 16p22	МН	АД > 1
Всего пациентов	78	30	19/71	21	16	20
Тип рака желудка (по Лорен):						
Интестинальный	35	18	11/32	14	11	14
Диффузный	43	12	8/39	7	5	6
<i>P</i>		0.038	–	0.023	0.01	0.0176
Опухолевая дифференцировка:						
Высоко/умеренно	33	17	10/30	14	10	15
Низкодифференц./перстнев	45	13	9/41	7	6	5
<i>P</i>		–	–	0.0414	–	0.0057
Низкодифференц. опухоли без перстнев. клеток с перстневид. клетками	33 12	12 1	7/31 2/10	6 1	6 0	5 0
<i>P</i>		–	–	–	–	–
Метастазирование в л/у:						
есть	41	15	13/37	13	7	13
нет	37	15	6/34	8	9	7
<i>P</i>		–	–	–	–	–
Стадии опухолевого процесса:						
Стадия I–II	39	14	9/35	8	10	7
Стадия III–IV	39	16	10/36	13	6	13
<i>P</i>		–	–	–	–	–
Расположение опухоли:						
Тело	44	13	11/39	10	7	10
Кардия	10	7	3/10	4	3	4
Антральный отдел	24	10	5/22	7	6	6
<i>P</i>		–	–	–	–	–

Примечание. Цифрами обозначено число пациентов в каждой клинической группе. При исследовании делеций гена 1p36.1 (*RUNX3*) у семи пациентов имелось гомозиготное состояние двух маркеров, которые рассматривались как неинформативные и исключены из статистического анализа. *P* – сравнение групп с помощью двустороннего точного критерия Фишера (уровень значимости $\alpha = 0.05$). Цифрами обозначены достоверные различия ($p < 0.05$), прочерки обозначают отсутствие достоверных различий ($p > 0.05$). МН – микросателлитная нестабильность. АД > 1 – АД определен более чем по одному локусу у одного пациента.

жили также достоверных различий между группами больных, у которых опухолевый процесс локализован в разных отделах органа (тело желудка, кардия, антральный отдел), между группами, имеющими или не имеющими метастазов в регионарные лимфатические узлы, а также между группами больных на разных стадиях опухолевого процесса (I–II и III–IV стадии) (табл. 2).

При использовании в анализе, наряду с ДНК из лимфоцитов периферической крови, также и ДНК из морфологически нормальной ткани желудка, расположенной на границе с опухолью,

удалось показать, что у всех пациентов АД исследуемых локусов не наблюдается в материале неопухолевой ткани слизистой оболочки желудка (рис. 1).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ген-супрессор опухолевого роста *TP53* часто повреждается в опухолях человека. Белковый продукт этого гена задерживает клеточный цикл клетки, в которой возникло повреждение ДНК, до момента его репарации. Если исправить де-

фект ДНК невозможно, клетка претерпевает апоптоз. Приблизительно 60% всех случаев рака желудка связаны с миссенс-мутациями одного из аллелей гена в сочетании с делецией второго аллеля, в результате чего происходит полная потеря его функции [2]. В карциномах желудка делеции 17p наиболее часты, что подтверждено в нашем исследовании: делеции в гене *TP53* зарегистрированы с частотой 30 случаев на 78 (38%) (табл. 2).

Ген *RUNX3* (1p36) кодирует белок, относящийся к семейству транскрипционных факторов, содержащих Runt-домен. Его функция состоит в образовании комплекса, который связывается с определенной последовательностью ДНК, расположенной в энхансерных и промоторных областях различных генов, и активирует или подавляет транскрипцию этих генов. Это показано на мышцах, нокаутированных по гену *RUNX3* [7], у которых в слизистой оболочке желудка усиливается пролиферация, подавляется апоптоз и снижается чувствительность к трансформирующему фактору роста β (TGF- β). При раке желудка в 45–60% случаев снижается экспрессия *RUNX3* в результате гемизиготных делеций и гиперметилирования промоторной области. Кроме того, при инфекции возбудителем *Helicobacter pylori*, а также в предраковых повреждениях тканей, таких как кишечная метаплазия и аденома желудка, также происходит гиперметилирование *RUNX3*, что указывает на его роль в канцерогенезе желудка [7]. Поскольку *RUNX3* является эффектором TGF- β -сигнального пути, то, в ответ на действие TGF- β , белок *RUNX3* подавляет пролиферацию эпителия желудка, индуцируя экспрессию гена *CDKN1A* (p21). Это свидетельствует о том, что супрессорная активность гена *RUNX3*, по крайней мере частично, связана с его способностью индуцировать экспрессию p21 [2, 7]. Кроме участия в антипролиферативных эффектах и в замедлении апоптоза, которые способствуют канцерогенезу желудка, *RUNX3* влияет также на прогрессию и метастазирование карциномы желудка. Восстановление функции гена *RUNX3* приводит к торможению перитонеального метастазирования рака желудка на животных моделях, поскольку ингибируется экспрессия фактора роста эндотелия сосудов (ген *VEGFA*) и подавляется ангиогенез, рост и метастазирование карциномы желудка [8]. Гемизиготные делеции этого гена в нашем исследовании обнаружены в 19 из 71 (27%) случаев (табл. 2).

Е-кадгерин (ген *CDH1*) – белок клеточной адгезии, который экспрессируется в эпителиальной ткани и необходим для развития и дифференцировки эпителиальных клеток, а также для поддержания архитектуры эпителиальных слоев. Уменьшение синтеза Е-кадгерина наблюдается во многих спорадических опухолях, а потеря его функции при опухолевой прогрессии подтверждает предположение, что этот белок является супрессором

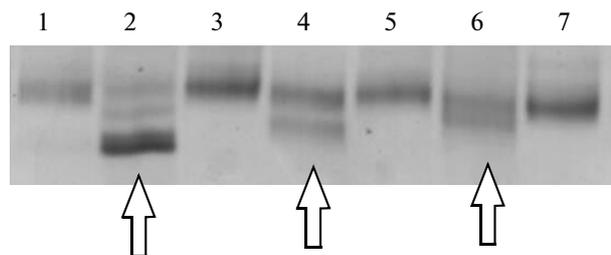


Рис. 2. Исследование микросателлитной нестабильности в опухолевой ДНК пациентов с помощью мононуклеотидного повтора BAT26 (4q12). Дорожки 1–7 – ДНК из опухолевого образца пациента. Наличие полос различной длины в дорожке означает появление дополнительных аллелей маркера BAT26 (4q12), что и характеризует микросателлитную нестабильность в опухолевом образце. Стрелками показаны дополнительные аллели маркера. У пациентов 1, 2, 4, 6 выявлена микросателлитная нестабильность, у пациентов 3, 5, 7 нестабильность не обнаружена.

опухолевой инвазии и метастазирования. Гемизиготные делеции в гене *CDH1* приводят к развитию наследственного диффузного рака желудка у носителей в 70% случаев [9]. При спорадическом диффузном типе рака желудка малые перстневидно-клеточные опухоли возникают *de novo* из стволовых клеток в зоне пролиферации, расположенной в шейке желудочных желез. В опухолевых клетках мультифокального диффузного рака желудка экспрессия Е-кадгерина очень низка, что предполагает возможность структурной потери аллелей этого гена в опухоли или подавление его экспрессии под действием других механизмов. Мы исследовали структурные делеции гена Е-кадгерина, их частота составила 21 случай из 78 (26%) (табл. 2).

В нашей работе показано, что АД локусов 17p (*TP53*), 1p36.1 (*RUNX3*) и 16p22 (*CDH1*) достоверно чаще возникает при кишечном типе рака желудка, чем при диффузном. Это согласуется с результатами других исследований, в которых показано, что повышение частоты дисбаланса, и в частности гемизиготных делеций, может быть связано с типом опухолевого роста – диффузным или кишечным. При исследовании локусов 3p, 4p, 5q, 8p, 9p, 13q, 17p и 18q высокий уровень АД и потеря сразу нескольких локусов у одного пациента отмечаются достоверно чаще при кишечном типе рака [10]. Повышение уровня АД может не только свидетельствовать об участии определенных локусов и генов в развитии опухолей желудка, но и об увеличении геномной нестабильности, как главного механизма развития опухоли определенного типа. Кишечный тип рака чаще развивается у пациентов в возрасте после предраковых заболеваний, и, возможно, накопление АД и, как следствие, хромосомной нестабильности (что сопровождает этот тип рака) происходит в течение длительного времени. Диф-

фузный рак проявляется раньше и характеризуется мультифокальными очагами в слизистой желудка. Вероятно, основной механизм его развития – не структурные повреждения ДНК, а эпигенетическая инактивация.

В нашем исследовании частота АД гена *CDH1* достоверно выше в опухолях интестинального типа, хотя нарушение экспрессии гена E-кадгерина является одним из основных событий при развитии диффузного типа рака желудка. Это можно объяснить тем, что потеря экспрессии гена *CDH1* при диффузном типе рака чаще связана с эпигенетической инактивацией гена, а не его делецией. По данными других авторов, эпигенетическая инактивация гена *CDH1* в результате аномального метилирования его промоторного района отмечается чаще при диффузном типе рака [11]. С другой стороны, в результате АД может наблюдаться как потеря нормального аллеля гена, так и митотическая рекомбинация с последующей амплификацией мутантного аллеля, что приведет к его дупликации. Таким образом, дисбаланс может характеризоваться не только делециями, но и увеличением копийности определенных мутантных аллелей генов, поэтому связь АД со снижением генной экспрессии не очевидна.

В последнее время, в связи с развитием геномных технологий, позволяющих оценивать АД по всем хромосомам методом CGH, найдены хромосомы, в которых наблюдается высокая частота АД в карциномах желудка. Хромосомы 3, 4, 6 и 18 характеризуются высокой частотой делеций, а хромосомы 7, 8 и 20, напротив, – высокой частотой амплификации [12]. Высокая частота АД в этих хромосомах свидетельствует о наличии в них новых генов, участвующих в канцерогенезе желудка и определяющих клиническое поведение опухолей.

В нашем исследовании мы попытались выделить группу опухолей, содержащих перстневидные клетки, и исследовать АД в этой группе. По классификации Лорен перстневидно-клеточный рак относится к диффузному типу опухолей, с низкой степенью дифференцировки, но в них присутствуют именно эти специфические клетки. Этот тип рака особо агрессивен и содержит множественные первичные опухолевые очаги; он характеризуется высокими темпами опухолевого роста, выраженным внутритканевым распространением, ранней лимфогенной и перитонеальной диссеминацией. Остается открытым вопрос, является ли перстневидно-клеточный рак следствием трансформации низкодифференцированной аденокарциномы в процессе канцерогенеза или возникает самостоятельно на фоне определенного спектра предшествующих только ему молекулярно-генетических изменений слизистой желудка. Хотя в нашем исследовании группа опухолей с перстневидными клетками оказалась немногочис-

ленной, и нам не удалось достоверно определить их отличительные признаки, но обращает на себя внимание тот факт, что в этой группе частота АД мала, а микросателлитная нестабильность не встречается (табл. 2). Некоторые исследователи предлагают рассматривать перстневидно-клеточный рак как особую разновидность злокачественных новообразований желудка, что подразумевает необходимость реорганизации лечебных программ для этого типа рака [13].

Другой общепризнанный тип геномной нестабильности при раке желудка – микросателлитная нестабильность (МН). Она наблюдается в опухолях желудка при наследственном синдроме Линча в 25–50% случаев, и в меньшей степени – при спорадическом типе [14, 15]. Для фенотипа МН в опухолевых тканях характерна высокая частота ошибок в результате делеций/инсерций нуклеотидов в этих повторах при репликации. Ошибки распознаются и исправляются комплексом белков, отвечающих за репарацию неспаренных оснований (Mismatch Repair, MMR-белков). Инактивация или дефицит генов *MMR*, экспрессирующих эти белки, в частности, генов *MLH1* или *MSH2*, индуцирует развитие МН-фенотипа, который часто приводит к дополнительным мутациям – и не только в микросателлитных повторах, но и в онкогенах и генах-супрессорах опухолей, а также активирует АД. При раке желудка с фенотипом МН мутации в TGFβ-рецепторе II (ген *TGFBR2*) определяются в 90% случаев, с фенотипом *BAX* – в 61%, с фенотипом *hMSH3* – в 38.7% и с фенотипом *E2F4* – в 61.3% случаев [16]. Считается, что при раке желудка чаще происходит эпигенетическая инактивация генов *MMR* (*MLH1* или *MSH2*), которая возникает в результате аномального метилирования регуляторных областей этих генов. Гиперметилирование гена *MLH1* происходит в более чем 50% случаев МН-положительного рака желудка, тогда как мутации в генах *MLH1* и *MSH2* приводят развитию МН-фенотипа рака желудка только в 12–15% случаев [15, 17]. Микросателлитная нестабильность наблюдается в карциномах желудка в 10–44% случаев, в нашем исследовании она составила 15 из 78 (19%) (табл. 2).

Рак желудка, характеризующийся микросателлитной нестабильностью, является четко определенным подтипом опухоли с отличительными клинико-патологическими характеристиками, такими как антральная локализация, интестинальный тип, отсутствие инвазивного роста опухоли и низкий уровень лимфогенного метастазирования. Исходя из этого, феномен микросателлитной нестабильности в карциномах желудка следует считать признаком благоприятного прогноза для пациентов [18]. В нашем исследовании этот феномен наблюдали чаще при интестинальном типе опухолей ($p = 0.01$), что также позволяет рассматривать

его как благоприятный признак опухолевого течения (табл. 2).

Экспрессия генов *TP53*, *RUNX3* и *CDH1* при раке желудка достаточно хорошо изучена, но в большинстве работ экспрессию генов исследуют на уровне белков при помощи иммуногистохимического анализа. И хотя изменение экспрессии генов очевидно, механизм, в результате которого это изменение происходит, неизвестен. В этой статье мы исследовали АД, во-первых, как проявление механизма структурной инактивации генов, а во-вторых, — как дополнительный показатель (маркер) течения заболевания, который можно учитывать в сложных случаях. Нам удалось показать, что, хотя делеции районов, где расположены эти гены, происходят с достаточно высокой частотой (от 26% в случае *CDH1* до 38% — в случае *TP53*), но не они являются основным механизмом их инактивации. С другой стороны, достоверное снижение частоты дисбаланса при диффузном раке желудка, а также в опухолях с низкой степенью дифференцировки, свидетельствует о том, что пути молекулярного патогенеза этих двух опухолевых типов различны, и это требует разработки новых подходов к противоопухолевой терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. 2008. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2006 г. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН*. **19**, 53–55.
2. Jang B.-G., Kim W.H. 2011. Molecular pathology of gastric carcinoma. *Pathobiol.* **78**, 302–310.
3. Vauhkonen M., Vauhkonen H., Sipponen P. 2006. Pathology and molecular biology of gastric cancer. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* **20**, 651–674.
4. Martin S.A., Hewish M., Lord C.J., Ashworth A. 2010. Genomic instability and the selection of treatments for cancer. *J. Pathol.* **220**, 281–289.
5. Buffart T.E., Louw M., van Grieken N.C., et al. 2011. Gastric cancers of Western European and African patients show different patterns of genomic instability. *BMC Medical Genomics*. **4**, 2–12.
6. Costello J., Plass C. 2001. Methylation matters. *J. Med. Genet.* **38**, 285–303.
7. Li Q.L., Ito K., Sakakura C., et al. 2002. Causal relationship between the loss of RUNX3 expression and gastric cancer. *Cell*. **109**, 113–124.
8. Peng Z. Z., Wei D., Wang L., et al. 2006. RUNX3 inhibits the expression of vascular endothelial growth factor and reduces the angiogenesis, growth, and metastasis of human gastric cancer. *Clin. Cancer Res.* **12**, 6386–6394.
9. Humar B., Blair V., Charlton A., More H., Martin I., Guilford P. 2009. E-cadherin deficiency initiates gastric signet-ring cell carcinoma in mice and man. *Cancer Res.* **69**, 2050–2056.
10. Hong S.J., Jeon E.J., Oh J.H., et al. 2010. The gene-reduction effect of chromosomal losses detected in gastric cancers. *BMC Gastroenterology*. **10**, 138.
11. Liu Y.C., Shen C.Y., Wu H.S., Hsieh T.Y., et al. 2006. Mechanisms inactivating the gene for E-cadherin in sporadic gastric carcinomas. *World J. Gastroenterol.* **14**, 2168–2173.
12. Cheng L., Wang P., Yang S., Yang Y., et al. 2012. Identification of genes with a correlation between copy number and expression in gastric cancer. *BMC Med. Genomics*. **5**, 1–14.
13. Белоус Т.А. 2001. Клиническая морфология рака желудка. *Российский онкологический журнал*. **1**, 46–50.
14. Ottini L., Falchetti M., Lupi R., et al. 2006. Patterns of genomic instability in gastric cancer: clinical implications and perspectives. *Annals Oncol.* **17**, 97–102.
15. Hudler P. 2012. Genetic aspects of gastric cancer instability. *Scientific World J.* 2012, 761909 (Published online 2012, April 19).
16. Oliveira C., Seruca R., Seixas M., Sobrinho-Simões M. 1998. The clinicopathological features of gastric carcinomas with microsatellite instability may be mediated by mutations of different “target genes”: a study of the TGFbeta RII, IGFII R, and BAX genes. *Am. J. Pathol.* **153**, 1211–1219.
17. Bacani R., Zwingerman N., Di Nicola, et al. 2005. Tumor microsatellite instability in early onset gastric cancer. *J. Mol. Diagnostics*. **7**, 465–477.
18. Kim H., An J.Y., Noh S.H., et al. 2011. High microsatellite instability predicts good prognosis in intestinal-type gastric cancers. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **26**, 585–592.