

ных опухолях она содержит меньше на 44% ЦТЛ ($CD3^+CD8^+$), чем при синхронных. Состав других изученных субпопуляций лимфоцитов в перифокальных зонах по большинству показателей не выявил статистически значимых различий.

Заключение. Учитывая то, что наблюдалось снижение интратуморального количества $CD19^+$ -лимфоцитов и накопление Т-лимфоцитов ($CD3^+$), можно предположить, что на фоне злокачественного процесса в толстой кишке происходят нарушения локального клеточного иммунитета, связанные с дисбалансом субпопуляций лимфоцитов. Найденные изменения свидетельствуют о важной роли тканевых иммунно-воспалительных реакций в патогенезе одиночного и первично - множественного синхронного рака толстой кишки.

ХАРАКТЕРИСТИКА ХРОМОСОМНЫХ НАРУШЕНИЙ В ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРИТЕ И РАКЕ ЖЕЛУДКА

О.А. Матвееenko

НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск

Канцерогенез желудка представляет собой многоступенчатый процесс, протекающий через множество предопухолевых состояний к манифестированному раку желудка (Correa P., 1992).

Как известно, процесс малигнизации клеток инициируется взаимодействием различных факторов, среди которых заметное место занимают генетические изменения. Наличие числовых и структурных aberrаций хромосом может обуславливать возникновение геномной нестабильности через амплификацию и делецию определенных участков генома, в которых локализуются онкогены или гены-супрессоры опухолей. На сегодняшний день нет однозначного мнения относительно роли хромосомных aberrаций в процессе малигнизации. Однако, в подтверждение анеуплоидной концепции канцерогенеза Дьюсберга (Duesberg, 1999), в ходе ряда исследований получены доказательства в пользу того, что возникновение хромосомных нарушений может являться ранним событием и инициировать развитие геномной нестабильности клетки, способствуя, тем самым, ее злокачественной трансформации (Sen, 2000; Sánchez-Pérez et al., 2009; Bannon et al., 2009; Ganmore et al., 2009).

Одним из предопухолевых состояний желудка является хронический атрофический гастрит, который формируется на фоне постоянной воспалительной реакции (Букин, 2000; Павлова, 2005). Хроническое воспаление может привести к формированию различных предопухолевых заболеваний, наличие которых является фактором риска развития опухоли желудка, поскольку на их фоне происходят патологические морфологические перестройки ткани, характеризующиеся метаплазией и дисплазией эпителия желудка (Пальцев, Аничков, 2005; Gregory et al., 2007; Мозговой, 2009). Вероятность злокачественной трансформации хронического атрофического гастрита варьирует от 3 до 50% (Писарева, Коломиец, 2001; Сельчук, Никулин, 2003). Столь высокая вариабельность требует поиска маркеров, связанных с риском злокачественной трансформации клеток.

Таким образом, целью нашей работы было цитогенетическое исследование эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка на фоне хронического атрофического гастрита и рака. В исследование было включено 29 пациентов с клиническим диагнозом «хронический гастрит». Для 24 пациентов хронический атрофический гастрит был подтвержден гистологически. Биопсийные образцы от 5 пациентов представляли собой гистологически нормальный эпителий, однако в образцах тканей 3 человек из данной группы было также выявлено слабо выраженное воспаление слизистой, в биоптате 2 других пациентов детектирована гистологически нормальная ткань без воспаления. В группе больных с хроническим гастритом дисплазия и метаплазия различной степени выраженности была детектирована у 12 пациентов, в то время как ткани 12 человек характеризовались выраженным хроническим воспалением без видимых морфологических изменений эпителия. В состав группы входило 9 мужчин и 20 женщин. Средний возраст пациентов на момент выявления заболевания составил 53,5 года (24-75 лет). Забор материала был проведен в 2007-2009 гг. Для проведения сравнительного анализа хромосомных aberrаций в опухолевых и эпителиальных клетках при хроническом воспалении была сформирована группа из 10 больных раком желудка на различных стадиях неопластического процесса. Для каждого пациента из этой группы исследовался парный материал опухолевой и эпителиальной ткани из очага хронического воспаления. Средний возраст пациентов в группе с опухолевой патологией желудка составил 66,7 лет (50-83 года). В

состав группы входило 6 мужчин и 4 женщины. Забор материала производился в 2009-2010 гг. Все образцы имели гистологическую верификацию клинического диагноза.

Детекцию нарушений хромосомного материала проводили с помощью метода сравнительной геномной гибридизации (CGH), который позволяет выявить все числовые и несбалансированные структурные aberrации хромосом в ходе одной реакции гибридизации.

По данным CGH-анализа было выявлено, что в тканях пациентов без воспалительной реакции хромосомные нарушения отсутствовали.

В подгруппе больных с хроническим гастритом без дисплазии aberrации хромосом были детектированы у 9 из 12 больных (75%). Общее количество амплификаций и делеций равнялось 11 (6 делеций, 5 амплификаций). Исключая три случая, общей аномалией для данной группы была делеция 15q11.2-q26, которая была зарегистрирована у 6 из 9 пациентов (66,6%). В подгруппе больных хроническим гастритом с диспластическими изменениями эпителия также был детектирован высокий уровень хромосомных нарушений. У 9 из 12 (75%) больных в клетках эпителия были обнаружены амплификации и делеции хромосомного материала. Однако, по сравнению с подгруппой больных без дисплазии, выявлен более широкий спектр детектируемых aberrаций, а также возросло число амплификаций хромосомного материала. Так, в данной подгруппе общее число хромосомных aberrаций составило 56, из которых делеций было детектировано только 4, а амплификаций 52. Наиболее частой aberrацией была амплификация хромосомного сегмента 3p12-p23, которая встречалась в 5 из 9 случаев, что составило 55,5%. Были обнаружены статистически значимые отличия по соотношению амплификаций и делеций в клетках тканей исследуемых подгрупп. Так, в группе пациентов с дисплазией соотношение амплификаций и делеций увеличивалось в сторону амплификаций ($p=0,007$).

Цитогенетический анализ опухолевой ткани желудка показал наличие хромосомных нарушений во всех исследуемых образцах. Нарушения были выявлены у 10 из 10 человек (100%), в то время как в прилежащих клетках эпителиальной ткани из очага воспаления aberrации были детектированы у 7 человек (70%). Общее число aberrаций в опухолевых клетках составило 42 (23 делеции и 19 амплификаций), тогда как в клетках прилежащего эпителия оно

равнялось 30 (23 делеции и 7 амплификаций). Наиболее частыми хромосомными нарушениями в опухолевой ткани были делеция в 5q12-q23 (30%) и делеция длинного плеча хромосомы 18 (30%). В прилежащей к опухолевому очагу эпителиальной ткани на фоне хронического воспаления частыми нарушениями были делеции в хромосомных субсегментах 19p13.2, 19q13.1-q13.3 (30%), 18q12-q21 (20%) и в одном случае моносомия по 18 хромосоме. Сравнивая число делеций и амплификации в опухолевой ткани и ткани из области хронического воспаления, было выявлено увеличение числа амплификаций в 2,7 раза ($p=0,031$), тогда как число делеций осталось неизменным. Значимые отличия были выявлены между числом амплификаций в образцах прилежащего эпителия и общим числом aberrаций в образцах опухоли ($p=0,01$).

Анализ уровня и спектра хромосомных aberrаций показал статистически значимые отличия по числу амплификаций и делеций при сравнении групп пациентов с опухолевой патологией и пациентов с хроническим гастритом без диспластических изменений слизистой ($p=0,01$; $p=0,009$), соответственно. Значимых отличий по общему числу хромосомных aberrаций между группами с диспластическими изменениями и без дисплазии, а также между опухолевой тканью и прилежащим эпителием выявлено не было. По результатам сравнения было выявлено, что только ткани крайних точек развития процесса (гастрит без дисплазии и опухоль) значимо отличаются по числу амплификаций, делеции, а также общему числу хромосомных нарушений, тогда как патологические состояния и изменения эпителия более близкие друг к другу с позиции гастроканцерогенеза, отличаются лишь по отдельным типам aberrаций.

Относительно типов хромосомных нарушений, можно заключить следующее: на каждом этапе развития патологического процесса в слизистой оболочке желудка, превалировал один определенный вид aberrаций, который либо не был детектирован, либо был обнаружен лишь в единичных случаях в клетках слизистой оболочки желудка на других стадиях развития болезни. Так, делеции 15q11.2-q26 и амплификации 3p12-p23, являющиеся характерными для начальных стадий канцерогенеза желудка, не являлись таковыми для опухолевой ткани, для

которой основными были делеции 5q12-q23, 18q и ампликации 20p11.2-p13, 7q31-q35 и 8q21.2-q21.3. Можно предположить, что клеточные клоны, несущие aberrации по 15q11.2-q26 и 3p12-p23 хромосомным сегментам на начальных стадиях, не участвуют в дальнейшем развитии опухоли, уходя в апоптоз, тогда как для инициации и становления клона опухолевых клеток более важными оказываются другие aberrации, способствующие преодолению клетками эндогенной регуляции и выживанию в жестких условиях иммунного контроля организма. Кроме того, можно сделать вывод о том, что на начальном этапе развития патологического процесса ведущими aberrациями хромосом являются ампликации, которые обеспечивают увеличение хромосомного материала и повышению жизнеспособности клеточных клонов. Далее, в ходе клональной эволюции выделяются клоны с мутациями, способными поддерживать существование клона, на фоне которых появляются делеции хромосомного материала, по регионам, в которых могут находиться опухолесупрессорные гены. Таким образом, опухолевые клетки приобретают относительную стабильность для дальнейшего существования и развития.

**ИНДИКАЦИЯ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ
НАРУШЕНИЙ В ЛИМФОЦИТАХ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ
НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ
БЫСТРЫМИ НЕЙТРОНАМИ**

*А.А. Мельников, С.А. Васильев, Л.И. Мусабаева,
В.В. Великая, О.В. Грибова, Л.Н. Уразова,
Ж.А. Старцева, И.Н. Лебедев, Е.А. Чойнзонов*

НИИ онкологии СО РАМН, г. Томск
НИИ медицинской генетики СО РАМН, г. Томск
Сибирский ГМУ, г. Томск

Накопленный мировой опыт показал, что проведение нейтронной терапии существенно повышает эффективность лучевого лечения больных радиорезистентными опухолями слюнных желез и молочной железы за счет более выраженного повреждающего действия на биологическую ткань [1]. При этом в ходе лечения очень часто невозможно достичь инактивации наиболее резистентной части клеток

опухоли, не превышая толерантности окружающих нормальных тканей [1-3]. Данное обстоятельство создает угрозу появления отдаленных эффектов облучения, что, в свою очередь, определяет актуальность поиска эффективных методов биоиндикации лучевого поражения организма больного при нейтронной терапии. Индикация цитогенетических нарушений в лимфоцитах периферической крови рекомендована Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), Научным комитетом по действию атомной радиации (НКДАР) и Международным агентством по атомной энергетике (МАГАТЭ) в качестве надежного и достоверного метода оценки радиационного поражения организма [4]. Высокая значимость цитогенетических методов при лучевой терапии обусловлена тем, что «биологическая доза» определяется не только поглощенной терапевтической дозой, но и характером её распределения в организме больного, индивидуальной радиочувствительностью последнего и степенью репарационных процессов [5]. Необходимо отметить, что на сегодняшний день остается открытым вопрос о влиянии терапевтического нейтронного излучения на индукцию структурных и числовых мутаций хромосом в клетках человека в клинических условиях, что определило цель настоящего исследования.

Материалы и методы. Материалом исследования служила периферическая кровь, полученная от 9 больных ЗНО околоушных слюнных желез стадии $T_3N_{0-3}M_0$ и 8 больных рецидивами рака молочной железы (РМЖ) с 3-х исследуемых точек: до лечения, через сутки после первого сеанса и в конце курса нейтронной терапии. У всех больных ЗНО диагноз был верифицирован морфологически. Клинические данные больных были получены при анализе первичных документов – историй болезни и амбулаторных карт. Лучевая терапия быстрыми нейтронами с энергией 6,3 МэВ проводилась на циклотроне У-120 в НИИ ядерной физики Томского политехнического университета. Режим облучения у больных с опухолью околоушной слюнной железы на циклотроне У-120 включал: разовая очаговая доза (РОД) после первого сеанса – 1,3-2,2 Гр, суммарная очаговая доза (СОД) – 5,5-8,4 Гр (23-44 Гр стандартного фотонного излучения). У больных рецидивами РМЖ применяли режим облучения: РОД после первого сеанса – 1,6 Гр, СОД – 4,8-8,0 Гр (30-40 Гр стандартного фотонного излучения). Применялись 2 поля облучения размерами: 6×6 и 6×8 см. Проведение исследования было одоб-