

**ΙΑΤΡΙΚΗ.— Ἀνεύρεσις σημειακῆς μεταλλάξεως στὸ πρωτο-ογκογονίδιο K-ras σὲ κακοήθεις δύκους μεταμοσχευμένων ἀσθενῶν, ὑπὸ Γρ. Δ. Σκαλκέα, Δ. Σπαντίδου, Α. Κωστάκη, Σ. Μπαλαφούτα-Τσελένη, Ε. Χωρέμη, Α. Χαλιάσου, Δ. Ἰλιοπούλου\*, διὰ τοῦ Ἀκαδημαϊκοῦ κ. Γρ. Δ. Σκαλκέα.**

Ἡ συχνότητα ἐμφανίσεως δρισμένων μορφῶν νεοπλασμάτων σὲ ἀσθενεῖς οἱ ὅποιοι ἔχουν ὑποβληθεῖ σὲ μεταμόσχευση νεφροῦ ἀπὸ συγγενεῖς ἢ πτωματικοὺς δότες εἶναι πολλαπλάσια ἀπὸ ὅ, τι στὸν γενικὸν πληθυσμό.

Ἀναφέρουμε χαρακτηριστικὰ ὅτι τὸ σάρκωμα Kaposi εἶναι περίπου τριακόσιες φορὲς συχνότερο, οἱ καρκίνοι τοῦ δέρματος εἴκοσι φορὲς συχνότεροι καὶ τὰ Non-Hodgkin λεμφώματα σαράντα φορὲς συχνότερα σὲ σύγκριση μὲ τὸν κοινὸν πληθυσμό. (Πίνακας 1).

#### ΠΙΝΑΚΑΣ 1

Συχνότητα ἐμφανίσεως δρισμένων μορφῶν κακοήθων νεοπλασμάτων σὲ μεταμοσχευμένους ἀσθενεῖς

|                      |            |
|----------------------|------------|
| 1. Σάρκωμα           | 300 πλάσια |
| 2. Καρκίνοι δέρματος | 20 πλάσια  |
| 3. Non-Hodgkin       | 40 πλάσια  |

Ἡ αἰτιολογία τῆς μεγάλης συχνότητας τῶν κακοήθων αὐτῶν νεοπλασμάτων ἐπὶ μεταμοσχευμένων ἀσθενῶν δὲν ἔχει διευκρινισθεῖ, θεωροῦνται ὅμως ὡς πιθανοὶ γενεσιοναργοὶ παράγοντες ἡ οὐραϊμία, ἡ χρησιμοποίηση τῶν ἀνοσοκατασταλτικῶν φαρμάκων, ἡ ἀνοσοανεπάρκεια ποὺ ἀφορᾶ κυρίως τὸ κυτταρικὸν σκέλος τοῦ ἀνοσολογικοῦ συστήματος, δύκογόνοι ἵσται καὶ ὁ χρόνιος ἀντιγονικὸς ἐρεθισμὸς ποὺ προκαλεῖται ἀπὸ τὸ μόσχευμα. (Πίνακας 2).

#### ΠΙΝΑΚΑΣ 2

Αἰτιολογικοὶ παράγοντες αὐξημένης συχνότητας ἐμφανίσεως καρκίνου σὲ μεταμοσχευμένους ἀσθενεῖς

1. Οὐραϊμίχ
2. Ἀνοσοκατασταλτικὰ φάρμακα
3. Ἐλαττωμένη ἀνοσοεπίθλεψη
4. Ὁγκογόνοι ἵσται
5. Χρόνιος ἀντιγονικὸς ἐρεθισμὸς

Για τὴν διευκρίνηση τοῦ ἀγνώστου αὐτοῦ μηχανισμοῦ καρκινογενέσεως ἔχουμε προγραμματίσει πολυθεματική ἐργασία βασισμένη στὴ μοριακὴ βιολογία, τὴν ἀνοσολογία, τὴν ιολογία, τὴν παθολογικὴ ἀνατομία κλπ.

Πρώτη φάση τῆς ἐργασίας μας ὑπῆρξε ἡ μελέτη τῶν δγκογονιδίων σὲ παρασκευάσματα κακοήθων δγκεων μερικῶν ἐν τῶν μεταμοσχευμένων ἀσθενῶν μας, διότι εἶχαμε τὴν ἐντύπωση ὅτι πιθανὸν νὰ ὑπάρχουν μεταλλάξεις οἱ ὄποιες δὲν ἔχουν ἀνακοινωθεῖ στὴν διεθνῆ βιβλιογραφία.

Πρὸς τὸν σκοπὸν αὐτὸν ἐλήφθησαν τομὲς ἀπὸ μονιμοποιημένους σὲ φορμόλη καὶ ἐγκλωβισμένους σὲ παραφίνη ἰστοὺς ἀπὸ δγκους ἀσθενῶν, οἱ ὄποιοι παρουσίασαν κακοήθεις νεοπλασίες μετὰ ἀπὸ μεταμόσχευση νεφροῦ. Ἀπὸ τοὺς δγκους αὐτοὺς ἀπεμονώθη τὸ DNA γιὰ τὴ μελέτη σημειακῶν μεταλλάξεων στὸ κωδικόν 12 τοῦ πρωτο-օγκονιδίου K-Ras, οἱ ὄποιες, ὅπως ἔχει ἀποδειχθεῖ, τὸ ἐνεργοποιοῦν δίνοντάς του τὴν δυνατότητα νὰ ἐπιφέρει καρκινικὴ ἔξαλλαγὴ τῶν φυσιολογικῶν κυττάρων.

Ἡ μελέτη ἔγινε μὲ τὴν τεχνικὴ τῆς ἀλυσιδωτῆς ἀντιδράσεως μὲ πολυμεράση (PCR), ποὺ μᾶς ἐπιτρέπει νὰ μεγενθύνουμε τὴν συγκεκριμένη περιοχὴ τοῦ DNA κατὰ 500.000 φορὲς μὲ ἀποτέλεσμα τὴν ἀνίχνευση τυχὸν μεταλλάξεων. (Πίνακας 3).

### ΠΙΝΑΚΑΣ 3

‘Αλυσιδωτὴ ἀντιδραση μὲ Πολυμεράση

K-ras sequence with wild codon 12

5'..TAAACTTGTGGTAGTTGGAGCTGGTGGC.....GACGAATATGATCCAACAATAGA..3'

5'TAAACTTGTGGTAGTTGGAGCC 3' primers 3'CTTATACTAGGTTGTTATCT 5'

K12Nm

PCR

KB12

5'TAAACTTGTGGTAGTTGGACC GG TG GGC.....GACGAATATGATCCAACAATAGA 3'

Msp I site (99 dp)

Msp I digestion

TAAACTTGTGGTAGTTGGCCG and GTGGC.....GACGAATATGATCCAACAATAGA

(21 pb)

(78 pb)

Ἡ ὑπαρξη μεταλλάξεων στὸ κωδικόν 12 μετὰ τὴν προσθήκη στὸ μεγενθύνεο DNA ἐνὸς περιοριστικοῦ ἐνζύμου (MSP<sup>1</sup>) δημιουργεῖ δύο ἔχειαριστὰ τμήματα DNA ποὺ δύνανται εὔκολα νὰ ἀνιχνευθοῦν μὲ ἡλεκτροφόρηση σὲ πηκτὴ ἀγαρόζης. (Πίνακας 4). Τὰ ἀποτελέσματα μας συνοψίζονται ὡς ἀκολούθως: Ἐπὶ 8 περιπτώσεων κακοήθων νεοπλασιῶν ἴσαρθμων ἀσθενῶν ποὺ μελετήθηκαν μὲ τὴν περιγραφεῖσα μέθοδο, σὲ 4 ἀνευρέθη μετάλλαξη στὸ κωδικόν 12 τοῦ πρωτο-օγκονιδίου K-

## ΠΙΝΑΚΑΣ 4

\*Αποτελέσματα άνιχνεύσεως τής σημειωκῆς μεταλλάξεως στὸ Κωδικόνιο 12 τοῦ K-RAS δγκογονιδίου σὲ 8 Δείγματα DNA ποὺ ἐλήφθησαν ἀπὸ ὅγκους μεταμοσχευμένων μὲ νεφρὸ δάσθενῶν.

| *Αριθμός<br>ἀσθενοῦς | Φύλο | *Ημερ/νία<br>μεταμοσχ. | *Έμφάνιση<br>νεοπλασίας | Τύπος νεοπλασίας                           | Μεταλλάξεις<br>στὸ K-ras |
|----------------------|------|------------------------|-------------------------|--|--------------------------|
| 1                    | A    | 1989                   | 1990                    | Σάρκωμα Kaposi                             | +                        |
| 2                    | A    | 1986                   | 1989                    | Σάρκωμα Kaposi                             | +                        |
| 3                    | A    | 1989                   | 1990                    | Σάρκωμα Kaposi                             | —                        |
| 4                    | A    | 1988                   | 1990                    | Καρκίνος χοληδόχου πόρου<br>καὶ παγκρέατος | +                        |
| 5                    | Γ    | 1988                   | 1988                    | Καρκίνος τραχήλου μήτρας                   | —                        |
| 6                    | Γ    | 1986                   | 1988                    | Διηθητικὸς καρκίνος μαστοῦ                 | +                        |
| 7                    | A    | 1983                   | 1990                    | Καρκίνος στομάχου                          | —                        |
| 8                    | A    | 1990                   | 1990                    | Καρκίνος προστάτου                         | —                        |

ras. Συγκεκριμένα σὲ 2 σάρκωμα Kaposi, 1 καρκίνο τοῦ παγκρέατος καὶ 1 καρκίνο τοῦ μαστοῦ, ἐκ τῶν ὅποίων οἱ τρεῖς ἔλαβαν πτωματικὸ μόσχευμα καὶ ὁ τέταρτος μόσχευμα ἀπὸ ζῶντα δότη.

\*Η μετάλλαξη στὸ Κωδικόνιο 12 τοῦ πρωτο-ογκογονιδίου K-Ras δὲν ἔχει ἀναφερθεῖ σὲ σάρκωμα Kaposi ἢ καρκίνο τοῦ μαστοῦ οὔτε σὲ μεταμοσχευμένους ἀσθενεῖς ἀλλὰ οὔτε καὶ σὲ ἀντιστοίχους κακοήθεις ὅγκους στὸν γενικὸ πληθυσμό.

Τονίζουμε ἴδιαιτέρως ὅτι ἐπὶ καρκινωμάτων μαστοῦ σὲ μὴ μεταμοσχευμένους ἀσθενεῖς ἔχουν ἀνευρεθεῖ μεταλλάξεις, ποιὸν σπάνια, ἀλλὰ μόνο στὸ δγκογονίδιο H-Ras. \*Αντιθέτως ἡ μετάλλαξη ἢ ὅποία ἀνευρέθη ἐπὶ τοῦ ἀσθενοῦς τοῦ πάσχοντος ἀπὸ καρκίνο τοῦ παγκρέατος, ἔχει παρατηρηθεῖ σὲ ὅγκους τοῦ ὀργάνου τούτου, ἀλλὰ ἐπὶ μὴ μεταμοσχευμένων ἀσθενῶν.

Νομίζουμε ὅτι τὰ εὐρήματα αὐτὰ εἶναι τὰ πρῶτα διεθνῶς ποὺ παρατηρήθηκαν σὲ μεταμοσχευμένους ἀσθενεῖς μὲ σάρκωμα Kaposi, καρκίνο τοῦ μαστοῦ, ἀλλὰ καὶ καρκίνο τοῦ παγκρέατος.

\*Η παρατήρηση αὐτὴ εἶναι πρωτότυπη καὶ ἐνδέχεται νὰ συμβάλῃ στὴ μελέτη τῶν μηχανισμῶν καρκινογενέσεως, ὅχι μόνο, σὲ μεταμοσχευμένους ἀσθενεῖς ἀλλὰ καὶ γενικότερα τῶν κακοήθων ὅγκων στὸ γενικὸ πληθυσμό.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Spanidoss DA. (Ed.) *Oncogenes*. Plenum Publishing Corporation, New York, USA, pp. 1-323, 1989.

2. Haliassos A, Chomel JC, Tesson L, Baudis M, Kruh J, Kaplan J. C. and Kit zis A, Artificial modifications of enzymatically amplified DNA for the detection of point mutations. Nucleic Acids Research 17: 3606, 1989.

#### S U M M A R Y

#### **K-ras oncogene activations by point mutations at codon 12 in tumors Kidney transplanted patients.**

K-ras oncogene activations by point mutations are frequent in many forms of human cancers but there is a special category of cancers occurring in immunosuppressed patients after kidney transplantation in which the frequency of K-ras oncogene activation has not been fully studied. We used a new sensitive and easy method for the detection of this mutation, and in 8 DNA samples studied from various neoplasias of 8 patients after kidney transplantation, we found 4 mutations. Our preliminary results indicate that the activation of K-ras oncogene at codon 12, is a comming event among the kidney transplanted patients who present neoplasia, even in the least aggressive forms of the disease, contrary to the sporadic cases.