На правах рукописи

МАТВЕЕНКО
Ольга Альбертовна

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

03.02.07 – генетика

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Томск – 2013

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт онкологии» Сибирского отделения РАМН и в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт медицинской генетики» Сибирского отделения РАМН

Научные руководители:
доктор биологических наук, **Лебедев Игорь Николаевич**
доктор биологических наук, профессор,**Уразова Людмила Николаевна**

Официальные оппоненты:

Ильинских Николай Николаевич, доктор биологических наук, профессор
Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующий кафедрой биологии и генетики

Юнусова Наталья Валерьевна, доктор медицинских наук
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт онкологии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии опухолей

Ведущая организация:
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук

Защита состоится «11» апреля 2013 года в ____ час на заседании объединенного диссертационного совета ДМ 001.045.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт медицинской генетики» Сибирского отделения РАМН по адресу: 634050, г. Томск, ул. Набережная р. Ушайки, д. 10

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения Российской академии медицинских наук «Научно-исследовательский институт медицинской генетики» Сибирского отделения РАМН.

Автореферат разослан «____» _____ 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

кандидат биологических наук Хитринская И.Ю.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования. Рак желудка является одной из ведущих онкопатологий в структуре заболеваемости и смертности населения во всем мире, что определяет повышенный интерес к изучению данного заболевания (Писарева и др., 2009; Никитина, 2010). Канцерогенез желудка представляет собой многоступенчатый процесс, протекающий через множество предопухолевых состояний к манифестированному раку желудка (Байкова, Фазлыев, 2012; Correa, 1992; Alfaro, Lauwers, 2011; Micev, Cosić-Micev, 2011).

Как известно, процесс малигнизации клеток инициируется взаимодействием различных факторов, среди которых заметное место занимают генетические изменения. В общей структуре нарушений генетического аппарата малигнизированной клетки, таких как генные мутации и эпигенетические аномалии (Залетаев, 2008; Имянитов, 2008), выделяются числовые и структурные аберрации хромосом, наличие которых может обусловливать возникновение геномной нестабильности через амплификацию и делецию определенных участков генома, в которых локализованы онкогены или гены-супрессоры опухолей. На сегодняшний день нет однозначного мнения относительно роли хромосомных аберраций в процессе малигнизации. Однако, в результате 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; Bannon et al., 2009; Ganmore et al., 2009; Sánchez-Pérez et al., 2009; Rossi et al., 2011; Hudler, 2012). Кроме того, на текущий момент (январь 2013 г.) в базе данных «Progenetix» собрана информация о 994 цитогенетических исследованиях 29743 опухолей различных локализаций, среди которых 1143 случая рака желудка, показывающая существенную роль хромосомных аберраций в развитии рака (www.progenetix.org).

Одним из предопухолевых состояний желудка является хронический атрофический гастрит, который формируется на фоне постоянной воспалительной реакции (Букин, 2000; Павлова, 2005; Dai et al., 2011; Vannella et al., 2012). Факторами, вызывающими развитие воспаления, могут быть химические (асбест, диоксид кремния, алкоголь и др.) и инфекционные агенты (бактерия *H. pylori,* вирусы Эпштейна-Барр (ВЭБ), гепатита В и С, папилломы человека и др.).

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 (Аруин, 1998; Пальцев, Аничков, 2005; Волынец и др., 2006; Каракешишева и др., 2007; Мозговой, 2009; Наумова и др., 2009; Gregory et al., 2007). Было показано, что развитие 15-20 % опухолей

эпителиальных органов инициируется или осложняется воспалительным процессом (Kim et al., 2010).

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. Действительно, для таких предраковых заболеваний желудка как аденома или гиперпластические полипы, известны хромосомные аномалии, регистрируемые практически в каждом исследуемом случае (Weiss et al., 2003). Однако, несмотря на то, что хронический гастрит является фактором риска развития опухоли желудка, данная патология остается недостаточно исследованной с цитогенетических позиций.

Кроме того, известно, что один из факторов, инициирующих хроническое воспаление, вирус Эпштейна-Барр, является убиквитарным и персистирует в организме пожизненно. На сегодняшний день выявлено, что 10 % всех случаев рака желудка являются ВЭБ-позитивными (Давыдов и др., 1999; Fukayama, 2010). За год в мире регистрируется более 50000 новых случаев ВЭБ-позитивных опухолей желудка, однако остается открытым вопрос о этио-патогенетичекой роли этого вируса при развитии рака данной локализации (Sousa et al., 2008). Работы по исследованию структуры хромосомных нарушений в ВЭБ-позитивных опухолях желудка показали наличие специфических аберраций, характерных именно для данного типа патологии (Chan et al., 2001; zur Hausen et al., 2001; Chan et al., 2002). Однако в выполненных исследованиях были проанализированы аберрации в опухолевой ткани на поздних стадиях развития заболевания. Таким образом, возникает вопрос: насколько ранним событием является проникновение ВЭБ в клетки эпителиальной ткани желудка и способна ли данная вирусная инфекция вызывать специфические хромосомные аберрации?

В связи с высоким значением генетических нарушений в процессе канцерогенеза и тем, что хронический атрофический гастрит является распространенным патологическим состоянием слизистой оболочки желудка с относительно высоким риском трансформации, является актуальным исследование хромосомных аберраций в эпителиальных тканях желудка на фоне хронического атрофического гастрита.

Цель работы: Сравнительное цитогенетическое исследование эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка на фоне хронического гастрита и рака.

Задачи исследования:

1. Сравнить уровень и спектр несбалансированных хромосомных аберраций в клетках слизистой оболочки желудка больных хроническим атрофическим гастритом с диспластическими изменениями и без дисплазии.

2. Выявить и сопоставить структуру хромосомных нарушений в клетках опухоли и прилежащего к ней эпителия из очага хронического воспаления у больных раком желудка.
3. Провести сравнительный анализ хромосомных аберраций в динамике развития патологического процесса в клетках слизистой оболочки желудка.
4. Оценить частоту инфицирования вирусом Эпштейна-Барр эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите.
5. Оценить модифицирующее влияние вируса Эпштейна-Барр на уровень хромосомных аберраций в эпителиальных клетках слизистой оболочки желудка у больных хроническим гастритом.

Научная новизна исследования: В результате работы установлен спектр и уровень несбалансированных хромосомных аберраций в эпителиальных клетках слизистой оболочки желудка от стадии хронического гастрита до манифестированной опухоли. Впервые с помощью сравнительной геномной гибридизации получены данные о наличии хромосомных нарушений в эпителиальных клетках желудка при хроническом атрофическом гастрите. Показано, что хромосомные нарушения выявляются в клетках эпителия слизистой оболочки желудка уже на стадии слабого воспалительного процесса. Установлено, что в эпителии без морфологических изменений основным типом хромосомных нарушений является делеция 15q11.2-q26, тогда как в диспластическом эпителии – амплификация 3p12-p23. Максимальные отличия по уровню хромосомных аберраций отмечены между опухолевой тканью и эпителием слизистой оболочки на фоне хронического воспаления при отсутствии опухолевого очага, что может свидетельствовать о независимости мутационных процессов при воспалительной реакции в слизистой оболочке и раке желудка. Показано, что в эпителиальных клетках слизистой оболочки желудка 24 % больных хроническим гастритом экспрессируются онкомаркеры вируса Эпштейна-Барр, что свидетельствует об инфицированности клеток вирусом на самых ранних этапах патологического процесса.

Практическая значимость результатов: Полученные результаты расширяют представления о цитогенетических аспектах инициации и прогрессии рака желудка. Использование метода сравнительной геномной гибридизации (CGH, comparative genomic hybridization) позволяет выявить нарушения хромосомного материала в слизистой оболочке желудка уже на стадии слабого воспаления и хронического атрофического гастрита, свидетельствуя, таким образом, о вовлеченности хромосомных аберраций в развитие патологического процесса в эпителиальной ткани желудка при хроническом воспалении. Молекулярно-цитогенетический анализ тканей желудка при хроническом гастрите может служить дополнительным методом оценки нарушений генетического аппарата клетки.

Положения, выносимые на защиту:

1. Эпителиальные клетки слизистой оболочки желудка на фоне хронического гастрита характеризуются наличием множественных несбалансированных хромосомных аберраций.
2. Развитие диспластических предопухолевых изменений в клетках слизистой оболочки желудка сопровождается увеличением спектра хромосомных аберраций.
3. Максимальные отличия по частоте хромосомных нарушений в ряду от нормального эпителия без воспаления, эпителия с дисплазией и опухолью отмечены между эпителием слизистой оболочки желудка на фоне хронического воспаления при отсутствии опухолевого очага и опухолевой тканью.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы были представлены на: региональных конференциях молодых ученых им. Академика Н.В. Васильева ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН «Актуальные вопросы в экспериментальной и клинической онкологии» (Томск, 2008-2011), всероссийской конференции с международным участием «Молекулярная онкология» (Новосибирск, 2008), российской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 30-летию ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН «Современная онкология: достижения и перспективы развития» (Томск, 2009), на 10 юбилейной научной конференции молодых онкологов при участии международных специалистов «Современные вопросы экспериментальной и клинической онкологии» (Киев, 2010), на конференции Европейского общества генетики человека (Гётеборг, 2010), на межлабораторных семинарах ФГБУ «НИИ онкологии» РАМН СО и ФГБУ «НИИ медицинской генетики» СО РАМН (Томск, 2012).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 18 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах перечня ВАК РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов, результатов собственных исследований с обсуждением по разделам, заключения, выводов, списка цитируемой литературы и приложений. Диссертация изложена на 132 страницах, содержит 15 таблиц (вместе с приложениями) и 20 рисунков. Список литературы включает 176 источников, из них 31 отечественных и 145 зарубежных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С целью молекулярно-цитогенетического исследования хромосомного материала в клетках слизистой оболочки желудка на фоне хронического атрофического гастрита в исследование было включено 29 пациентов с гастроэнтерологическими жалобами из поликлинической сети г. Томска с клиническим диагнозом «хронический гастрит». 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 сотрудникам отделения эндоскопии ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН в 2007-2009 гг. Для сравнительного анализа хромосомных аберраций в опухолевых и эпителиальных клетках при хроническом воспалении была сформирована группа из 10 больных раком желудка на разных стадиях неопластического процесса ($T_{2-4}M_{1-2}N_0$). 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.

Показаниями для проведения гастроскопии являлись жалобы пациентов на боли в области желудка, дискомфорт после приема пищи, тяжесть в животе, отрыжка, рефлюкс-эзофагит. Во время проведения гастроскопии с помощью аппарата видеогастроскоп «GIF-Q160Z» оценивалось состояние слизистой оболочки желудка. Из визуально измененных областей слизистой (атрофия эпителиальной ткани, гиперплазия отдельных участков) с помощью биопсийных щипцов производился забор ткани для гистологического исследования. Для 24 пациентов хронический атрофический гастрит был подтвержден гистологически. Биопсийные образцы от 5 пациентов представляли собой нормальный эпителий, однако в образцах тканей 3 человек из данной группы было выявлено слабо выраженное воспаление слизистой, в биоптате 2 других пациентов детектирована морфологически нормальная ткань без воспаления. В группе больных с хроническим гастритом дисплазия и метаплазия различной степени выраженности была выявлена у 12 пациентов, в то время как ткани других 12 обследованных характеризовались выраженным хроническим воспалением без видимых морфологических изменений эпителия.

Образцы опухолевой ткани 10 пациентов представляли собой операционный и биопсийный материал. Образцы эпителиальной ткани из очагов хронического воспаления были взяты во время проведения операции по поводу рака желудка или гастроэнтерологического исследования по краю резекции на максимальном удалении от опухолевого очага. Интестинальный тип рака желудка был подтвержден гистологически для всех 10 пациентов. В образцах эпителиальной ткани из визуально измененных регионов слизистой желудка было обнаружено выраженное хроническое воспаление без особых морфологических изменений эпителия.

Для исследования вовлеченности вируса Эпштейна-Барр в начальные стадии патологического процесса в слизистой оболочке желудка был использован архивный материал (срезы парафиновых блоков) 21 пациента из группы больных хроническим атрофическим гастритом.

Анализ хромосомных аберраций в эпителиальных тканях слизистой желудка исследуемых групп пациентов проводился с помощью метода сравнительной геномной гибридизации (comparative genomic hybridization, CGH). Метод основан на гибридизации эквимолярных количеств тестируемой и контрольной ДНК с ДНК метафазных хромосом, полученных от здорового индивида (Kallioniemi et al., 1992).

Детекцию гибридизационных сигналов проводили с использованием люминесцентного микроскопа «Axioskop 50» («Carl Zeiss», Германия) с CCD камерой с набором специфичных светофильтров. Для повышения разрешающей возможности метода использовали опцию CGH высокого разрешения (High Resolution CGH, HR-CGH). Принцип HR-CGH заключается в использовании доверительного интервала, предварительного построенного на основе сравнительной гибридизации нескольких контрольных образцов ДНК на метафазных пластинках, полученных от здорового индивида. При обработке результатов применялся 95 % - доверительный интервал ($p \leq 0,05$), включающий 95 % гомологичных хромосом, использовавшихся для его построения.

С целью исследования вовлеченности вируса Эпштейна-Барр в развитие патологического процесса в слизистой оболочке желудка на ранних стадиях была применена хромогенная *in situ* гибридизация малых ядерных РНК (EBERs) и латентного мембранного протеина (LMP2A) вируса Эпштейна-Барр. В качестве объекта исследования использованы срезы парафиновых блоков с заключенной в них фиксированной в 10 % формалине слизистой оболочкой желудка больных с хроническим атрофическим гастритом.

Для выявления межгрупповых различий по числу хромосомных нарушений в группах больных с диспластическими изменениями и без дисплазии, а также для сравнения по данному показателю больных с хроническим атрофическим гастритом и с раком желудка был применен критерий Манна-Уитни и точный двусторонний критерий Фишера. Сравнение числа хромосомных нарушений в образцах опухолевой ткани и прилежащего эпителия на фоне хронического гастрита было проведено с применением критерия Уилкоксона. Для статистического анализа использовались компьютерные программы «Microsoft Office Excel 2007» и «Statistica 8». Во всех проведенных сравнениях был выбран уровень значимости, не превышающий 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Хромосомные нарушения в морфологически нормальном эпителии пациентов на фоне слабого хронического воспаления. Начальным этапом в исследовании хромосомных аберраций в слизистой оболочке желудка стало изучение группы пациентов из 5 человек с морфологически нормальной эпителиальной тканью. Ткани двух пациентов были определены как эпителий без особенностей, в то время как у трех пациентов в

гистологически неизмененной ткани было выявлено слабо выраженное воспаление.

По данным CGH-анализа было показано, что в тканях пациентов без воспалительной реакции хромосомные нарушения отсутствовали. У тех пациентов, в тканях которых по данным морфологии был определен воспалительный процесс, даже слабой степени выраженности, детектировались нарушения хромосомного материала. В клетках эпителия таких больных было детектировано только увеличение числа копий ДНК. В одном случае были выявлены амплификации 3q26.1 и 5q21, во втором – 1p35-p36.1, 19p13.1-p13.3 и 19q13.1-q13.3, в третьем – 6q22-q24.

Существуют данные, указывающие на преимущественное развитие опухолей различной этиологии именно в зонах хронического воспаления. Хроническое воспаление индуцирует образование в ткани-мишени микроокружения, подобного опухолевому, которое в дальнейшем способствует развитию патологических процессов, связанных с иммуносупрессией, повреждением ДНК, неконтролируемой пролиферацией, что приводит к возникновению хромосомной нестабильности в эпителиоцитах, которая, в свою очередь, двигает процесс к манифестации рака (Blaser, 2000; Anderson, Bozinovski, 2003; Itzkowitz, Yio, 2004; Kulaylat, Dayton, 2010).

Хромосомные нарушения в клетках слизистой оболочки желудка без диспластических изменений эпителия при хроническом гастрите. В данную группу вошли 12 пациентов с хроническим атрофическим гастритом без дисплазии. Аберрации 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 единичных случаях были детектированы амплификации в 5p13-p14, 3p24, 3q21-q23, 7q32-q35 и 10q23-q24 хромосомных сегментах.

Детекция хромосомных аберраций уже на стадии хронического воспаления без дисплазии, т.е. без каких-либо морфологических изменений клеток, показывает индукцию хромосомных аберраций на самых ранних этапах патологического процесса в эпителии желудка. Наличие хромосомных аномалий в тканях при таких предопухолевых заболеваниях как болезнь Крона или язвенный колит подтверждается некоторыми ранее опубликованными исследованиями (Porschen et al., 1999; Kulaylat, Dayton, 2010). Полученные данные о наличии делеции 15q11.2-q26 находят подтверждение в работах, направленных на изучение предраковых заболеваний других органов. В частности, делеции в 15q11.1–q21.1 были обнаружены в клетках паратиреоидной аденомы (Sulaiman et al., 2012). Следует отметить, что потеря хромосомного материала в 15q является частой аномалией при различных типах опухолей, в том числе и гастроинтестинального тракта. Так, уменьшение числа копий ДНК в 15q

зарегистрировано при раке пищевода и стромальных опухолях кишечника (Micci et al., 2010; Silva et al., 2010). Однако результаты исследований неоплазий желудка, напротив, показывают амплификацию 15q. В частности, была детектирована амплификация субсегмента 15q21.2, в котором находится ген *FGF-7*, кодирующий белок семейства факторов роста фибробластов. Протеины данного семейства обладают митогенной активностью, а также играют важную роль в различных биологических процессах, таких как клеточный рост, морфогенез, репарация тканей, опухолевый рост и инвазия (Noguchi et al., 2001). В другом исследовании клеток аденокарциномы также с высокой частотой была детектирована амплификация 15q26 хромосомного сегмента (Kushima et al., 2006).

В нескольких исследованиях морфологически неизмененного эпителия прямой кишки были обнаружены другие нарушения, а именно потери числа копий ДНК в 18q21 и 5q21-q22 сегментах (Willenbucher et al., 1999). Возможно, клетки, обладающие делецией 15q11.2-q26, элиминируются и не участвуют в дальнейшем развитии патологического процесса в слизистой оболочке желудка.

Структура хромосомных нарушений в тканях больных хроническим гастритом с диспластическими изменениями эпителия. Во вторую группу вошли 12 пациентов с метаплазией и дисплазией эпителия. Выраженность диспластического процесса в эпителиальной ткани второй исследуемой подгруппы с хроническим гастритом варьировала от 1 до 3 степени. В одном случае на фоне дисплазии 2 степени также была выявлена неполная кишечная метаплазия эпителия.

В рассматриваемой группе больных с хроническим гастритом был детектирован высокий уровень хромосомных нарушений. У 9 из 12 (75 %) больных в клетках эпителия были обнаружены амплификации и делеции хромосомного материала. По сравнению с подгруппой больных без дисплазии выявлен более широкий спектр аберраций, и, кроме того, возросло число амплификаций хромосомного материала. Так, в данной группе общее число хромосомных аберраций составило 56, из которых делеций было детектировано только 4, тогда как амплификаций 52. Наиболее частой аберрацией была амплификация хромосомного сегмента 3p12-p23, которая встречалась в 5 из 9 случаев, что составило 55,5 %. Следующей по частоте встречаемости была амплификация 2p11.2-p23 (44,4 %) с минимальными перекрывающимися регионами 2p11.2 и 2p16. В трех случаях выявлены амплификации хромосомных субсегментов 2q14.1-q32, 3q13.1-q27 и 4q24-q32 (33,3 %). В двух случаях обнаружено увеличение числа копий ДНК в 1p21-p32 и 1q31-q32 (22,2%) с общим сегментом 1q32. Делеции в данной группе больных были определены как редкое событие и детектировались по двум хромосомным сегментам: 13q21 (22,2%) и 15q12-q15. В одном случае была выявлена моносомия по хромосоме 19.

Аберрации в 3p12-p23 обнаружены в клетках опухолей различных локализаций, в том числе и желудка, однако, в отличие от полученных в

настоящей работе данных о наличии амплификации при дисплазии, основным типом нарушений в опухолевой ткани являются делеции указанного хромосомного сегмента. Так, делеции 3p14.2-p26 обнаружены в клетках назофарингеальной карциномы, а делеции 3p12 и 3p21.1 характерны для неоплазий головы и шеи (Chakraborty et al., 2003; Sheu et al., 2009; Chen et al., 2012). В данных хромосомных сегментах находятся гены-супрессоры опухолевого роста, в частности *RASSF1A* (3p21.3) и *FHIT* (3p14.2), снижение экспрессии которых обнаружено при многих типах опухолей, в том числе и при раке желудка (Zheng et al., 2007; Stec-Michalska et al., 2009; Zheng-Hao et al., 2012).

Следует отметить, что, несмотря на заметное увеличение числа хромосомных нарушений в клетках эпителия с дисплазией по сравнению с морфологически нормальным эпителием на фоне выраженного воспаления, анализ данных групп с помощью теста Манна-Уитни по общему числу хромосомных аберраций, а также по числу делеций и амплификаций не выявил статистически значимых отличий ($p = 0,22$). Возможно, это связано с тем, что основные различия внесли четыре пациента, число аберраций у которых было значительно выше, по сравнению со всей группой. Однако были обнаружены статистически значимые отличия по соотношению амплификаций и делеций в клетках тканей исследуемых групп. Так, в группе пациентов с дисплазией соотношение амплификаций и делеций увеличивалось в сторону амплификаций ($p = 0,007$) (табл. 1).

Таблица 1

Соотношение амплификаций и делеций между группами пациентов с дисплазией и с морфологически нормальным эпителием на фоне хронического воспаления

Подгруппа	Число аберраций		p
	Амплификации	Делеции	
Без дисплазии на фоне хронического воспаления (n = 12)	5	6	**0,007**
С дисплазией (n = 12)	52	4	

Относительно наиболее частых аберраций, статистически значимые отличия были получены только по делеции 15q12-q26, которая была характерна для эпителия без гистологических изменений ($p = 0,049$). Несмотря на то, что амплификация 3p12-p23 была наиболее частым типом аберраций в подгруппе больных с дисплазией (55,5 %), а в подгруппе без диспластических изменений встречалась в единичных случаях (10 %), статистически значимых отличий выявлено не было ($p = 0,13$), (табл. 2).

Таблица 2

Количественные показатели частых хромосомных аберраций в группах больных с хромосомными нарушениями при диспластических изменениях эпителия и без морфологических нарушений ткани

Сегменты хромосом	Подгруппы		p
	без дисплазии (n = 9)	с дисплазией (n = 9)	
amp 3p12-p23	1	5	0,13
dim 15q11.2-q26	6	1	**0,049**

Возможно также, что развитие хронического атрофического гастрита не всегда сопровождается нарушениями хромосомного материала на стадии воспалительной инфильтрации и гиперплазии, как показано для 6 человек из двух исследованных групп с дисплазиями и без морфологических нарушений эпителия желудка. Однако наличие высокого уровня несбалансированных хромосомных аберраций заслуживает пристального внимания в качестве фактора, сопутствующего развитию диспластических изменений.

Анализ уровня и спектра хромосомных аберраций в опухолевой и прилежащей эпителиальной ткани из очага хронического воспаления. Цитогенетический анализ опухолевой ткани желудка показал наличие хромосомных нарушений во всех исследуемых образцах. Нарушения были выявлены у 10 из 10 человек, в то время как в прилежащих клетках эпителиальной ткани из очага воспаления аберрации были детектированы у 7 человек (70 %). Общее число аберраций в опухолевых клетках составило 42 (23 делеции и 19 амплификаций), тогда как в клетках прилежащего эпителия оно равнялось 30 (23 делеции и 7 амплификаций) (p = 0,13). Наиболее частыми хромосомными нарушениями в опухолевой ткани были делеция в 5q12-q23 (30 %) и делеция длинного плеча хромосомы 18 (30 %). Также в 20 % случаев были выявлены амплификации 20p11.2-p13 и в одном случае обнаружена трисомия по хромосоме 20. Кроме того, детектированы амплификации в 7q21-q35 и 8q21.2-q24 в 20 % случаев. Далее по частоте встречаемости следовали делеции в 20p11.2-p12, 19p13.1-p13.2 и 19q13.1-q13.3 (10 %).

В прилежащей к опухолевому очагу эпителиальной ткани на фоне хронического воспаления наиболее частыми нарушениями были делеции в хромосомных субсегментах 19p13.2, 19q13.1-q13.3 и 18q12-q21 (30 %). Следует также отметить, что второй по частоте встречаемости аберрацией была делеция 15q15-q22 сегмента (20 %) (табл. 3).

Таблица 3

Наиболее общие хромосомные аберрации в опухолевой и прилежащей ткани в группе больных раком желудка

Тип ткани	Общие регионы с хромосомными аномалиями
опухолевая	amp: 20p11.2-p13, 7q31-q35, 8q21.2-q21.3 dim: 5q12-q23, 18q
прилежащий эпителий	amp: нет общих нарушений dim: 19p13.2, 19q13.1-q13.3, 18q12-q21, 15q15-q22

Сравнивая число делеций и амплификаций в опухоли и ткани из области хронического воспаления, в опухолевой ткани было выявлено увеличение числа амплификаций в 2,7 раза ($p = 0,031$), тогда как число делеций осталось неизменным ($p = 0,91$). Проведение сравнений общего числа аберраций в образцах гастрита и опухоли от одних и тех же пациентов с помощью теста Уилкоксона показало отсутствие статистически значимых различий ($p = 0,13$). Значимые отличия были выявлены только между числом амплификаций в образцах прилежащего эпителия и общим числом аберраций в образцах опухоли ($p = 0,01$). Следует отметить, что полученные в ходе нашей работы данные по типам наиболее частых аберраций в опухолевой ткани согласуются с данными литературных источников. Так, нами были выявлены амплификации в хромосомных сегментах 8q21.2-q24, 7q21-q35, а также 20p и делеции в 5q12-q23, 18q12-q21. По данным предыдущих работ, эти типы аберраций часто регистрируются в опухолевой ткани желудка (Kim et al., 2001; Moskovitz et al., 2003; Cesar et al., 2006). В образцах опухолевой ткани ($n = 10$) и прилежащего эпителия ($n=10$) были обнаружены общие хромосомные аберрации. Так, делеции 18q12-q21 детектированы в трех случаях в обоих типах тканей от одних и тех же пациентов. Также стоит отметить делеции в хромосомных субсегментах 19p13.2 и 19q13.1-q13.3, которые были частыми в эпителии из области хронического воспаления, а также встречались в опухолевой ткани. На момент написания настоящей работы, согласно базе данных «Progenetix», в различных лабораториях мира с помощью CGH был проанализировано 1143 образца опухолевых тканей желудка. Делеции хромосомных субсегментов 19p13.2, 19q13.1-q13.3 и 18q плеча являются характерными для неопластических тканей желудка (Progenetix.net). По данным литературы, вышеуказанные хромосомные аберрации, обнаруженные в ходе настоящей работы в опухолевой ткани, являются функционально значимыми и коррелируют с различными клинико-морфологическими характеристиками рака желудка, такими как агрессивный рост, метастазирование, а также интестинальный тип опухоли.

Сравнительный анализ уровня и спектра хромосомных аберраций по ходу развития патологического процесса в слизистой оболочке желудка. Несмотря на то, что по данным CGH-анализа в диспластическом эпителии желудка было выявлено увеличение числа хромосомных нарушений по сравнению с группой без дисплазий, значимо эти две группы по общему уровню аберраций не отличались. Вклад в различие подгрупп внесли амплификации, число которых с 5 в нормальном эпителии на фоне гастрита возросло до 52 при дисплазии, изменяя соотношение амплификаций и делеций в сторону увеличения амплификаций в диспластическом эпителии ($p = 0,007$), тогда как уровень делеций в этих двух группах был примерно одинаков. Увеличение числа амплификаций наблюдалось не у всех больных. Так, из всей группы высокий уровень и широкий спектр аберраций был детектирован у 4 человек, тогда как в клетках тканей остальных пациентов число хромосомных аберраций примерно оставалось на уровне группы без морфологических нарушений. Однако если основным типом хромосомного нарушения в первой группе была делеция 15q11.2-q26 (66,6 %), то во второй наиболее частой аномалией была амплификация 3p12-p23 (55,5 %). На рисунках 1 и 2 приведены графики, показывающие изменение уровня амплификаций и делеций по ходу развития болезни.

С помощью критерия Манна-Уитни статистически значимые отличия по числу амплификаций и делеций были выявлены при сравнении групп пациентов с опухолевой патологией и пациентов с хроническим гастритом без диспластических изменений слизистой ($p = 0,01$; $p = 0,009$), соответственно. Не было зарегистрировано значимых отличий по общему числу хромосомных аберраций между группами с диспластическими изменениями и без дисплазии ($p = 0,22$), а также между опухолевой тканью и прилежащим к неоплазии эпителием ($p = 0,13$). Однако были выявлены отличия по числу амплификаций между двумя типами тканей: опухолевая ткань и прилежащий к неоплазии эпителий ($p = 0,031$). Таким образом, клетки опухоли характеризовались большим числом амплификаций, чем клетки эпителия, прилежащего к опухолевому очагу.

В группе с опухолевой патологией по сравнению с больными хроническим гастритом при наличии дисплазии было зафиксировано большее число делеций ($p = 0,014$). По числу амплификаций статистически значимых отличий между данными группами не было обнаружено ($p = 0,50$).

В целом, по результатам сравнения было выявлено, что только ткани крайних точек развития процесса (гастрит без дисплазии и опухоль) значимо отличаются по числу амплификаций, делеций, а также по общему числу хромосомных нарушений, детектированных с помощью CGH-анализа, тогда как патологические состояния и изменения эпителия, более близкие друг к другу с позиции гастроканцерогенеза, отличаются лишь по отдельным типам аберраций.

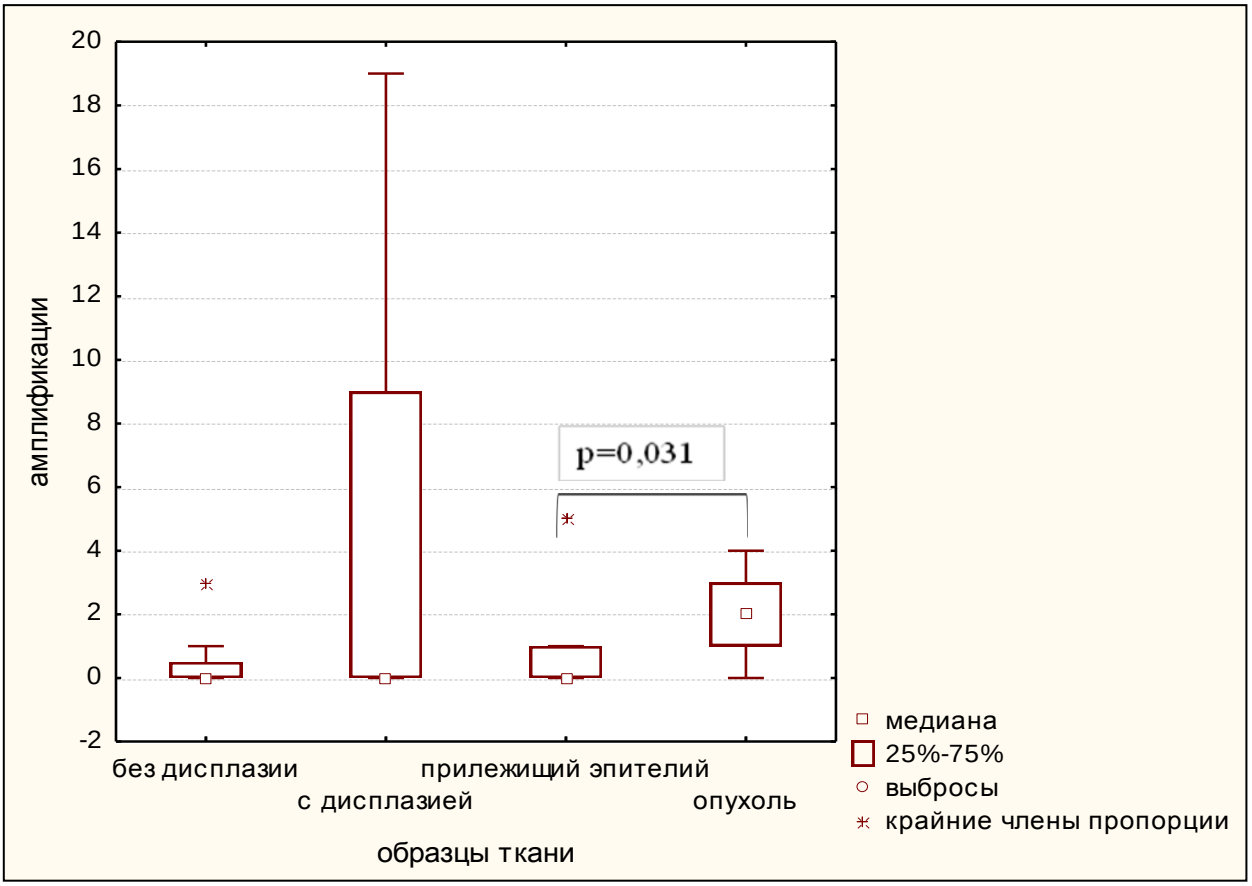

Рис. 1. Динамика числа амплификаций по ходу развития патологического процесса в эпителии желудка.

Относительно типов хромосомных нарушений, можно заключить следующее: на каждом этапе развития патологического процесса в слизистой оболочке желудка превалировал один определенный тип аберраций, 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, отмеченные как характерные для начальных стадий патологических процессов, не являлись таковыми для опухолевой ткани, для которой основными были делеции 5q12-q23, 18q и амплификации 20p11.2-p13, 7q31-q35 и 8q21.2-q21.3. Поскольку в настоящем исследовании не представлялось возможным проанализировать материал, полученный от одного и того же пациента по ходу развития болезни, невозможно сделать однозначное заключение о характере развития хромосомной нестабильности при переходе от одной стадии развития заболевания к следующей. Однако представляется возможным предположить, что клеточные клоны, несущие делеции 15q11.2-q26 и амплификации 3p12-p23 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 аберрации, способствующие преодолению клетками эндогенной регуляции и выживанию в жестких условиях иммунного контроля организма.

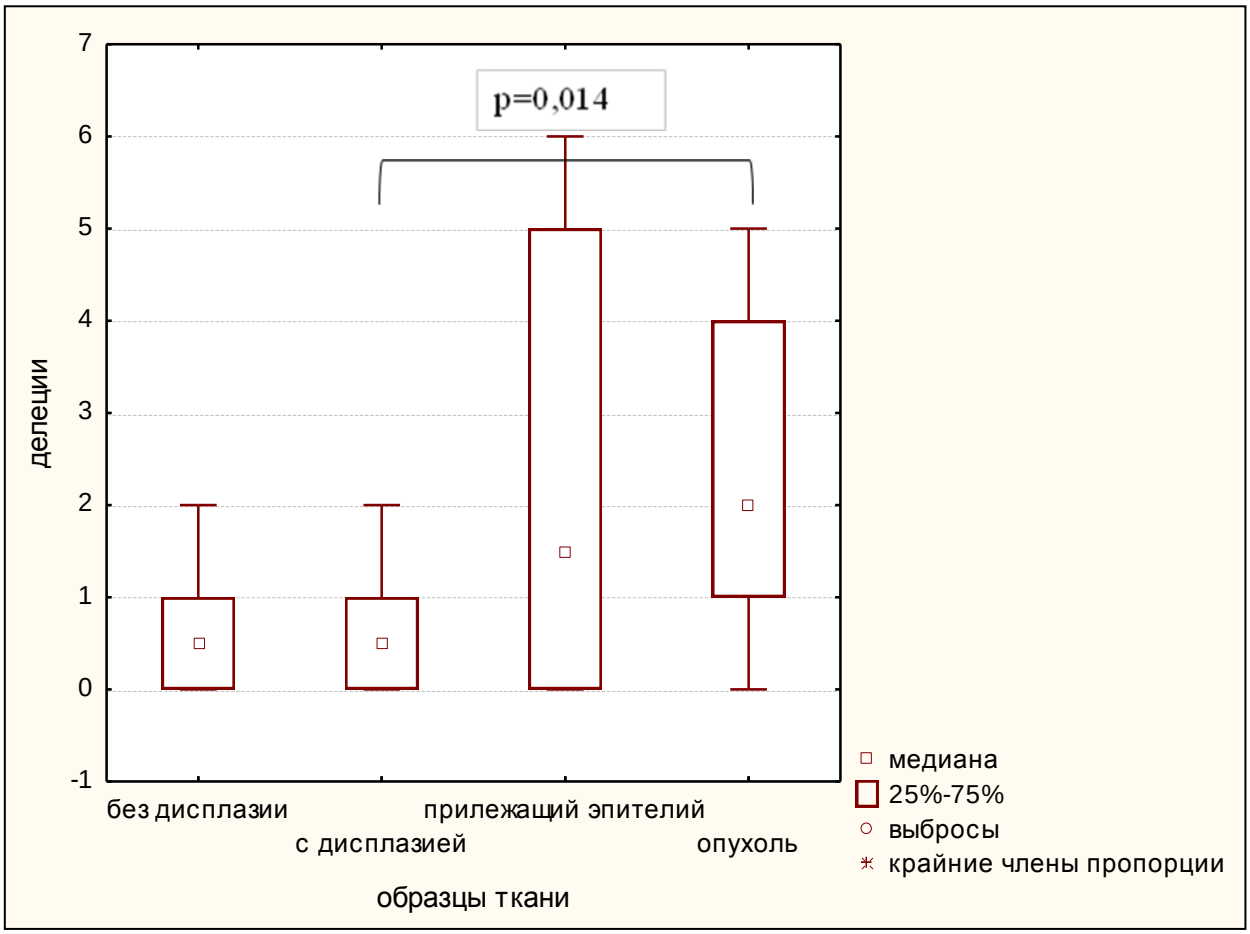

Рис. 2. Динамика числа делеций по ходу развития патологического процесса в эпителии желудка.

Также можно сделать вывод о том, что на начальном этапе развития патологического процесса ведущими аберрациями хромосом являются амплификации, которые обеспечивают увеличение хромосомного материала и повышение жизнеспособности клеточных клонов. Далее в ходе клональной эволюции выделяются популяции клеток с мутациями, способными поддерживать существование клона, на фоне которых появляются делеции хромосомного материала в регионах, содержащих опухолесупрессорные гены. Таким образом, опухолевые клетки приобретают относительную стабильность для дальнейшего существования и развития.

Выявление ранних РНК (EBERs) и белка латентной инфекции 2А (LMP2A) вируса Эпштейна-Барр (ВЭБ) в эпителиальных клетках на фоне хронического гастрита. Анализ тканей на наличие компонент вируса Эпштейна-Барр (EBERs и LMP2A) был проведен для 21 из 29 пациентов с хроническим гастритом. Материалом для иммуногистохимического исследования послужили срезы парафиновых блоков. При этом вирусные компоненты были зарегистрированы в 5 образцах эпителиальной ткани, что составило 24 %. В доступной литературе данных о частоте детекции ВЭБ-позитивного эпителия на фоне хронического гастрита не было обнаружено. Однако частота встречаемости ВЭБ-позитивного гастрита, выявленная в

настоящей работе, превышает аналогичный показатель для вирус-позитивного рака желудка (10-15 %) (Fukayama, 2010).

Данные иммуногистохимического анализа образцов эпителия ВЭБ-позитивных пациентов были сопоставлены с их морфогистологическими и цитогенетическими характеристиками (табл. 4).

Таблица 4

Сопоставление гистологических и цитогенетических характеристик пациентов, в эпителии которых выявлены вирусные компоненты

№	EBERs	LMP2A	Гистология	Типы хромосомных аберраций
1	+	–	Без дисплазии с выраженным воспалением	dim(15)(q14q21)
2	+	–	Д1-2 с выраженным воспалением	dim(13)(q14)
3	+	+	Без дисплазии с выраженным воспалением	dim(15)(q13q14)
4	–	+	Д1 с выраженным воспалением	amp(1)(p21p31),amp(1)(q31q32), amp(2)(p11.2p16)amp(2)(q31q33), amp(3)(p14), amp(3)(q13.3q24q25q26.2), amp(4)(q21q25),amp(6)(q21), amp(7)(q21q31),amp(10)(q21q24), amp(11)(p15),amp(11)(q22), amp(12)(p12),amp(12)(q15), amp(12)(q21q22)
5	–	+	Без дисплазии со слабым воспалением	amp(1)(p35p36.1), amp(19)(p13.1p13.3), amp(19)(q13.1q13.3)

Примечание:
«+» – наличие в ткани вирусных компонент
«–» – отсутствие в ткани вирусных компонент
«Д» **–** дисплазия

Таким образом, было показано, что в клетках эпителиальной ткани 2 образцов с выраженным хроническим воспалением без дисплазии выявляется сходный тип хромосомных аберраций: делеция некоторых сегментов длинного плеча хромосомы 15 с минимальным перекрывающимся сегментом 15q14. Данная аберрация не встречалась в двух исследованных образцах эпителия с дисплазией, а также в одном образце эпителия на фоне слабого

воспаления, в клетках которого обнаружены другие хромосомные нарушения. Наиболее часто встречающихся аберраций у этих трех пациентов выявлено не было. Поскольку исследования, посвященные анализу хромосомных нарушений в эпителии желудка при ВЭБ-позитивном хроническом атрофическом гастрите, отсутствуют в доступной литературе, полученные в настоящей работе данные представляется возможным сопоставить только с цитогенетическими исследованиями ВЭБ-позитивного рака желудка. Так, обнаруженные делеции 15q плеча (15q13-q14 и 15q14-q21) ранее также были выявлены в клетках вирус-позитивных опухолей желудка. В работе по исследованию 6 образцов рака данного типа делеция 15q14-q15 была выявлена в 83 % случаев ($p = 0,001$) (Chan et al., 2002). В настоящей работе нами впервые показано, что проникновение вируса в клетки эпителия является ранним событием при развитии воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка. Данный факт подтверждается ранее проведенными исследованиями по детекции генома ВЭБ и белков латентной инфекции в тканях предраковых заболеваний желудка (хронические гастриты, язвы, полипы желудка, оставшаяся часть желудка после резекции) (Gulley et al., 1996; Yanai et al., 1997, 1999). Не получено и прямых подтверждений модифицирующего влияния вируса на возникновение хромосомных аберраций в эпителии желудка. Однако существуют работы, демонстрирующие вовлеченность ВЭБ и белков латентной инфекции в развитие патологии желудка через другие механизмы, в частности, через метилирование участков генома клетки-хозяина при инсерции ВЭБ, а также через активацию белком LMP2A NF-kB сигнального пути, что предотвращает апоптотическую гибель инфицированных клеток (Uozaki et al., 2008).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящая работа была направлена на сравнительную характеристику клеток слизистой оболочки при хроническом атрофическом гастрите и опухолевых клеток желудка с цитогенетических позиций. Выбор направления исследования был продиктован несколькими причинами. Во-первых, хронический атрофический гастрит как предраковое состояние желудка с высокой частотой выявляется при клинических исследованиях и является фактором риска развития опухолей желудка, в частности интестинального типа (Busuttil et al., 2009). Вероятность злокачественной трансформации клеток при хроническом гастрите составляет от 1,3 до 50 %. (Сельчук, Никулин, 2003; Чойнзонов и др., 2004). Во-вторых, рак желудка представляет собой многофакторное заболевание, развитие которого определяется различными факторами экзогенной и эндогенной природы, среди которых заметное место занимают нарушения хромосомного материала. И наконец, в-третьих, эпителиальная ткань на фоне хронического воспалительного ответа часто характеризуются развитием метапластических

и диспластических изменений, которые являются непосредственным фактором риска инициации развития опухолевого очага.

В ходе проведенного исследования с помощью сравнительной геномной гибридизации впервые были получены данные об уровне и спектре хромосомных нарушений в клетках слизистой оболочки желудка при развитии патологического процесса, начиная с анализа клеток нормального эпителия без воспаления и заканчивая исследованием опухолевых клеток желудка. В группе с морфологически нормальной тканью без признаков воспаления аберраций хромосом выявлено не было, тогда, как в образцах слизистой со слабовыраженным воспалительным процессом были детектированы единичные амплификации хромосомного материала.

Далее, в подгруппе пациентов с хроническим гастритом без диспластических изменений эпителия был выявлен высокий уровень хромосомных нарушений: у 9 из 12 больных обнаружены изменения числа копий ДНК (75 %). Однако данная группа характеризовалась узким спектром нарушений, основным типом которых была делеция 15q11.2-q26, с минимальным перекрывающимся сегментом 15q12-q15 (66,6 %). Изучая последовательные этапы развития патологического процесса, в группе больных с хроническим атрофическим гастритом при наличии метапластических и диспластических изменений эпителия был также выявлен высокий уровень несбалансированных хромосомных аберраций. У 9 из 12 больных детектированы нарушения хромосомного материала (75 %). Основным типом нарушений для данной группы была амплификация 3p12-p23 (55,5 %). Спектр аберраций по сравнению с группой без дисплазии был значительно шире, за счет выявленных амплификаций.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что хромосомные аберрации являются ранним событием при развитии патологических процессов в клетках слизистой оболочки желудка. Кроме того, в подгруппе больных с дисплазией наблюдалось превалирование амплификаций над делециями, в то время как в группе без дисплазии отмечалась противоположная картина. Данный факт можно объяснить, предположив, что увеличение хромосомного материала положительно влияет на выживаемость мутантных клеток за счет компенсации летальных мутаций и повышения жизнеспособности клеточных клонов.

Цитогенетический анализ опухолевой ткани желудка показал наличие хромосомных аберраций во всех исследуемых образцах, в то время как в прилежащих к опухоли клетках эпителиальной ткани из очага воспаления аберрации были детектированы у 7 пациентов (70 %). Следует отметить, что полученные в ходе выполнения работы сведения по наиболее частым типам аберраций в опухолевой ткани хорошо согласуются с данными литературных источников. Выявленные типы несбалансированных структурных хромосомных аберраций регистрируются практически в каждом исследуемом случае рака желудка (Koo et al., 2000; Kong et al., 2001; Kimura et al., 2004; Weiss et al., 2004; Zhu et al., 2007; Bi et al., 2008).

Сравнительный анализ всех обследованных групп выявил следующие особенности. Статистически значимые отличия по числу амплификаций и делеций были обнаружены при сравнении соответствующих показателей в группах пациентов с опухолевой патологией и хроническим гастритом без диспластических изменений слизистой ($p = 0,01$; $p = 0,009$, соответственно). В группе больных раком желудка по сравнению с пациентами с хроническим гастритом при наличии дисплазии было зафиксировано большее число делеций ($p = 0,014$). Также были выявлены отличия по уровню амплификаций между двумя типами тканей: опухолевой и прилежащим эпителием из очага хронического гастрита ($p = 0,031$). Таким образом, клетки опухоли характеризовались большим числом амплификаций, чем клетки эпителия на фоне гастрита. По результатам сравнения было выявлено, что только ткани крайних точек развития процесса (гастрит без дисплазии и опухоль) статистически значимо отличаются по частотам амплификаций и делеций, детектированных с помощью CGH-анализа, тогда как патологические состояния и изменения эпителия, более близкие друг к другу с позиции гастроканцерогенеза, отличаются лишь по отдельным типам аберраций.

На основании проведенного исследования можно сделать вывод о том, что на начальном этапе развития патологического процесса ведущими аберрациями хромосом являются амплификации, которые обеспечивают увеличение хромосомного материала и повышение жизнеспособности клеточных клонов. Далее, в ходе эволюции опухоли выделяются популяции с мутациями, способными поддерживать существование клона, на фоне которых возникают делеции хромосомного материала в регионах, содержащих опухолесупрессорные гены. Опухолевые клетки приобретают относительную стабильность для дальнейшего существования и развития.

Анализируя разнообразие хромосомных аномалий, следует иметь в виду, что полученные цитогенетические профили представляют собой картину нарушений хромосомного материала на определенном временном этапе развития патологического процесса. Кроме того, необходимо отметить, что результатом CGH-анализа являются данные не о кариотипе какой-то определенной группы клеток, а о комплексных нарушениях в нескольких клеточных клонах, каждый из которых имеет свой набор аберраций вследствие определенных мутационных событий.

Относительно вовлеченности вируса Эпштейна-Барр в развитие патологического процесса на начальных этапах были получены новые данные. Так, присутствие вирусных компонент было обнаружено в 5 из 21 образцов ткани от больных с хроническим гастритом, что составило 24 % от всех исследованных случаев. В 2 из 5 образцов были выявлены делеции сегментов по длинному плечу 15 хромосомы (15q13-q14 и 15q14-q21), при отсутствии каких-либо других аберраций. В остальных 3 образцах не обнаружено частых нарушений хромосом. Таким образом, полученные в ходе выполнения работы данные указывают на отсутствие заметного влияния

вирусных компонент на спектр и уровень хромосомных аберраций в эпителиальных клетках слизистой оболочки желудка.

ВЫВОДЫ

1. Впервые установлено, что клетки слизистой оболочки желудка при хроническом гастрите характеризуются наличием несбалансированных хромосомных аберраций.
2. Делеция 15q11.2-q26 является частой для эпителиальных клеток слизистой оболочки желудка (66,6 %) больных хроническим гастритом без морфологических изменений слизистой желудка, тогда как амплификация 3p12-p23 (55,5 %) является наиболее частой аберрацией в группе пациентов с диспластическими изменениями эпителия.
3. В опухолевых клетках больных раком желудка в 30 % случаев выявлены делеции 5q12-q23 и 18q12-q21, а также амплификации 20p11.2-p13, 7q21-q35 и 8q21.2-q24 с частотой 20%.
4. Для клеток прилежащего к опухоли эпителия на фоне хронического воспаления показаны делеции 19p13.2, 19q13.1-q13.3, 18q11.2-q21, 15q15-q22.
5. Максимальные отличия по частоте хромосомных аберраций по ходу развития патологического процесса выявлены между эпителием слизистой оболочки желудка на фоне хронического воспаления при отсутствии опухолевого очага и опухолевой тканью.
6. В клетках опухолевой ткани больных раком желудка уровень амплификаций статистически значимо превышает аналогичный показатель для эпителия, прилежащего к неопластическому очагу ($p = 0,031$).
7. Онкомаркеры вируса Эпштейна-Барр выявлены на самых ранних этапах патологического процесса в эпителиальных клетках слизистой оболочки желудка 24 % больных хроническим атрофическим гастритом.
8. Модифицирующего влияния вируса Эпштейна-Барр на частоту и разнообразие хромосомных мутаций в эпителии слизистой оболочки желудка у пациентов с хроническим гастритом не выявлено.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Авдеенко Т.В., Вусик М.В, Уразова Л.Н., **Матвеенко О.А.** Предопухолевая патология желудка и ее связь с вирусом Эпштейна-Барр // Седьмой съезд онкологов и радиологов стран СНГ / Казахский НИИ онкологии и радиологии. – Астана, 2012. – С. 120-121.
2. Авдеенко Т.В., Вусик М.В., Плешко Р.И., Евтушенко В.А. **Матвеенко О.А.** Роль инфекционной составляющей и воспалительного клеточного инфильтрата в патогенезе рака желудка // Сибирский

онкологический журнал: научно-практическое издание. – 2011. - № 5. – С. 79-86.

3. Авдеенко Т.В., Вусик М.В., Уразова Л.Н., Евтушенко В.А., **Матвеенко О.А.** Частота выявляемости вируса Эпштейна-Барр у пациентов с предопухолевой патологией желудка // Материалы Российской научно-практической конференции «Современные эндоскопические технологии в онкологии». – Томск. – 27-28 мая 2010. – Прил. 2. – С. 5.
4. Авдеенко Т.В., Вусик М.В., Уразова Л.Н., Евтушенко В.А., **Матвеенко О.А.** Роль вируса Эпштейна-Барр в формировании групп повышенного онкологического риска среди пациентов с предопухолевой патологией желудка // Материалы пятой региональной конференции молодых ученых-онкологов им. академика Н.В. Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии». – Томск. – 23 апреля 2010. – Прил. 1. – С. 10.
5. Мансурова Г.Н., **Матвеенко О.А.**, Авдеенко Т.В. Выявление *H. pylori* и вируса Эпштейна-Барр в опухолевой ткани больных раком желудка // Сборник материалов 5 региональной конференции молодых ученых-онкологов им. академика Н.В. Васильева. – Томск. – 23 апреля 2010. – С. 73-74
6. **Матвеенко О.А.** Хромосомные аберрации в эпителиальных тканях желудка при предопухолевых заболеваниях // Материалы 6 региональной конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика Н.В. Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии». – Томск. – 28 апреля 2011. – С. 77-78
7. **Матвеенко О.А.**, Лебедев И.Н., Уразова Л.Н. Метод сравнительной геномной гибридизации для оценки хромосомных нарушений в тканях ВЭБ-позитивных форм рака желудка // Сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием «Молекулярная онкология». – Новосибирск. – 1-3 октября 2008. – С. 130-131.
8. **Матвеенко О.А.**, Уразова Л.Н. Хромосомные аберрации в клетках слизистой оболочки желудка при хроническом атрофическом гастрите // Седьмой съезд онкологов и радиологов стран СНГ / Казахский НИИ онкологии и радиологии. – Астана, 2012. – С. 154.
9. **Матвеенко О.А.**, Уразова Л.Н., Вусик М.В., Авдеенко Т.В., Лебедев И.Н., Черемных А.Д. Молекулярно-цитогенетический анализ тканей предопухолевых заболеваний желудка // Материалы Российской научно-практической конференции «Современные эндоскопические технологии в онкологии». – Томск. – 27-28 мая 2010. – Прил. 2. – С. 33.
10. **Матвеенко О.А.**, Уразова Л.Н., Вусик М.В., Авдеенко Т.В., Черемных А.Д., Лебедев И.Н. Молекулярно-цитогенетический анализ эпителия желудка при хроническом эрозивном гастрите // Материалы 10

юбилейной конференции молодых онкологов при участии международных специалистов «Современные вопросы экспериментальной и клинической онкологии». – Киев. – 21-24 апреля 2010. – С. 62-63

11. **Матвеенко О.А.**, Уразова Л.Н., Вусик М.В., Афанасьев С.Г., Комарова Т.В., Лебедев И.Н. Хромосомные нарушения в тканях предраковых заболеваний желудка // Материалы Российской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 30-летию НИИ онкологии СО РАМН. – Томск. – 10-11 сентября 2009. – Прил. 2 – С. 132-133.
12. **Матвеенко О.А.**, Уразова Л.Н., Вусик М.В., Черемных А.Д., Лебедев И.Н. Хромосомные аберрации в тканях желудка при хроническом эрозивном гастрите как потенциальный маркер ранней злокачественной трансформации клеток // Сибирский онкологический журнал: научно-практическое издание. – 2010. – № 5. – С. 27-31.
13. **Матвеенко О.А.**, Уразова Л.Н., Лебедев И.Н. Роль хромосомных аномалий в развитии рака желудка // Медицинская генетика. – 2010. – Т. 9. – № 8. – С. 3-13.
14. **Матвеенко О.А**., Уразова Л.Н., Перельмутер В.М., Черемных А.Д., Лебедев И.Н. Анализ хромосомных аберраций в клетках эпителиальной ткани при хроническом гастрите и раке желудка методом сравнительной геномной гибридизации (CGH) // Сибирский онкологический журнал: научно-практическое издание. – 2011. - № 6. – С. 34-40.
15. **Матвеенко О.А.**, Уразова Л.Н., Черемных А.Д., Комарова Т.В., Лебедев И.Н. Новый подход к исследованию хромосомных нарушений в тканях предраковых заболеваний желудка // Сборник материалов Сибирско-Тайваньского форума. – Томск. – 16-17 сентября 2009. – Т. 2. – С. 119-120.
16. **Матвеенко О.А.**, Уразова Л.Н., Черемных А.Д., Лебедев И.Н. Молекулярно-цитогенетическая диагностика хромосомных нарушений в эпителиальных тканях при предопухолевых патологиях желудка // Сборник трудов: 7 Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика». – Москва. – 2010. – Т. 4 – С. 94-97.
17. **Матвеенко О.А.**, Черемных А.Д., Уразова Л.Н., Лебедев И.Н. Хромосомные аберрации в тканях желудка при гипертрофическом гастрите // Материалы пятой региональной конференции молодых ученых-онкологов им. Академика Н.В. Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии». – Томск. – 23 апреля 2010. – Прил. 1. – С. 74.
18. **Matveyenko O.A.**, Urazova L.N., Lebedev I.N., Cheremnykh A.D. Chromosome aberrations in hypertrophic gastritis // European Journal of Human Genetics. – 2010. – Vol. 18. – P. 199.