

К вопросу о мутации в гене p53 при глиомах головного мозга

Р.А. Салеев, А.Г. Сергеев, А.С. Белохвостов, О.Ю. Истомина

Уральская государственная медицинская академия,
Городская клиническая больница №40, Екатеринбург

Ген p53 является ключевым геном-супрессором опухолевого роста. Мутации в этом гене часто обнаруживаются в опухолевых клетках при раке молочной железы, яичника, толстой кишки. Сведения о частоте встречаемости мутаций в гене p53 при опухолях головного мозга весьма многочисленны и противоречивы.

В настоящей работе приводятся результаты исследования на наличие мутаций в гене p53 тридцати образцов глиальных (нейроэпителиальных) опухолей головного мозга, полученных во время оперативного вмешательства.

Возраст больных колебался от 3 до 64 лет. 11 больных были женского пола и 18 - мужского. В 9 наблюдениях диагностирована анапластическая астроцитома (в одном случае образцы исследовались у одного и того же больного с интервалом в 4 года), в 10 других случаях - глиобластома и еще у 10 больных - медуллобластома.

Образцы представляли собой фиксированные препараты опухолей в парафиновых блоках. Из каждого блока готовили по 8 срезов толщиной 15 мк. Для исследования отбирали срезы, в которых не было участков некроза и кровоизлияний. После депарафинизации срезов ксилолом ткань опухоли обрабатывали протеиназой K и выделяли ДНК методом фенолхлороформенной экстракции.

Учитывая тот факт, что наиболее существенным для нарушения функции белка p53 является наличие мутаций в 5-8 экзонах, анализировали участки гена, соответствующие именно этим экзонам. Последовательность каждого экзона амплифицировали методом ПЦР, а затем проводили SSCP-анализ, позволяющий обнаружить точечные мутации. Параллельно проводились исследования на предмет мутаций в генах p16 и K-ras.

Из 29 исследованных нами образцов глиом головного мозга мутации гена p53 были обнаружены в 8 случаях: у 3-х мужчин (из 14 - 21,4%), у 4-х женщин (из 10 - 40%) и у одного мальчика из 5 детей. Возраст этих больных был в диапазоне от 12 до 64 лет. Обратило внимание, что 7 из 8 больных проживали в крупных промышленных центрах, тогда как из общей серии - 29 наблюдений - 16 больных поступили из районных городов. Следует подчеркнуть, что 6 из 8 больных - жители Екатеринбурга, и двое из них - из одного, Чкаловского района.

Наиболее часто мутации гена p53 были выявлены при медуллобластомах - в 4 наблюдениях из 10. Следует иметь в виду, что речь идет о дизэмбриогенетической злокачественной опухоли, которая диагностируется, как правило, в детском возрасте. Вот почему мы исследовали пять образцов от детей (3, 4, 6, 8 и 12 лет) и пять образцов от взрослых больных (20, 22, 24, 41 и 64 лет). Мутации гена p53 были обнаружены

лишь у одного ребенка и у трех взрослых, при этом у самых старших - мальчика 12 лет и у трех женщин 24-64 лет. С другой стороны, при детальном анализе выявляется еще одна существенная особенность: у двух наиболее молодых больных (12 и 24 года) мутации гена p53 установлены в 7 экзоне, у больной 41 года* - в 6 экзоне и у больной 64 года - в 5-м экзоне. Эти данные позволяют высказать предположение, что у больных старшего возраста играют роль не столько дизэмбриогенетические, сколько иные механизмы онкогенеза, в частности, мутации *de novo*.

Что касается анапластических астроцитом, то мутации гена p53 были обнаружены в трех случаях из 9 и только в 7-м экзоне - все трое больных мужского пола сравнительно более молодого возраста (средний возраст - 44,3 года, в то время как средний возраст других шести больных этой же серии - 51,7 года). Представляет интерес одно наблюдение - мужчина, 34 лет, анапластическая астроцитома левой лобной доли, оперирован 3 октября 1995 года. В образцах опухоли выявлена мутация в 7-м экзоне гена p53. Продолженный рост глиомы отмечен через 4 года. В материале от повторной операции 12 января 2000 года также обнаружена мутация в том же экзоне.

Из 10 наблюдений глиобластомы аналогичная мутация имела место только в одном случае у женщины 23 лет. Мутаций генов p16 и K-ras не выявлено ни в одном из исследованных образцов глиом головного мозга.

Как известно, мутации в гене p53 приводят к подавлению апоптоза в клетках, накапливающих генетические дефекты (предопухолевые и опухолевые клетки). В этом контексте практически важно, что многие средства химиотерапии опухолей вызывают p53-зависимую индукцию апоптоза. Наличие дефекта гена p53 обуславливает неэффективность этих препаратов у онкологических больных. Очевидно, в подобных случаях будут более эффективными и p53-независимые химиопрепараты.

Определение частоты встречаемости мутантных форм гена p53 в глиальных опухолях головного мозга является необходимым этапом оценки прогностической значимости данного генетического дефекта. Есть основания полагать, что тестирование мутантного гена p53 в опухолевом материале может иметь практическое значение в нейроонкологии, так как позволит увеличить эффективность химиотерапии.