УДК 616.62-006.6-031.14-091.8

Клональное происхождение множественных очагов рака мочевого пузыря

А.Ю. БАБАЯН[1], Ю.Ю. АНДРЕЕВА[2], Д.В. ЗАЛЕТАЕВ[1,3], М.В. НЕМЦОВА[1,3]

[1]НИИ молекулярной медицины ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздравсоцразвития России; [2]ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им П.А. Герцена» Минздравсоцразвития России; [3]Медико-генетический научный центр Российской академии медицинских наук, Москва

Clonal origin of multiple foci of urinary bladder cancer

A.YU. BABAYAN[1], YU.YU. ANDREYEVA[2], D.V. ZALETAYEV[1,3], M.V. NEMTSOVA[1,3]

[1]Research Institute of Molecular Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation; [2]P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute, Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation; [3]Medical Genetics Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Для анализа паттерна молекулярных повреждений проведено исследование аллельного дисбаланса хромосомных локусов 9p21 и 17p13 у 22 пациентов с диагнозом первично-множественного рака мочевого пузыря (РМП) (от 2 до 5 очагов от каждого из пациентов). В 3 (13,6%) случаях состояние маркеров было неинформативным, в 9 (47,4%) из 19 информативных случаев определена делеция одного и того же аллеля хотя бы по одному из исследуемых локусов во всех опухолевых узлах, что может указывать на моноклональное происхождение множественных опухолей у этих пациентов. У 5 (26,3%) из 19 пациентов определена делеция аллеля одного и того же в разных опухолевых узлах, что указывает на активно идущий процесс клональной эволюции и возможность субклонирования опухоли, что не исключает возможность моноклонального происхождения. У 5 (26,3%) из 19 пациентов в разных узлах выявлен дисбаланс различающихся аллелей, что может указывать на олигоклональное происхождение исследуемых опухолевых узлов. Авторами показано, что конкордантные и дискордантные паттерны молекулярных повреждений в опухолях первично-множественного РМП встречаются практически с одинаковой частотой, что подтверждает возможность развития синхронных опухолей РМП как по моноклональному пути, посредством интралюминального расселения опухолевых клеток, так и при появлении полей канцеризации, определяющих возникновение олигоклональных опухолей.

Ключевые слова: множественный рак мочевого пузыря, моноклональное происхождение опухоли, олигоклональное происхождение опухоли, клональная гетерогенность опухоли, поля «канцеризации», аллельный дисбаланс, потеря гетерозиготности.

To analyze the pattern of molecular damages in urinary bladder cancer (UBC), the authors studied allelic imbalance of chromosome loci 9p21 and 17p13 in 22 patients diagnosed as having multiple primary UBC (2 to 5 foci in each patient). The state of markers has no informative value in 3 (13.6%) cases; in 9 (47.4%) of 19 informative cases, deletion of the same allele was determined in at least one of the loci in question in all tumor nodules, which may point to the monoclonal origin of multiple tumors in these patients. Five (26.3%) of the 19 patients exhibited deletion of the same allele in different tumor nodules, which is suggestive of the active process of clonal evolution and the feasibility of tumor subcloning, which does not preclude the possibility of monoclonal origin. Five (26.3%) of the 19 patients had an imbalance of different alleles in varying nodules, which may show the oligoclonal origin of the tumor nodules concerned. The concordant and discordant patterns of molecular damages are encountered virtually with the same frequency in the tumors of multiple primary UBC, which supports the view that its synchronous tumors can develop both monoclonally through intraluminal dissemination of tumor cells and when there are cancerization fields that determine the occurrence of oligoclonal tumors.

Key words: multiple urinary bladder cancer, monoclonal tumor origin, oligoclonal tumor origin, clonal tumor heterogeneity, cancerization fields, allelic imbalance, heterozygosity loss.

Одной из основных проблем лечения больных при поверхностном раке мочевого пузыря (ПРМП) является феномен мультицентричного поражения слизистой оболочки мочевого пузыря (МП) [2].

До недавнего времени основным объяснением этого феномена являлось предположение о наличии невыявленных опухолевых узлов на момент постановки диагноза или проведения трансуретральной резекции, а также возможности имплантации опухолевых клеток в процессе диагностического или оперативного вмешательства. Считалось, что опухоль развивается из единственной клетки, имеет моноклональное происхождение, и распространение ее потомков дает начало множественным опухолям.

Молекулярный патогенез спорадических опухолей, в том числе и рака мочевого пузыря (РМП), характеризуется накоплением определенного паттерна молекулярных повреждений в геноме опухолевых клеток. Эти повреждения приводят к нарушению экспрессии многих генов, в

© Коллектив авторов, 2012

Бабаян Анна Владимировна — науч. сотр. лаб. эпигенетики; 115478 Москва, ул. Москворечье, 1; e-mail: nemtsova_m_v@mail.ru

том числе и отвечающих за регуляцию клеточного цикла. В результате накопления порогового уровня геномных повреждений происходит трансформация нормальной клетки в опухолевую. Таким образом, исходная опухолевая клетка имеет характерный для нее набор мутаций и других генетических и эпигенетических изменений.

Согласно теории моноклонального происхождения опухоли, потомки единственной трансформированной клетки в процессе пролиферации могут получать дополнительные генетические повреждения и становиться опухолевыми субклонами, но первичные изменения, характерные для исходной опухолевой клетки, сохраняются. Такие клетки способны распространяться интралюминально в уротелии или сверху вниз с током мочи и давать начало множественным опухолям [15, 28].

Однако существует и другое предположение: развитие множественных опухолей РМП объясняется проявлением комплексного повреждения всей слизистой МП [10]. Развитие рецидивных и мультифокальных опухолей объясняется наличием в слизистой оболочке МП так называемых «полей канцеризации». Под действием возрастных изменений и канцерогенных факторов на клетки уротелия в них появляются различные молекулярно-генетические изменения. В результате множественного деления такие клетки дают начало клеточному лоскуту с характерным для него спектром генетических изменений. Таким образом, в слизистой оболочке происходит независимое образование нескольких полей канцеризации, каждое из которых способно дать начало опухоли [18]. Развивающиеся в результате мультифокальные опухоли являются «продуктами» различных полей канцеризации и, следовательно, генетически гетерогенны. Такие опухоли имеют различия как в клиническом поведении, так и в молекулярном патогенезе.

В настоящее время исследование клонального происхождения опухолей широко осуществляется для различных типов новообразований. Теория полей канцеризации подтверждается как на молекулярном, так и на морфологическом уровне. Существование полей канцеризации показано для рака легкого, молочной железы, колоректальной карциномы и других видов опухолей [3]. Но, несмотря на значительную историю изучения этого вопроса, данные различных исследовательских групп крайне противоречивы. В настоящее время вопрос о клональном происхождении множественных опухолей ПРМП остается открытым.

Решение вопроса об источнике происхождения первично-множественных опухолей имеет не только научное, но и большое практическое значение для определения хирургической тактики и подходов к дальнейшему лечению пациентов с ПРМП. Используемая в настоящее время трансуретральная резекция МП позволяет избавляться от отдельных узлов, но не от воздействия на слизистую МП с целью ее оздоровления. Кроме того, вопрос о клональном источнике множественных опухолей важен и для определения чувствительности и резистентности опухоли к лекарственным препаратам. Вероятно, олигоклональные опухоли, имеющие различия в молекулярном патогенезе, могут иметь индивидуальную чувствительность к лекарственным препаратам, что определяет проблемы химиотерапевтического лечения при РМП.

Материал и методы

В работе исследовали образцы опухолей РМП и условно-нормальной ткани МП, доступные в виде операционного материала и парафиновых блоков, а также периферическую кровь больных с установленным диагнозом ПРМП (стадии pTa, pT1). Материал получен у 22 пациентов отделения онкоурологии Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена. Количество множественных опухолевых узлов варьировало от 1 до 4 у каждого больного. У всех больных определена уротелиальная карцинома мочевого пузыря различной степени дифференцировки (G1 —высокодифференцированный рак, G2 — умереннодифференцированный, G3 — низкодифференцированный) и стадии (Ta—T1 — поверхностный рак, T2—T4 — инвазивный рак). Патоморфологический анализ всего предоставленного материала проведен на базе патологоанатомического отделения Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена.

Медиана возраста больных составила 58,5±11,5 года (26—75 лет); соотношение мужчин и женщин — 6:1.

Геномную ДНК из материала парафиновых блоков и лимфоцитов периферической крови выделяли методом фенолхлороформной экстракции с предварительной депарафинизацией [7]. Опухолевые клетки выявляли на окрашенных гематоксилином и эозином срезах под морфологическим контролем с последующей микродиссекцией со стекол.

Аллельный дисбаланс исследовали с помощью микросателлитного анализа локусов 9p21 (STR-маркеры D9S942, D9S2136) и 17p13 (D17S1832, D17STP53i1) на соответствующих образцах ДНК из опухолей, условно-нормальной ткани МП и лимфоцитов периферической крови. Условия ПЦР и последовательности праймеров подобраны с использованием базы данных UCSC (http://www.genome.ucsc.edu).

Статистический анализ результатов включал сравнение клинических групп с помощью двустороннего точного критерия Фишера (уровень значимости α=0,05), вычисление показателя отношения шансов (OR) и соответствующих 95% доверительных интервалов (95% CI) при помощи программы Statistica v. 6.0.

Результаты

Для определения клонального происхождения опухолей пользовались стандартным методом. Во всех образцах проводили исследование аллельного дисбаланса для локусов 9p21 (STR-маркеры D9S942, D9S2136) и 17p13 (D17S1832, D17STP53i1). Опухоли, имеющие делецию одинакового по длине аллеля во всех узлах, рассматривали как моноклональные, предполагая, что потеря хромосомного материала произошла в клетке-предшественнице и сохранилась в качестве исходного молекулярного повреждения во всех узлах. Опухоли, имеющие делецию аллеля одной длины, но не во всех узлах, считали псевдомоноклональными [14, 13]. Такие опухоли могут иметь моноклональное происхождение, а различия в паттерне аллельных делеций происходят в результате клональной экспансии, или субклонирования. Появление новых опухолевых субклонов может являться результатом селекции более приспособленного опухолевого клона, который получил исследуемую аллельную делецию в качестве дополнительного молекулярного повреждения. Олигоклональными считали опухоли, имеющие потерю гетерозиготности (ПГ) различных по длине аллелей, так как делеции в различных хромосомных

гомологах являются событиями независимыми **(см. рисунок)**.

У 3 (13,6%) пациентов (случаи 2, 3, 19) из 22 оба маркера находились в гомо- или гетерозиготном состоянии, что не позволяло сделать заключение о клональном происхождении опухоли у этих пациентов, поэтому количество информативных случаев составило 19 **(табл. 1)**. У 9 (47,4%) из 19 пациентов определена ПГ одинакового по размеру аллеля хотя бы по одному из исследуемых локусов во всех 27 опухолевых узлах (случаи 8, 10, 11, 13, 15, 16, 18, 21, 22). Такое распределение аллельных потерь может указывать на моноклональное происхождение множественных опухолей у этих пациентов. У 5 (26,3%) из 19 больных определена ПГ одного и того же по размеру аллеля в разных опухолевых узлах (случаи 1, 5, 14, 17, 20) (13 опухолевых узлов). Такое состояние указывает на активно идущий процесс клональной эволюции. Делецию в некоторых узлах можно объяснить добавлением нового события в процессе канцерогенеза у конкретного больного. В этом случае можно говорить о возможности субклонирования опухоли, однако нельзя исключить ее моноклональное происхождение. У 5 (26,3%) из 19 пациентов выявлена ПГ различающихся по размеру аллелей в разных узлах (случаи 4, 6, 7, 9, 12). Делеция различных по длине аллелей у этих пациентов может указывать на олигоклональное происхождение исследуемых 15 опухолевых очагов.

При исследовании условно-нормальной ткани МП у 5 (23%) пациентов из 22 обследованных обнаружен аллельный дисбаланс исследуемых маркеров в слизистой оболочке МП, такой же, как в опухолевых узлах. В одном случае (случай 14) в опухоли и условно-нормальной ткани определена микросателлитная нестабильность двух исследуемых локусов.

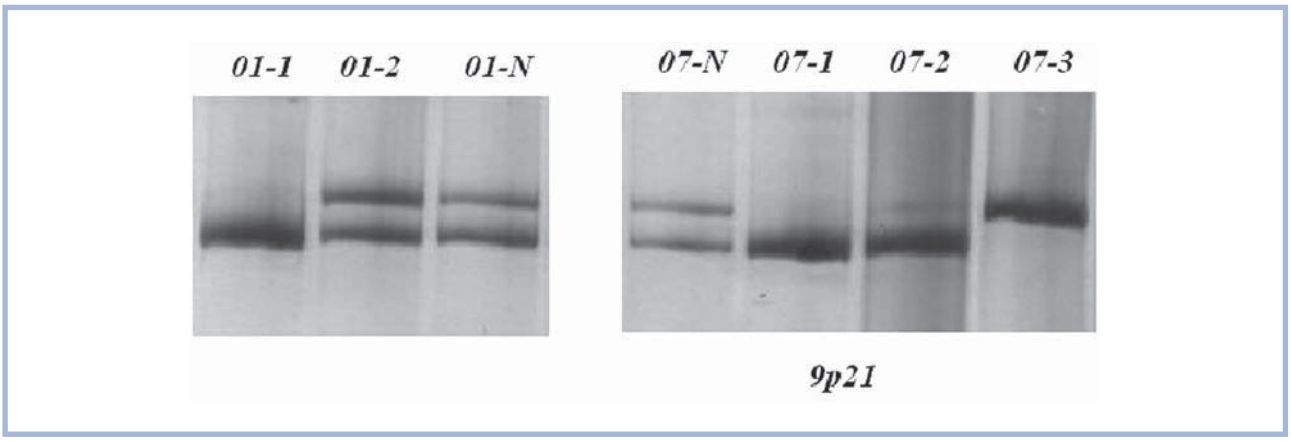
При изучении клинико-морфологических параметров опухолей с моноклональным, псевдомоноклональным и олигоклональным происхождением мы отметили, что все олигоклональные опухоли выявлены у больных, у которых отсутствовали метастазы в регионарных лимфатических узлах (N0). В результате проведенного исследования показано, что моноклональные опухоли имеют более высокую степень клеточной дифференцировки, потому что среди изученных моноклональных опухолей низкодифференцированные опухоли выявляются значительно реже. Однако обнаруженная закономерность не демонстрирует статистической достоверности, вероятно, в силу малой выборки **(табл. 2)**.

Обсуждение

Впервые моноклональное происхождение уротелиальных карцином с последующим интраэпителиальным или интралюминальным распространением опухолевых клеток было показано в работах D. Sidransky и соавт. в 1992 г. и подтверждено более поздними исследованиями других авторов [2, 13, 16, 28, 29, 32].

Тем не менее уже в 2002 г. в исследованиях T. Paiss и соавт. [25] и A. Hartmann и соавт. [16] была отмечена возможность существования более одного опухолевого клона среди множественных опухолей МП, особенно на ранних стадиях развития уротелиальных карцином. T. Paiss и соавт. выявили олигоклональное происхождение в 36% случаев pTa опухолей мочевого пузыря. A. Hartmann и соавт. показали олигоклональное происхождение в 10% случаев среди мультифокальных опухолей мочевого пузыря стадии pTa G1 [16]. В то же время в работах M. Li и L. Cannizzaro [22] для всех исследуемых pTa G1 и G2 опухолей было показано только моноклональное происхождение. Однако в целом ряде последующих работ приводятся убедительные свидетельства в пользу олигоклональной теории развития множественного РМП [17, 31, 33].

Большинство проводимых исследований по изучению клональности уротелиальных карцином, в том числе и настоящее исследование, осуществляли на материале опухолей собственно мочевого пузыря. Однако при таком близком расположении опухолей нельзя исключить контактного распространения опухолевых клеток. T. Takahashi и соавт. [33] провели крупномасштабное исследование клонального происхождения синхронных и метахронных опухолей верхних и нижних мочевыводящих путей. При подобном подходе за счет значительного расстояния между опухолевыми очагами верхних и нижних мочевыводящих путей вытеснение одного опухолевого клона другим, так же как и интраэпителиальное распространение опухоли, маловероятно. Исследование



Исследование аллельного дисбаланса локуса 9p21 множественных опухолей МП.
У пациента 01 в опухолевом узле (01-1) определена делеция верхнего аллеля. В опухолевом узле (01-2) и в нормальной ткани (01-N) сохранено гетерозиготное состояние маркера. У пациента 07 в опухолевых узлах (07-1) и (07-2) выявлена делеция верхнего аллеля, а в узле (07-3) — потеря аллеля другого размера, что предполагает олигоклональное происхождение множественных опухолей у этого пациента.

Таблица 1. **Результаты исследования аллельного дисбаланса 17p13 и 9p21 у пациентов с множественным РМП**

№	Обр.	17p13	9p21	T	G	N
Опухоли, имеющие аллельные делеции одинаковых по длине аллелей, во всех узлах — моноклональные опухоли						
8	08-1	н	ПГ	T4	G1	N1
	08-2	н	ПГ	T4	G1	
	08-н	н	гет			
10	10-1	ПГ	н	T1	G1	N0
	10-2	ПГ	н	Ta	G1	
	10-3	ПГ	н	Ta	G1	
	10-н	ПГ	н			
11	11-1	ПГ	н	T1	G1	N0
	11-2	ПГ	н	T1	G1	
	11-н	ПГ	н			
13	13-1	ПГ	н	T2	G2	N0
	13-2	ПГ	н	T2	G2	
	13-3	ПГ	н	T3	G2	
	13-н	гет	н			
15	15-1	н	ПГ	T3	G3	N1
	15-2	н	ПГ	T3	G2	
	15-3	н	ПГ	T2	G3	
	15-4	н	ПГ	T2	G3	
	15-н	н	ПГ			
16	16-1	н	ПГ	T1	G2	N0
	16-2	н	ПГ	T1	G2	
	16-3	н	ПГ	Ta	G2	
	16-н	н	ПГ			
18	18-1	н	ПГ	Ta	G2	N0
	18-2	н	ПГ	Ta	G1-G2	
	18-3	н	ПГ	Ta	G1-G2	
	18-н	н	гет			
21	21-1	н	ПГ	T3	G3	N1
	21-2	н	ПГ	T2	G3	
	21-3	н	ПГ	T3	G3	
	21-4	н	ПГ	T3	G3	
	21-н	н	гет			
22	22-1	ПГ	н	T1	G2	N0
	22-2	ПГ	н	T1	G2	
	22-3	ПГ	н	T1	G2	
	22-н	гет	н			
Опухоли, имеющие аллельные делеции одинаковых по длине аллелей, не во всех узлах — псевдомоноклональные опухоли						
1	01-1	н	ПГ	T2	G2	N1
	01-2	н	н	T2	G2	
	01-н	н	н			
5	05-1	гет	н	T1	G2	N1
	05-2	ПГ	н	Ta	G2	
	05-н	гет	н			
14	14-1	ПГ	гет+мн	T3	G3	N0
	14-2	гет+мн	гет+мн	T2	G3	
	14-3	ПГ	гет	T3	G2	
	14-н	гет+мн	гет			
17	17-1	гет	ПГ	T1	G1	N0
	17-2	ПГ	ПГ	T1	G1	
	17-3	гет	ПГ	Ta-T1	G1	
	17-н	ПГ	ПГ			
20	20-1	ПГ	гет	T3	G3	N0
	20-2	ПГ	ПГ	T3	G3	
	20-3	ПГ	ПГ	T3	G3	
	20-н	ПГ	гет			
Опухоли, имеющие аллельные делеции различных по длине аллелей, — олигоклональные опухоли						
4	04-1	гет	н	T2	G3	N0
	04-2	+/–	н	T3	G3	
	04-3	–/+	н	T2	G3	
	04-н	гет	н			
6	06-1	н	гет	T2	G2	N0
	06-2	н	–/+	T2	G2	
	06-3	н	+/–	T2	G2	
	06-н	н	гет			

Таблица 1. Продолжение

№	Обр.	17p13	9p21	T	G	N
7	07-1	н	–/+	T2	G3	N0
	07-2	н	–/+	T2	G2-G3	
	07-3	н	+/–	T2	G3	
	07-н	н	гет			
9	09-1	ПГ	–/+	T1	G1	N0
	09-2	ПГ	–/+	T1	G1	
	09-3	ПГ	+/–	Ta	G1	
	09-н	н	н			
12	12-1	–/+	ПГ	T1	G2	N0
	12-2	+/–	ПГ	T1	G2	
	12-3	–/+	ПГ	T1	G2	
	12-н	гет	н			

Примечание. н — неинформативно, гетерозиготное или гомозиготное состояние маркеров; ПГ — потеря гетерозиготности аллеля одного размера; +/– — потеря меньшего по молекулярной массе аллеля; –/+ — потеря большего по молекулярной массе аллеля; T — стадия; G — дифференцировка; N — метастазы в лимфатических узлах.

Таблица 2. **Распределение клинико-морфологических характеристик опухолей в зависимости от происхождения**

Показатель	Моноклональные	Псевдомоноклональные	Олигоклональные	*p*
Стадия:				
Ta-T1	14/27	5/13	6/15	НЗ
T2-T4	13/27	8/13	9/15	
Статус лимфатических узлов:				
N0	17/27	9/13	15/15	НЗ
N1	10/27	4/13	0/15	
Степень дифференцировки:				
G1	7/27	3/13	3/15	НЗ
G2	13/27	5/13	6/15	
G3	7/27	5/13	6/15	

Примечание. НЗ — незначимо.

включало 94 синхронных и метахронных опухолей верхних и нижних мочевыводящих путей у 19 больных. Каждый больной имел, как минимум, одну опухоль верхней локализации (почечные лоханки, мочеточники) и одну опухоль нижней локализации (МП, уретра). Информативность изучения клональности получена у 14 больных из 19. У 9 (64%) из 14 больных отмечено моноклональное происхождение опухолей, а у остальных 5 (36%) существование, по крайней мере, двух различных опухолевых клонов. Интересно, что у этих 5 пациентов с опухолями олигоклонального происхождения опухоли почечной лоханки или мочеточника развились уже после появления опухоли МП. Результаты этого исследования исключают возможность распространения опухолевых клеток с током мочи и подтверждают теорию независимого олигоклонального происхождения множественных опухолей МП.

Для подтверждения теории возникновения полей канцеризации при воздействии канцерогенов на уротелий, S. Yamamoto и соавт. [35] изучали воздействие экспериментального канцерогена N-бутил-N-(4-гидроксибутил)нитрозамина на мышей линии C3H/HeN — BALB/c. В результате проведенного исследования у 30% мышей были обнаружены мультифокальные опухоли различного происхождения.

Очевидно, что при исследовании клональности множественных опухолей большое значение имеет правильное составление диагностической панели. Опухоли, имеющие моноклональное происхождение, должны нести идентичные повреждения генов, ответственных за ранние инициирующие стадии канцерогенеза, а также сходный паттерн повреждений генов, ответственных за дальнейшую опухолевую прогрессию. В случае существования полей канцеризации и олигоклонального происхождения некоторых опухолей МП самые ранние молекулярные события могут быть как идентичны, так и различны в зависимости от принадлежности опухолей к одному или различным полям канцеризации, тогда как поздние события канцерогенеза должны, очевидно, различаться. Одними из наиболее «удачных» и часто используемых при изучении клональности РМП маркеров являются локусы 9p21 и 17p13, которые использовали и в настоящем исследовании. Делеции локуса 9p21, содержащего кластер генов-супрессоров опухолевого роста *CDKN2A*, *CDKN2B*, *P14ARF*, являются одним из самых ранних и частых событий в процессе канцерогенеза РМП [23, 26, 30]. Делеции локуса 17p13, в котором локализуется ген-супрессор *TP53*, напротив, появляются на более поздних этапах развития РМП [23]. Как правило, они ассоциированы с приобретением опухолью инвазивного потенциала [11].

T. Jones и соавт. [20] продемонстрировали возможность сосуществования олигоклональных и моноклональных опухолей у одного пациента, несмотря на то что для подавляющего большинства исследованных опухолей показано олигоклональное происхождение. Также авторы исследовали идентичность паттернов молекулярных повреждений метастазов в лимфатических узлах и соответ-

ствующих первичных опухолей МП. В работе выявлены случаи как сходных, так и различных спектров повреждений в первичных опухолях и метастазах [19]. Принимая во внимание, что в исследование были включены пациенты с монофокальными первичными опухолями РМП, полученные результаты можно рассматривать в плане существования различных клонов в составе макроскопически единой опухоли и явлений внутриопухолевой гетерогенности. Сходные результаты получены L. Cheng и соавт. [4] при изучении неслучайной Х-инактивации в различных фрагментах монофокальных опухолей инвазивного РМП у женщин. У 7 из 11 пациенток показан различный паттерн неслучайной инактивации Х-хромосомы в нескольких микродиссекционных фрагментах единой опухоли. Существование внутриопухолевой гетерогенности показано при изучении и других типов опухолей, например при колоректальном раке, РМЖ, светлоклеточной карциноме почки и пр. [1, 12, 24].

Поскольку феномены олигоклонального и моноклонального возникновения не являются взаимно исключающими, в настоящее время предполагается, что развитие опухолей МП возможно как по одному или другому механизму, так и при их сочетании у одного пациента. В исследованиях, проведенных на материале инвазивного РМП высокой стадии злокачественности, показано преимущественное моноклональное происхождение опухолей [9, 29, 34], тогда как в исследованиях ранних стадий развития заболевания продемонстрировано преимущественное олигоклональное происхождение опухолей [8, 16, 17]. Возможно, олигоклональность возникает на ранних этапах опухолеобразования, а по мере прогрессии один из клонов способен вытеснить остальные, демонстрируя псевдомоноклональное происхождение [13, 14].

В пользу теории полей канцеризации и олигоклонального происхождения множественных опухолей РМП свидетельствуют и данные об обнаружении молекулярно-генетических изменений в гистологически нормальном уротелии МП [6, 21, 27, 31]. В настоящей работе в 23% случаев выявлен аллельный дисбаланс исследуемых маркеров в слизистой оболочке МП как в опухолевых очагах.

Наиболее важным аспектом в теории полей канцеризации является вопрос о механизме возникновения этих полей. Ряд исследователей [5] полагают, что их развитие происходит в результате накопления последовательных мутационных событий в клетках разных участков уротелия. Таким образом, уротелий может содержать несколько дифференциальных полей, различающихся по своему профилю молекулярных повреждений. С другой стороны, существует предположение о развитии единого поля преканцеризации в результате определенного критического молекулярного события. В дальнейшем в различных частях данного единого поля возможно независимое возникновение дополнительных молекулярных событий, критических для развития опухолей [19]. В работе R. Stoehr и соавт. [31] подтвердили олигоклональное происхождение мультифокальных опухолей МП и существование полей канцеризации. При комплексном изучении множественных опухолей и морфологически нормальной слизистой МП у одной из пациенток авторы выявили ПГ локуса 9p21 как в опухолевых узлах, так и в гистологически нормальном уротелии. В этом претрансформированном клеточном кластере на основе морфологического анализа могли быть выделены еще две клеточные популяции, различающиеся по молекулярно-генетическим характеристикам. Первая популяция, кроме делеции 9p21, демонстрировала дополнительно ПГ по локусам 9q32, 8p, 17p13. При патоморфологическом исследовании в этой области были выявлены папиллярные и инвазивные очаги. Вторая популяция не демонстрировала тенденции к опухолевой прогрессии, и на молекулярном уровне характеризовалась только ПГ по 9p21.

В настоящее время вопрос о полях канцеризации, внутриопухолевой гетерогенности, а также происхождении множественных опухолей широко изучается как для РМП, так и для других типов рака. В результате проведенного исследования, а также анализа опубликованных данных можно предположить, что развитие синхронных и метахронных опухолей МП возможно как по моноклональному пути путем интралюминального расселения опухолевых клеток, так и посредством полей канцеризации, обусловливающих появление олигоклональных опухолей. При этом возможность реализации обоих путей развития множественных опухолей МП может наблюдаться у одного пациента.

Выводы

1. Вопрос о происхождении первично множественных опухолей различного типа, в том числе и опухолей МП, имеет не только научное, но и большое практическое значение.

2. Феномены олигоклонального и моноклонального происхождения множественных опухолей мочевого пузыря не являются взаимно исключающими, развитие опухолей МП возможно как по одному или другому механизму, так и при их сочетании у одного пациента.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Немцова М., Пальцева Е., Бабаян А., Михайленко Д., Бабенко О.* Молекулярно-генетический анализ клональной внутриопухолевой гетерогенности в колоректальных карциномах. Молекулярная биология. 2008; 42 (6): 1040—47.
2. *Bender C.M., Jones P.A.* Molecular genetics in carcinoma of the bladder. In: Petrovish Z., Baert L., Brady L.W., eds. Carcinoma of the bladder: Innovations in management. Heidelberg; New York: Springer; 1998; 37—51.
3. *Braakhuis B.J., Tabor M.P., Kummer J.A., Leemans C.R., Brakenhoff R.H.* A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications. Cancer Res. 2003; 63 (8): 1727—30.
4. *Cheng L., Gu J., Ulbright T.M., MacLennan G.T., Sweeney C.J., Zhang S. et al.* Precise microdissection of human bladder carcinomas reveals divergent tumor subclones in the same tumor. Cancer. 2002; 94 (1): 104—10.
5. *Cheng L., Zhang S., MacLennan G.T., Williamson S.R., Lopez-Beltran A., Montironi R.* Bladder cancer: translating molecular genetic insights into clinical practice. Hum. Pathol. 2011; 42 (4): 455—81.
6. *Cianciulli A.M., Leonardo C., Guadagni F., Marzano R., Iori F., De N.C. et al.* Genetic instability in superficial bladder cancer and adjacent mucosa: an interphase cytogenetic study. Hum. Pathol. 2003; 34 (3): 214—21.

7. *Costello J.F., Plass C.* Methylation matters. J. Med. Genet. 2001; 38 (5): 285—303.
8. *Dahse R., Gartner D., Werner W., Schubert J., Junker K.* P53 mutations as an identification marker for the clonal origin of bladder tumors and its recurrences. Oncol. Rep. 2003; 10 (6): 2033—7.
9. *Dalbagni G., Ren Z.P., Herr H., Cordon-Cardo C., Reuter V.* Genetic alterations in tp53 in recurrent urothelial cancer: a longitudinal study. Clin. Cancer Res. 2001; 7 (9): 2797—801.
10. *Davidson D.D., Cheng L.* «Field cancerization» in the urothelium of the bladder. Anal. Quant. Cytol. Histol. 2006; 28 (6): 337—8.
11. *Ecke T.H., Sachs M.D., Lenk S.V., Loening S.A., Schlechte H.H.* TP53 gene mutations as an independent marker for urinary bladder cancer progression. Int. J. Mol. Med. 2008; 21 (5): 655—61.
12. *Friedl P., Alexander S.* Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. Cell. 2011; 147 (5): 992—1009.
13. *Hafner C., Knuechel R., Stoehr R., Hartmann A.* Clonality of multifocal urothelial carcinomas: 10 years of molecular genetic studies. Int. J. Cancer. 2002; 101 (1): 1—6.
14. *Hafner C., Knuechel R., Zanardo L., Dietmaier W., Blaszyk H., Cheville J. et al.* Evidence for oligoclonality and tumor spread by intraluminal seeding in multifocal urothelial carcinomas of the upper and lower urinary tract. Oncogene. 2001; 20 (35): 4910—5.
15. *Harris A.L., Neal D.E.* Bladder cancer—field versus clonal origin. N. Engl. J. Med. 1992; 326 (11): 759—61.
16. *Hartmann A., Rosner U., Schlake G., Dietmaier W., Zaak D., Hofstaedter F. et al.* Clonality and genetic divergence in multifocal low-grade superficial urothelial carcinoma as determined by chromosome 9 and p53 deletion analysis. Lab Invest 2000; 80 (5): 709—18.
17. *Hartmann A., Schlake G., Zaak D., Hungerhuber E., Hofstetter A., Hofstaedter F. et al.* Occurrence of chromosome 9 and p53 alterations in multifocal dysplasia and carcinoma in situ of human urinary bladder. Cancer Res. 2002; 62 (3): 809—18.
18. *Heney N.M., Daly J., Prout G.R.Jr., Nieh P.T., Heaney J.A., Trebeck N.E.* Biopsy of apparently normal urothelium in patients with bladder carcinoma. J. Urol. 1978; 120 (5): 559—60.
19. *Jones T.D., Carr M.D., Eble J.N., Wang M., Lopez-Beltran A., Cheng L.* Clonal origin of lymph node metastases in bladder carcinoma. Cancer. 2005; 104 (9): 1901—10.
20. *Jones T.D., Wang M., Eble J.N., MacLennan G.T., Lopez-Beltran A., Zhang S. et al.* Molecular evidence supporting field effect in urothelial carcinogenesis. Clin. Cancer Res. 2005; 11 (18): 6512—9.
21. *Junker K., Boerner D., Schulze W., Utting M., Schubert J., Werner W.* Analysis of genetic alterations in normal bladder urothelium. Urology. 2003; 62 (6): 1134—8.
22. *Li M., Cannizzaro L.A.* Identical clonal origin of synchronous and metachronous low-grade, noninvasive papillary transitional cell carcinomas of the urinary tract. Hum. Pathol. 1999; 30 (10): 1197—200.
23. *McConkey D.J., Lee S., Choi W., Tran M., Majewski T., Lee S. et al.* Molecular genetics of bladder cancer: Emerging mechanisms of tumor initiation and progression. Urol. Oncol. 2010; 28 (4): 429—40.
24. *Merlo L.M., Maley C.C.* The role of genetic diversity in cancer. J. Clin. Invest. 2010; 120 (2): 401—3.
25. *Paiss T., Wohr G., Hautmann R.E., Mattfeldt T., Muller M., Haeussler J. et al.* Some tumors of the bladder are polyclonal in origin. J. Urol. 2002; 167 (2, pt 1): 718—23.
26. *Pasin E., Josephson D.Y., Mitra A.P., Cote R.J., Stein J.P.* Superficial bladder cancer: an update on etiology, molecular development, classification, and natural history. Rev. Urol. 2008; 10 (1): 31—43.
27. *Paterson R.F., Ulbright T.M., MacLennan G.T., Zhang S., Pan C.X., Sweeney C.J. et al.* Molecular genetic alterations in the laser-capture-microdissected stroma adjacent to bladder carcinoma. Cancer. 2003; 98 (9): 1830—6.
28. *Sidransky D., Frost P., Von E.A., Oyasu R., Preisinger A.C., Vogelstein B.* Clonal origin bladder cancer. N. Engl. J. Med. 1992; 326 (11): 737—40.
29. *Simon R., Eltze E., Schafer K.L., Burger H., Semjonow A., Hertle L. et al.* Cytogenetic analysis of multifocal bladder cancer supports a monoclonal origin and intraepithelial spread of tumor cells. Cancer Res. 2001; 61 (1): 355—62.
30. *Simoneau M., LaRue H., Aboulkassim T.O., Meyer F., Moore L., Fradet Y.* Chromosome 9 deletions and recurrence of superficial bladder cancer: identification of four regions of prognostic interest. Oncogene. 2000; 19 (54): 6317—23.
31. *Stoehr R., Hartmann A., Hiendlmeyer E., Murle K., Wieland W., Knuechel R.* Oligoclonality of early lesions of the urothelium as determined by microdissection-supported genetic analysis. Pathobiology. 2000; 68 (4—5): 165—72.
32. *Takahashi T., Habuchi T., Kakehi Y., Mitsumori K., Akao T., Terachi T. et al.* Clonal and chronological genetic analysis of multifocal cancers of the bladder and upper urinary tract. Cancer Res. 1998; 58 (24): 5835—41.
33. *Takahashi T., Kakehi Y., Mitsumori K., Akao T., Terachi T., Kato T. et al.* Distinct microsatellite alterations in upper urinary tract tumors and subsequent bladder tumors. J. Urol. 2001; 165 (2): 672—7.
34. *Vriesema J.L., Aben K.K., Witjes J.A., Kiemeney L.A., Schalken J.A.* Superficial and metachronous invasive bladder carcinomas are clonally related. Int. J. Cancer. 2001; 93 (5): 699—702.
35. *Yamamoto S., Tatematsu M., Yamamoto M., Fukami H., Fukushima S.* Clonal analysis of urothelial carcinomas in C3H/HeN<—>BALB/c chimeric mice treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine. Carcinogenesis. 1998; 19 (5): 855—60.

Поступила 02.04.2012