

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава)



Учебное
пособие

Онкогенетика

	U	C	A	G	
U	<u>Phe</u> (F)	Ser(S)	Tyr(Y)	<u>Cys</u> (C)	U
	<u>Phe</u> (F)	Ser(S)	Tyr(Y)	<u>Cys</u> (C)	C
	<u>Leu</u> (L)	Ser(S)	Term	Term	A
	<u>Leu</u> (L)	Ser(S)	Term	Trp(W)	G
C	<u>Leu</u> (L)	Pro(P)	His(H)	Arg(R)	U
	<u>Leu</u> (L)	Pro(P)	His(H)	Arg(R)	C
	<u>Leu</u> (L)	Pro(P)	Gln(Q)	Arg(R)	A
	<u>Leu</u> (L)	Pro(P)	Gln(Q)	Arg(R)	G
A	<u>Ile</u> (I)	Thr(T)	Asn(N)	Ser(S)	U
	<u>Ile</u> (I)	Thr(T)	Asn(N)	Ser(S)	C
	<u>Ile</u> (I)	Thr(T)	Lys(K)	Arg(R)	A
	<u>Met</u> (M)	Thr(T)	Lys(K)	Arg(R)	G
G	<u>Val</u> (V)	Ala(A)	<u>Asp</u> (D)	Gly(G)	U
	<u>Val</u> (V)	Ala(A)	<u>Asp</u> (D)	Gly(G)	C
	<u>Val</u> (V)	Ala(A)	Glu(E)	Gly(G)	A
	<u>Val</u> (V)	Ala(A)	Glu(E)	Gly(G)	G

Уфа
2020



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России)

ОНКОГЕНЕТИКА

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Уфа

2020

УДК 616-006:575.1(075.8)

ББК 55.6+52.54я7

О-58

Рецензенты:

Д.м.н., профессор, заведующий кафедрой медико-биологических

дисциплин НИУ «БелГУ» *М.И. Чурносов*

Д.б.н., заместитель директора по лабораторно-диагностической работе

ГБУЗ РМГЦ *Р.И. Хусаинова*

Онкогенетика: учебное пособие / Р.Н. Мустафин, И.Р. Гилязова,
О-58 Я.Р. Тимашева, Э.К. Хуснутдинова, А.С. Карунас. — Уфа: ФГБОУ ВО
БГМУ Минздрава России, 2020. — 98 с.

Подготовлено в соответствии с требованиями ФГОС ВО по направлению подготовки 31.05.01 «Лечебное дело» (уровень специалитета) и ООП высшего образования по специальности 31.05.01 «Лечебное дело», для изучения дисциплины «Медицинская генетика» на основании рабочей программы учебной дисциплины «Медицинская генетика» утвержденной ученым советом ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России 2019 г.

В нем излагаются механизмы канцерогенеза и современные методы диагностики злокачественных новообразований, четко и доступно описаны методы дифференциальной диагностики различных онкологических заболеваний на основе молекулярно-генетических тестов, приводится описание наследственных опухолевых синдромов, их специфических клинических черт и генетических дефектов. Издание включает тестовые задания и ситуационные задачи с эталонами ответов.

Пособие предназначено для обучающихся по специальностям 31.05.01 «Лечебное дело», 31.05.02 «Педиатрия», 32.05.01 «Медико-профилактическое дело».

Рекомендовано в печать Координационным научно-методическим советом и утверждено решением Редакционно-издательского совета ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России.

УДК 616-006:575.1(075.8)

ББК 55.6+52.54я7

© Мустафин Р.Н., Гилязова И.Р., Тимашева Я.Р.,
Хуснутдинова Э.К., Карунас А.С., 2020

© ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений.....	4
Введение.....	5
1. Дифференциальная диагностика новообразований.....	7
2. Онкомаркеры.....	10
3. Генетическая диагностика злокачественных новообразований.....	17
4. Протоонкогены и онкогены.....	20
5. Онкосупрессоры.....	25
6. Мутации «Драйверы» и мутации «Пассажиры».....	32
7. Хромотриписис и хромоплексия в онкологии.....	37
8. Наследственные опухолевые синдромы.....	43
9. Злокачественные новообразования как многофакторные болезни.....	57
10. Эпигенетика канцерогенеза.....	62
10.1. Роль метилирования ДНК и модификаций гистонов в онкогенезе...	62
10.2. Механизмы метилирования ДНК.....	63
10.3. Механизмы модификации гистонов.....	66
10.4. Роль РНК-интерференции в канцерогенезе.....	67
10.5. Длинные некодирующие РНК.....	71
Тестовые задания.....	73
Ситуационные задачи.....	90
Эталоны ответов на тестовые задания и ситуационные задачи.....	93
Рекомендуемая литература.....	96

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АКТГ — адренкортикотропный гормон
- АФП — альфа-фетопротеин
- ЖКТ — желудочно-кишечный тракт
- ЗНО — злокачественные новообразования
- нкРНК — некодирующие РНК
- НП — нуклеотидные последовательности
- НФ1 — нейрофиброматоз I типа
- НФ2 — нейрофиброматоз II типа
- ПДРФ — полиморфизм длины рестрикционных фрагментов
- п.н. — пар нуклеотидов
- ПЦР — полимеразная цепная реакция
- ПСА (PSA) — простат-специфический антиген
- РМЖ — рак молочной железы
- РНКи — РНК-интерференция
- РЭА — Раково-эмбриональный антиген
- ТФ — транскрипционный фактор
- ХГЧ — хорионический гонадотропин человека
- ЧВ — частота встречаемости
- СА — carbohydrate antigen (углеводный антиген)
- GDNF — glial cell line-derived neurotrophic factor (нейротрофический линейный клеточный глиальный фактор)
- GWAS — полногеномный анализ ассоциаций (Genome-Wide Association Study)
- HERV — эндогенные ретровирусы человека
- HPV — папилломавирус человека (human papillomavirus)
- lncРНК — длинные некодирующие РНК (long noncoding RNA)
- РАР — простат-специфическая кислая фосфатаза (prostatic acid phosphatase)
- SNP — однонуклеотидные полиморфизмы (single nucleotide polymorphism)
- SSCP — анализ конформационного полиморфизма одноцепочечных участков ДНК (Single-Strand Conformation Polimorphism analysis)
- TSG — онкосупрессорные гены (tumor suppressor gene)

ВВЕДЕНИЕ

Учебное пособие предназначено для обучающихся по специальностям: лечебное дело, педиатрия, медико-профилактическое дело и ориентировано на углубленное изучение современных молекулярно-генетических механизмов канцерогенеза, а также современных методов и подходов диагностики злокачественных новообразований. Материал раскрыт в легко воспринимаемой форме с использованием схем, таблиц и рисунков.

Учебное пособие соответствует ФГОС ВО, ООП специальности 31.05.01 Лечебное дело, содержит современную, полезную информацию, дополняющую учебник, помогающую лучшему освоению учебного материала и формированию компетенций:

– **ПК-5** — готовность к сбору и анализу жалоб пациента, данных его анамнеза, результатов осмотра, лабораторных, инструментальных, патолого-анатомических и иных исследований в целях распознавания состояния или установления факта наличия или отсутствия заболевания;

– **ПК-6** — способность к определению у пациента основных патологических состояний, симптомов, синдромов заболеваний, нозологических форм в соответствии с Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем, X пересмотра;

– **ПК-8** — способность к определению тактики ведения пациентов с различными нозологическими формами;

– **ПК-9** — готовность к ведению и лечению пациентов с различными нозологическими формами в амбулаторных условиях и условиях дневного стационара.

Онкогенетика — раздел онкологии, изучающий роль генетических факторов в этиологии и патогенезе опухолей, а также разрабатывающий методы диагностики, профилактики и лечения злокачественных новообразований на основании молекулярно-генетических данных.

Частота встречаемости всех злокачественных новообразований в среднем по миру составляет не менее 10% среди взрослого населения. ЗНО занимают II место среди причин смертности (I место — заболевания сердечно-сосудистой системы) в странах с высоким уровнем дохода и III место (после заболеваний сердечно-сосудистой системы и инфекционных болезней) в странах со средним и низким уровнем дохода. Большинство случаев ЗНО диагностируется у людей в возрасте старше 50 лет. Независимо от пола, на I месте среди всех ЗНО по частоте встречаемости стоит рак легкого (13%), на II месте — рак молочной железы (12%), на III месте — колоректальный рак (9,7%), на IV месте — рак простаты (7,8%), далее рак желудка (6,8%), печени (5,6%), шейки матки (3,8%). Распространенность различных типов ЗНО у мужчин и женщин отличается. У женщин структуру заболеваемости от наиболее распространенных ЗНО к наименее распространенным можно представить: рак молочной железы (25,1%) > колоректальный рак (9,2%) > рак легкого (8,8%) > рак шейки матки (7,9%) > рак тела матки (4,8%) > рак желудка (4,8%) > рак яичника (3,6%). У мужчин: рак легкого (16,8%) > рак простаты (14,8%) > колоректальный рак (10,1%) > рак желудка (8,5%) > рак печени (7,5%) > рак мочевого пузыря (4,5%) > рак пищевода (4,4%).

Около 10% всех ЗНО являются моногенными наследственными болезнями с аутосомно-доминантным типом наследования. Большинство спорадических неоплазм — многофакторные болезни. На их развитие влияют канцерогены, которые могут быть физическими (ионизирующее и ультрафиолетовое облучение), химическими (металлы (свинец, мышьяк, никель), нитрозосоединения (диметилнитрозамин), углеводороды (бензпирен)), биологическими (вирусы папилломы человека (HPV), гепатита С, Эпштейн-Барр, онковирусы).

1. ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА НОВООБРАЗОВАНИЙ

Новообразования могут быть доброкачественными и злокачественными (Табл. 1). Наибольшее внимание в онкологии и онкогенетике уделяется изучению злокачественных опухолей, которые характеризуются быстрым ростом, инвазией в окружающие ткани и метастазированием вследствие неконтролируемого деления составляющих их клеток. Характерными признаками злокачественных неоплазм является также неограниченное количество делений клеток (не действует предел Хейфлика вследствие активации теломеразы, восстанавливающей укороченные теломеры) и автономность («перевиваемость» в другие органы и другим организмам).

Таблица 1.

Дифференциально-диагностические критерии опухолей

Признаки	Доброкачественные неоплазмы	Злокачественные неоплазмы
Скорость пролиферации	медленный рост	быстрый рост
Способность к дифференцировке	Сохранена	утрачена
Воздействие на организм	Местное	местное и общее (интоксикация)
Характер роста	Экспансивный	инфильтративный
Метастазирование	Отсутствует	характерно
Наличие капсулы	Характерно	отсутствует
Митотическая активность клеток	Низкая	высокая
Рецидивы	нехарактерны	характерны
Границы опухоли	Четкие	нечеткие
Изменение региональных лимфоузлов	отсутствует	характерно
Атипизм	Тканевой	клеточный

Линия бессмертных перевиваемых клеток из одной клетки рака шейки матки у больной Генриетты Лакс была получена 8 февраля 1951 года Джорджем Гейем. Данная линия называется HeLa в соответствии с именем пациентки (Henrietta Lacks) и используется во всем мире для экспериментов, так как характеризуются неограниченным количеством делений. В соответствии с данным примером, злокачественные опухоли характеризуются моноклональностью — образованием из одной единственной клетки. Примером служит образование клона клеток при хроническом миелолейкозе в результате реципрокной транслокации между 9 и 22 хромосомами (t 9; 22) (q34.1; q11.2). На 22 хромосоме ген *BCR* (breakpoint cluster region) образует единую рамку считывания с транслоцированным геном *ABL* (Abelson murine leukemia viral oncogene homolog). В результате (Рис. 1) образуется ген *BCL-ABL*, при экспрессии которого синтезируется гибридный белок BCR-ABL, который стимулирует деление клеток, действуя как онкоген.

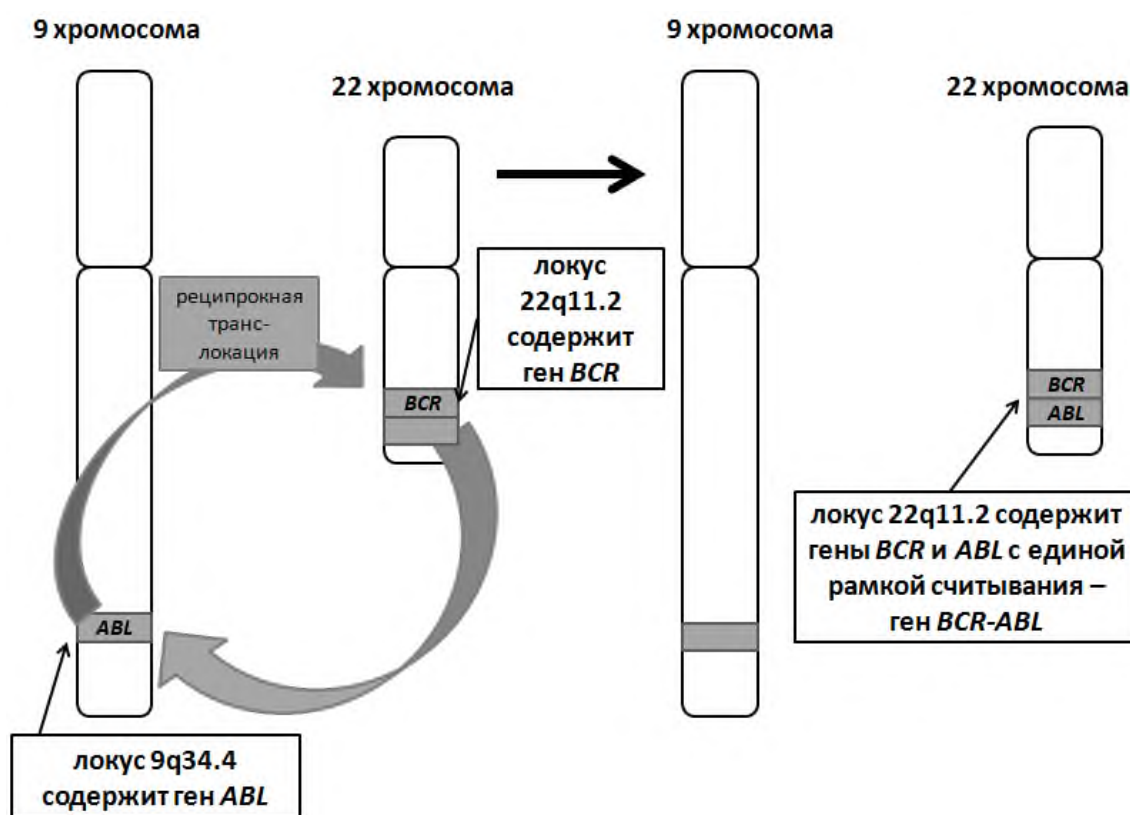


Рис. 1. Схема образования филадельфийской хромосомы.

И доброкачественные, и злокачественные неоплазмы классифицируют в соответствии с тканью, из которой они произошли (Табл. 2).

Таблица 2

Дифференциальная классификация опухолей

Ткань	Злокачественные неоплазмы	Доброкачественные неоплазмы
нейроглия	диффузная астроцитома анapластическая астроцитома глиобластома	Невринома
соединительная	Фибросаркома	Фиброма
Костная	Остеосаркома	Остеома
хрящевая	хондросаркома	хондрома
мышечная	Миосаркома	рабдомиома, лейомиома
жировая	Липосаркома	Липома
пигментная	Меланома	Невус
эпителиальная	карцинома (рак)	аденома, эпителиома

Важное значение в дифференциальной диагностике опухолей имеет цитологическое исследование материала с определением специфических признаков злокачественного роста (клеточный атипизм, высокая митотическая активность, инфильтративный рост), цитогенетическое и молекулярно-цитогенетическое (для выявления хромосомных мутаций), молекулярно-генетическое исследование, а также определение уровня специфических онкомаркеров. Используются рентгенография, КТГ, МРТ, УЗИ, сцинтиграфия.

Контрольные вопросы

1. Что такое предел Хейфлика и чем он обусловлен?
2. Какая транслокация вызывает развитие хронического миелолейкоза?
3. Как классифицируют новообразования?
4. Какие методы исследования используют для диагностики неоплазм?
5. Перечислите отличительные особенности доброкачественных и злокачественных новообразований.

2. ОНКОМАРКЕРЫ

К онкомаркерам относятся вещества, содержание которых в плазме крови коррелирует с наличием и прогрессированием специфических опухолей.

В настоящее время известно более 200 онкомаркеров, но оптимальных, соответствующих всем необходимым критериям (Рис. 2), пока не выявлено.



Рис. 2. Критерии оптимальных онкомаркеров.

По химической структуре онкомаркеры могут быть гликолипидами, полипептидами, гликопротеинами, липопротеинами и другими. По биологической функции онкомаркеры классифицируют на: гормоны (АКТГ, ХГЧ), ферменты (енолазы, фосфатазы, лактатдегидрогеназа), продукты обмена (гидроксипролин, полиамины, креатин), ассоциированные с неоплазмами антигены или антитела к ним, специфические продукты распада опухолей.

Показания для исследования онкомаркеров:

1) дифференциальная диагностика доброкачественных и злокачественных неоплазм. Выделяют так называемую «серую зону», когда значения уровня специфического онкомаркера могут свидетельствовать как о доброкачественном, так и о злокачественном процессе;

2) скрининг злокачественных новообразований. *Например, для скрининга рака простаты проводят определение уровня ПСА в крови у мужчин;*

3) мониторинг больных — определяют уровни онкомаркеров в динамике. *При повторном повышении уровня онкомаркера необходимо исключить возможный рецидив или метастазирование опухоли;*

4) прогнозирование. *По концентрации онкомаркера и его изменению можно определить степень распространения опухолевого процесса и прогноз.*

5) оценка радикальности лечения. *При уменьшении уровней онкомаркера можно говорить об успешности проводимой противоопухолевой терапии.*

Рассмотрим некоторые наиболее известные онкомаркеры:

Простат-специфический антиген (ПСА или PSA), повышение уровня которого характерно для *карциномы простаты*, представляет собой сериновую протеазу химотрипсिनотипа. Кодирован геном *KLK3* (kallikrein-3), который локализован на хромосоме 19 в области 19q13.33. Для мужчин до 50 лет уровень ПСА не должен превышать 4 нг/мл. Повышение уровня возможно после 50 лет, при аденоме предстательной железы и простатите, после диагностических процедур (пальцевое ректальное исследование, ректороманоскопия, биопсия). В плазме крови ПСА находится в связанном с альфа-2-макроглобулином и с альфа-1-антихимотрипсином и в свободном виде.

Простат-специфическая кислая фосфатаза — это фермент, вырабатываемый предстательной железой. Кодирован геном *ACP* (acid phosphatase, prostate), локализованным на 3q22.1. В норме концентрация PAF в крови у мужчин не должна превышать 2,6 МЕ/л. Значительное повышение уровня PAF специфично для *карциномы простаты*. Возможно умеренное повышение концентрации PAF в плазме крови при аденоме предстательной железы и простатите, после диагностических процедур (пальцевое ректальное исследование, ректороманоскопия, биопсия), а также при болезни Педжета, гиперпаратиреозе, серповидно-клеточной анемии, множественной миеломе, лизосомальных болезнях накопления.

Хорионический гонадотропин человека — это гликопротеин, относящийся к гонадотропным гормонам. В норме вырабатывается синцитиотрофобластом плаценты и участвует в поддержании активности желтого тела яичника с 8-го дня овуляции при беременности. ХГЧ кодируется геном *CGA* (glycoprotein hormones, alpha polypeptide), который расположен на 6q14.3. В норме содержание ХГЧ в крови составляет до 5 МЕ/мл независимо от пола. Физиологическое повышение до 10 МЕ/мл может наблюдаться у женщин в постменопаузе. ХГЧ повышается при *хориокарциноме* (злокачественный трофобластический рак матки, яичников у женщин или яичек у мужчин).

Альфа-фетопротеин — это гликопротеин, который в норме образуется желточным мешком эмбриона. Кодируется геном *AFP*, локализация которого 4q13.3. Нормальный уровень в крови АФП у взрослых составляет до 6,67 Ед/мл. Повышение уровня АФП характерно для *гепатоцеллюлярной карциномы* (*первичный рак печени*), метастазов злокачественных неоплазм в печень, опухолей желудочно-кишечного тракта. Для карциномы яичка диагностическим критерием является одновременное повышение уровней ХГЧ и альфа-фетопротеина.

Бета-2-микροглобулин — это низкомолекулярный белок, являющийся компонентом главного комплекса гистосовместимости 1-го класса. Кодируется геном *B2M*, локализованным на 15q21.1. В норме концентрация бета-2-микροглобулина в крови составляет 0,8–2,4 мг/л; в моче — 0,02–0,3 мг/л. Уровень данного онкомаркера повышается при *гемобластозах, множественной миеломе, лимфоме*. Неспецифическое увеличение уровня может быть связано с реакцией на трансплантат, СПИДом, аутоиммунной патологией, воспалительными заболеваниями почек, ОРВИ. Главный комплекс гистосовместимости (МНС — major histocompatibility complex) — это комплекс белков, расположенных на мембранах клеток и презентующих фрагменты чужеродных антигенов Т-лимфоцитам. МНС кодируется группой генов, которая называется (*HLA* — human leucocyte antigen) и локализована на хромосоме 6.

Раково-эмбриональный антиген — гликопротеины, участвующие в реакциях клеточной адгезии и в норме экспрессируемые в желудочно-кишечном тракте плода. Белки семейства РЭА кодируются 29 различными генами. В норме концентрация РЭА в крови взрослого человека составляет до 3,8 нг/мл (у курящих до 5,5 нг/мл). Повышение уровня РЭА в крови специфично для колоректального рака (главный маркер), а также при *злокачественных новообразованиях желудка, поджелудочной железы, молочной железы, легкого* (вторичный маркер). Неспецифическое повышение РЭА возможно при воспалительных и аутоиммунных заболеваниях.

Нейрон-специфическая енолаза (NSE) — фермент, участвующий в гликолизе (катализирует превращение 2-фосфо-D-глицериновой кислоты в фосфоенолпируват) и экспрессируемый в нейронах и клетках нейроэндокринного происхождения. Ген, кодирующий NSE, обозначается *ENO2* и локализован на хромосоме 12 в области 12p13.31. Нормальный уровень NSE в крови составляет до 17 нг/мл. Повышение NSE характерно для мелкоклеточного рака легкого, нейробластомы и опухолей нейроэндокринного происхождения.

Фрагмент цитокератина 19 (CYFRA 21-1) —растворимый фрагмент каркасного белка цитоскелета эпителиальных клеток, образующийся при их некрозе. В норме уровень CYFRA 21-1 в крови составляет до 3,3 нг/мл. Повышение характерно для немелкоклеточного рака легкого, плоскоклеточного рака внутренних органов, аденокарциномы толстой кишки.

СА 15-3 (carbohydrate antigen 15-3) — высокомолекулярный гликопротеин муцинового типа, который экспрессируется клетками молочной железы, матки и легких, а также Т-лимфоцитами. Уровень СА 15-3 в крови здоровых женщин не более 30 Ед/мл. Физиологическое увеличение наблюдается в 3 триместре беременности. Характерно специфическое повышение при раке молочной железы. Повышенная концентрация также возможна при циррозе печени.

СА 19-9 (carbohydrate antigen 19-9) — гликопротеин, экспрессируемый в норме в желудочно-кишечном тракте плода. В постнатальном периоде выявляется в следовых количествах. Выводится из организма через печень с желчью, поэтому холестаза может быть причиной повышения уровня СА 19-9 в крови. У здоровых взрослых людей концентрация СА 19-9 в крови составляет 0–34 ЕД/мл. Повышение уровня СА 19-9 специфично для рака поджелудочной железы, а также для гепатоцеллюлярной карциномы, рака пищевода и толстой кишки. По концентрации СА 19-9 в крови можно судить об операбельности опухоли — при уровне выше 1000 ЕД/мл в 95% случаев опухоль неоперабельна. Неспецифическое повышение уровня СА 19-9 возможно при панкреатите, холестазе, циррозе печени, муковисцидозе.

СА 72-4 (carbohydrate antigen 72-4) — это муциноподобный гликопротеин, который в норме экспрессируется эпителиоцитами плода и почти не выявляется у взрослых. Повышение уровня СА 72-4 характерно для метастатического рака железистого генеза — рака легкого, толстой кишки, желудка, яичников. СА 72-4 является главным онкомаркером рака желудка, вторичным маркером для слизеобразующей карциномы яичника и бронхогенного немелкоклеточного рака легкого. Концентрация СА 72-4 в крови здорового человека должна быть в пределах 4 Ед/мл. Чувствительность данного онкомаркера высока, однако возможно повышение уровня СА 72-4 при циррозе печени, аутоиммунных заболеваниях, доброкачественных опухолях желудочно-кишечного тракта, при панкреатите.

S 100 — семейство низкомолекулярных белков, содержащих в своей структуре два кальций-связывающих домена. Вовлечены в фосфорилирование белков, гомеостаз ионов кальция, дифференцирование и рост клеток, воспалительные реакции. Повышение концентрации S 100 в крови выше 0,11 мкг/л специфично для меланомы, рака молочной железы, простаты, яичника, желудка.

В таблице 3 представлены наиболее часто анализируемые онкомаркеры.

Онкомаркеры, применяемые в клинике

Название онкомаркера	Границы нормы	Специфическая опухоль, ассоциированная с повышением уровня онкомаркера
ПСА	до 4 нг/мл	карцинома простаты
РАР	до 2,6 МЕ/л	
ХГЧ	до 5 МЕ/мл	хориокарцинома
АФП	до 6,67 Ед/мл	первичный рак печени метастатические опухоли печени рак желудка, пищевода рак поджелудочной железы
Бета-2-микроглобулин	до 2,4 мг/л	гемобластозы множественная миелома лимфома
РЭА	до 3,8 нг/мл	колоректальный рак рак желудка, поджелудочной железы рак легкого рак молочной железы
NSE	до 17 нг/мл	мелкоклеточный рак легкого нейробластома нейроэндокринные опухоли
CYFRA 21-1	до 3,3 нг/мл	рак легкого плоскоклеточный рак аденокарцинома толстой кишки
СА 15-3	до 30 Ед/мл	рак молочной железы
СА 19-9	до 34 Ед/мл	рак поджелудочной железы
СА 72-4	до 4 Ед/мл	рак желудка метастазирующий рак
S 100	до 0,11 мкг/л	меланома рак молочной железы

Контрольные вопросы

1. Какие критерии оптимальных онкомаркеров вы знаете?
2. Как классифицируют онкомаркеры?
3. Какие показания для исследования онкомаркеров вы знаете?
4. Какие онкомаркеры исследуют для диагностики карциномы простаты и хориокарциномы?
5. Перечислите 12 наиболее известных онкомаркеров. Для диагностики каких злокачественных новообразований они используются?
6. Какие опухолевые маркеры используют для диагностики рака молочной железы, назовите границы их нормы.
7. Какие онкомаркеры используют для диагностики рака легкого?
8. При каких заболеваниях, не связанных с новообразованиями, повышаются уровни специфических онкомаркеров?

3. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Ключевую роль в канцерогенезе играют генетические нарушения как при наследственных опухолевых синдромах, так и при спорадических ЗНО. Это обусловлено тем, что средовые факторы (канцерогены) оказывают свой эффект на развитие злокачественной трансформации опосредованно — путем индукции мутагенеза в геноме. При этом для возникновения трансформированного клеточного клона необходимо как минимум 5–9 мутаций в разных протоонкогенах и генах онкосупрессоров.

Протоонкогены являются нормальными клеточными генами, продукты которых участвуют в позитивном контроле клеточного роста. В результате активирующих мутаций они превращаются в онкогены, экспрессия которых может вызвать неконтролируемую клеточную пролиферацию.

Онкосупрессорные гены кодируют белки, регулирующие рост и деление клеток и обладающие противоопухолевым действием.

Для объяснения механизма образования ЗНО, в 1971 году Альфред Джордж Кнудсон предложил мутационную теорию канцерогенеза (двухударная модель), согласно которой ЗНО развивается в результате инактивации обоих аллелей TSG в одной клетке. При этом ЗНО развивается в дальнейшем из этой единственной клетки — моноклональное происхождение. Образующие клоны клеток в последовательных делениях разные дочерние клетки накапливают различные мутации, в результате чего возникает внутриопухолевая гетерогенность — следствие клональной эволюции (Рис. 3). При наследственных опухолевых синдромах мутация в одном из аллелей TSG одной мутации от родителей, а вторая мутация возникает уже в соматических клетках в нормальном аллеле. При спорадическом раке мутируют оба аллеля взрослого организма.

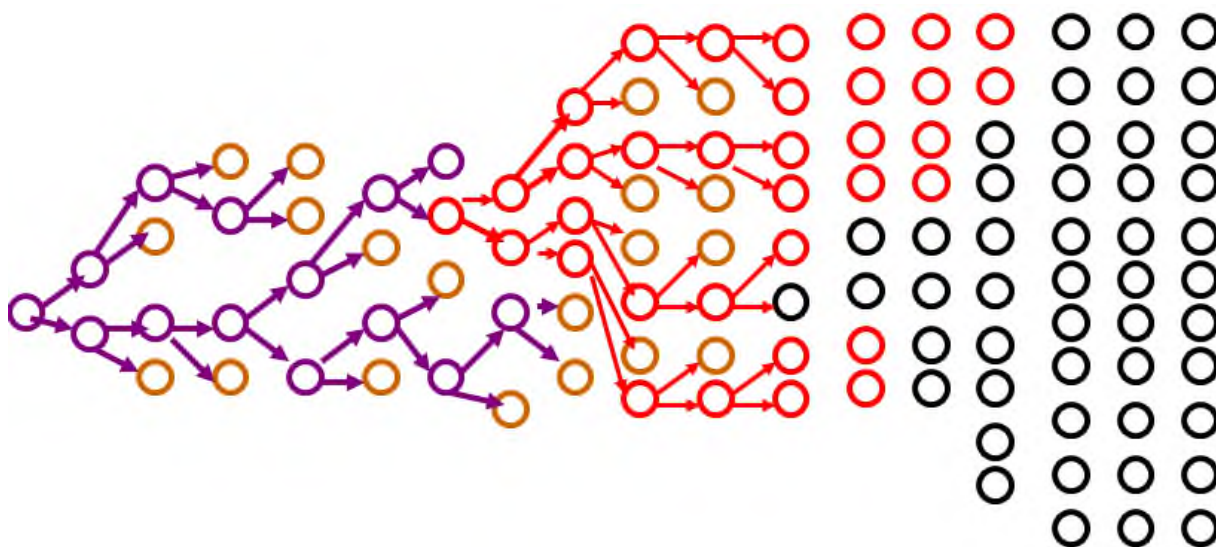


Рис. 3. Схема клональной экспансии в ЗНО.

Для специфических ЗНО характерны изменения в определенных генах. В зависимости от частоты встречаемости ($T, \%$) предрасполагающего к возникновению данной онкопатологии аллеля и величины относительно риска ее возникновения (RR — relative risk) выделяют три группы генов:

- 1) высокопенетрантные гены ($RR > 8, T < 0,1\%$);
- 2) среднепенетрантные гены ($RR > 3, T = 0,1-10\%$);
- 3) низкопенетрантные гены ($RR < 2, T > 20\%$).

Наибольшее значение имеет изучение высокопенетрантных генов, мутации в которых дают важную информацию о ЗНО. Так, при раке молочной железы к данной группе относятся гены *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*, *PTEN*; к среднепенетрантной группе — *CHEK2*, *ATM*, *BRIP*, *PABL2*, *BARD1*, *XRCC1*; к группе 3 — *NBS1*, *LSP1*, *CASP8*, *TNRC9*, *MAPK3K1*, *FGFR2*.

Для выявления мутаций в генах онкосупрессорах и протоонкогенах используются молекулярно-генетические методы исследования, которые подробно изложены в учебном пособии «Методы исследования в медицинской генетике» (Р.Н. Мустафин и др., 2020г.).

Молекулярно-генетические методы исследования являются важнейшими для диагностики ЗНО в мире. С их помощью проводится исследование

как наследственных опухолевых синдромов (выявление специфических для каждого заболевания мутаций), так и спорадических случаев ЗНО.

Для выявления мажорных (известных часто встречающихся) мутаций и протяженных делеций используется ПДРФ-анализ.

Для идентификации новых точковых мутаций в генах-онкосупрессорах можно использовать таргетное секвенирование.

Так как для развития опухолей важное значение имеет эпигенетическая инактивация антионкогенов, проводится метилспецифичная ПЦР (определение характера метилирования специфических локусов генома), а также анализ экспрессии микроРНК, ассоциированных с развитием ЗНО.

Наиболее удобными и быстрыми методами молекулярно-генетической диагностики ЗНО являются биочипы, при помощи которых можно выявлять как специфические мутации, так и определять уровни экспрессии определенных генов.

Для поиска кандидатных генов, вовлеченных в механизмы развития спорадических ЗНО, наиболее информативными являются масштабные исследования, к которым относится GWAS и полное секвенирование генома.

Для проведения молекулярно-генетических методов используют как ДНК, выделенную из крови, буккального соскоба, слюны, так и из тканей опухолей. Последние обладают особой диагностической ценностью при наследственных опухолевых синдромах, так как позволяют выявить второе генетическое событие в гене онкосупрессора.

Контрольные вопросы

1. Назовите минимальное количество мутаций для трансформирования клеточного клона.
2. Охарактеризуйте протоонкогены и онкосупрессоры.
3. В чем заключается двухударная модель канцерогенеза Кнудсона?
4. Какие гены относятся к высокопенетрантным для развития ЗНО?
5. Какие молекулярно-генетические методы используют для выявления мажорных мутаций в генах онкосупрессорах?
6. Какой метод исследования используется для поиска кандидатных генов развития спорадических ЗНО?

4. ПРОТООНКОГЕНЫ И ОНКОГЕНЫ

Протоонкогены появились в эволюции еще до разделения насекомых и хордовых более 800 миллионов лет назад. Предполагается, что формирование протоонкогенов имеет прямое отношение к возникновению многоклеточных животных. В норме протоонкогены необходимы для позитивного контроля клеточного роста и экспрессируются в различных тканях организма и контролируются сигнальными системами.

Онкогенами называют мутантные аллели протоонкогенов, которые вызывают усиленную пролиферацию клеток. Причиной могут быть активирующие мутации в промоторной области гена или в белок-кодирующих последовательностях. На клеточном уровне онкогены оказывают доминантный эффект — достаточно одного мутантного аллеля для злокачественной трансформации клетки. В результате мутации происходит дизрегуляция, автономность клетки, способность к неконтролируемому размножению. Однако активация одного онкогена почти всегда компенсируется — для злокачественной трансформации необходимо сочетанное нарушение в нескольких онкогенах.

К онкогенам относятся регуляторы апоптоза, ядерные ТФ, факторы роста и их рецепторы, а также белки передачи сигнала от мембраны к ядру клетки (Табл. 4). Так как передача сигнала от одного белка к другому проводится при помощи фосфорилирования, многие онкогены обладают активностью протеинкиназ. Самым известным онкогеном является *HER2* (*Human Epidermal growth factor 2*), продукт которого, рецепторная тирозинкиназа, способна к самостоятельной передаче сигналов от мембраны к ядру, а также к гетеродимеризации с другими белками семейства HER. Около 25% случаев рака молочной железы сопровождаются гиперэкспрессией *HER2*. Чаще всего в ЗНО выявляют мутации в генах *RAS* — в 25% всех неоплазм и до 90% определенных типов рака (например, поджелудочной железы). Белки Ras функционируют как сигнальные молекулы-переключатели, контролирующие

целостность актинового цитоскелета, пролиферацию, дифференцировку, клеточную адгезию, апоптоз и миграцию.

Таблица 4

Классы наиболее известных белков протоонкогенов

Класс	Функция продукта экспрессии гена	Продукты онкогенов
I	Факторы роста	EGF, FGFA, FGFB, GDNF, HST1, INT2, WNT1/WNT3, PDGFB, TGFA, TGFB, VEGF
II	Тирозинкиназы Рецепторные	EGFR/ERBB, ELK, EPH, FMS, HER/NEU, KIT, MET, RET, ROS, SEA, TRK
	Тирозинкиназы Нерецепторные	ABL, CSK/CYL, FGR, FPS/FES, FYN, HCK, LCK, LYN/SYN, SRC
III	Некиназные Рецепторы	MAS, MPL
IV	G-белки, ассоциированные с мембраной	GSP, HARAS, KRAS, NRAS
V	Белки, связывающие комплексы Rho/Rac	BCR, DBL
VI	Цитоплазматические сериновые киназы	BCR, MOS, PIM1, RAF/MIL
VII	Цитоплазматические регуляторы	BCL1, CRK
VIII	Транскрипционные факторы	BCL3, ETS, EVI1, FOS, JUN, MYB, MYC, REL, TAL1, SK1
IX	Регуляторы апоптоза	BCL2A, BCL2B, BAX

К наследственным опухолевым синдромам, связанным с герминативными мутациями в протоонкогенах, относится множественная эндокринная неоплазия II типа. Данная патология вызвана мутацией протоонкогена *RET* (*rearranged during transfection*), кодирующего рецептор тирозинкиназы — члена семейства нейротрофического линейного клеточного глиального фактора — внеклеточных сигнальных молекул. Доказана ассоциация инактивирующих мутаций в гене *RET* с болезнью Гиршпрунга. Активирующие мута-

ции в данном гене вызывают развитие ЗНО, включая феохромоцитому и карциному щитовидной железы. Ген *RET* локализован на 10q11.2.

В малигнизированных клетках наблюдаются нарушения в системах репарации ДНК, уменьшение точности репликации ДНК, ослабление функции контрольных точек клеточного цикла при повреждениях ДНК и ослабление апоптоза. Поэтому делящиеся клетки с генетической нестабильностью выживают и сохраняют способность к пролиферации (Рис. 4). Понижение точности репликации ДНК в неоплазмах вызвано усилением синтеза и активности низкоточных полимераз, что может быть обусловлено экспрессией таких онкогенов, как *RAS*, *ABL*, *BCR*.

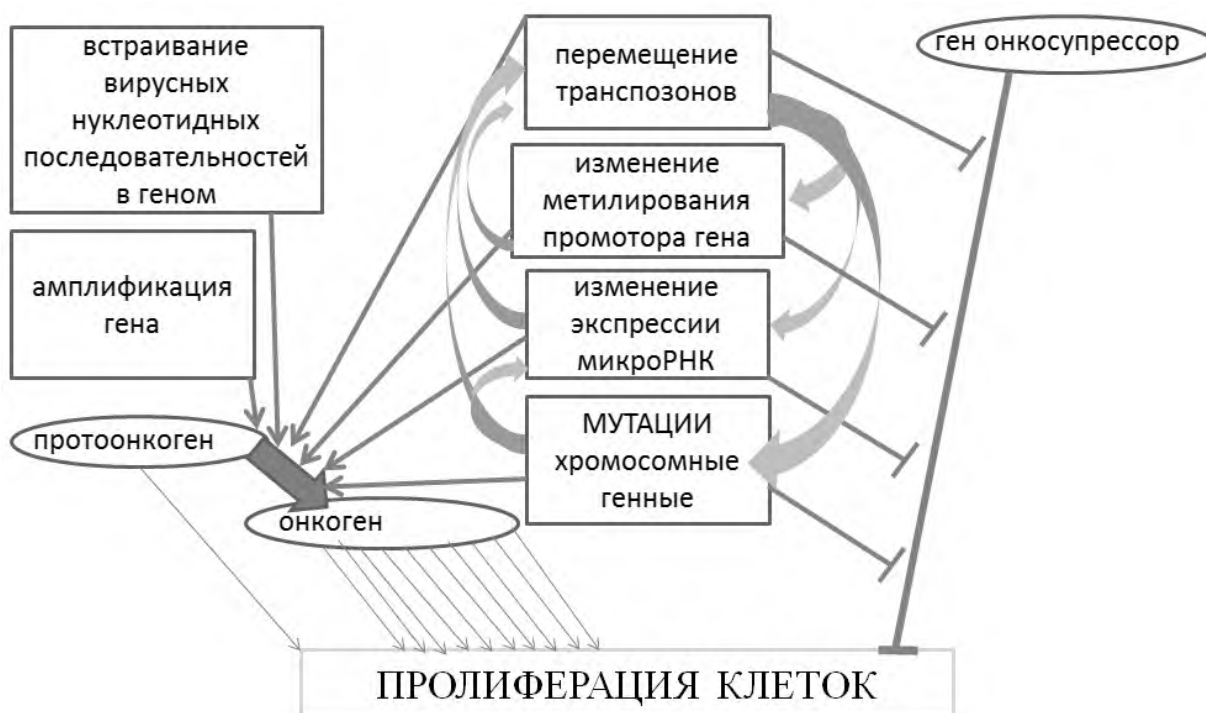


Рис. 4. Механизмы канцерогенеза.

Важную роль в развитии ЗНО играют вирусные онкогены. Еще в 1946 году Лев Александрович Зильбер опубликовал работу «Вирусная теория происхождения злокачественных опухолей», согласно которой вирусы встраивают свои геномы в ДНК клеток и вызывают их трансформацию в

опухолевые. При этом ДНК вирусного происхождения становится составной частью генома пораженной клетки.

Вирусные онкогены могут быть гомологичными ДНК клеток эукариот, что говорит об их возможном филогенетическом родстве. Например, вирусные онкогены *mys*, *abl*, *ras* гомологичны протоонкогенам генома человека *MYS*, *ABL*, *RAS*. В настоящее время доказано онкогенное действие ретровирусов (вызывают лейкоз), папилломавирусов (рак шейки матки), аденовирусов (контагиозный моллюск), вирусов герпеса (инфекционный мононуклеоз, лимфомы, сарком Капоши), РНК-содержащего флавивируса гепатита С и ДНК-содержащего гепаднавируса гепатита В (рак печени), РНК-содержащего Т-лимфотропного вируса человека (Т-клеточный лейкоз взрослых), ДНК-содержащего полиомавируса клеток Меркеля (рак кожи), ДНК-вируса Эпштейна-Барр (лимфогранулематоз, лимфома Беркитта).

Папилломавирусы человека (ДНК-вирусы) вызывают образование плоскоклеточных эпителиальных поражений с низкой дифференцировкой, которые в 10% случаев прогрессируют до тяжелых осложнений, в том числе рака. С высоким риском рака ассоциированы только определенные генотипы папилломавирусов (HPV 16, 18, 31, 33, 39, 50, 59, 64, 68, 70). При этом для развития рака характерна усиленная экспрессия E6 и E7 генов папилломавирусов, которые связываются с p53 и pRb, инактивируя их. Кроме того, происходит интеграция вирусной ДНК в геном хозяина с нарушением структуры вирусных генов E2 и хромосомного локуса хозяина и молекулярные повреждения ключевых регуляторов клеточного цикла.

Белок X вируса гепатита В (ДНК-вирус) взаимодействует с онкосупрессором p53, нарушая его регуляторную функцию. Десятки проспективных когортных исследований показали, что хроническая инфицированность вирусами гепатитов В и С в более чем в 100 раз повышает риск развития гепатоцеллюлярного рака.

С вирусом Эпштейна-Барр (ДНК-вирус), ассоциированы большинство случаев лимфомы Беркитта. Моноклональность EBV в опухолевых клетках и

экспрессия белка LMP-1 являются подтверждением этиологической связи между EBV и лимфогранулематозом. Подтверждена этиологическая роль EBV для рака носоглотки и лимфогранулематоза.

Около 90% больных Т-клеточным лейкозом серопозитивны к вирусу Т-клеточного лейкоза взрослых (РНК-вирус) даже в неэндемичных районах, где частота носительства HTLV I в популяции не превышает 1% в неэндемичных районах и 8% в эндемичных.

Инфицирование вирусом герпеса человека 8-го типа (ДНК-вирус) и ВИЧ-инфицированность ассоциированы с развитием саркомы Капоши (множественные злокачественные новообразования кожи).

Опухолевой прогрессии способствуют также эндогенные ретровирусы человека, которые относятся к РНК-транспозонам, как предполагается, в эволюции произошли от экзогенных ретровирусов. Определенные факторы внешней среды, повышающие риск малигнизации, стимулируют транскрипцию HERV и деметилирование их промоторов, что подтверждает идею о том, что транспозиция может быть причинным механизмом рака. Количество компонентов транспозонов, как транскриптов, так и белков, возрастает в неоплазмах в сравнении с нормальной тканью. В соответствии с более высоким уровнем экспрессии транспозонов, метилирование их промоторов при раке снижается. Оба феномена коррелируют с ухудшением прогноза и увеличением количества метастазов.

Контрольные вопросы

1. Назовите механизмы превращения протоонкогенов в онкогены.
2. Назовите классы протоонкогенов и их представителей.
3. Какие наследственные опухолевые синдромы связаны с герминативными мутациями в протоонкогенах?
4. Кто сформулировал вирусную теорию происхождения ЗНО?
5. Назовите онкогенные вирусы.

5. ОНКОСУПРЕССОРЫ

К онкосупрессорам относятся белки, регулирующие нормальную пролиферацию и дифференцировку клеток, необходимые для развития и поддержания физиологической регенерации зрелого организма человека.

Большинство онкосупрессоров прямо или опосредованно участвуют в регуляции жизненно-важных функций (Табл. 5):

- 1) блокируют клеточный цикл (продукты генов *ATM*, *CDKN2A*, *CHEK2*, *LKB1*, *PTEN*, *RBI*, *STK11*, *TP53*);
- 2) активируют системы репарации ДНК (продукты генов *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2*, *MGMT*, *MLH1*, *MSH2*, *MUN*);
- 3) регулируют апоптоз (*PTEN*, *TP53*, *APAF1*);
- 4) участвуют в контроле адгезии клеток (*APC*, *PTCH1*, *PTEN*);
- 5) регулируют транскрипцию (*HIC1*, *WT1*).

Один и тот же онкосупрессор может участвовать в различных путях, направленных на подавления роста опухолей. Это обусловлено сложностью строения онкосупрессорных белков, которые могут содержать несколько функциональных доменов.

Для развития ЗНО необходимо наличие инактивирующих мутаций обоих аллелей гена онкосупрессора. При наследственных опухолевых синдромах один из аллелей уже инактивирован во всех клетках организма, поэтому случайные мутации второго аллеля, вероятность которых значительно выше, чем обоих аллелей, могут вызвать злокачественную трансформацию клетки. Для того чтобы развилось спорадическое ЗНО, необходимы мутации обоих аллелей в соматических клетках — вероятность данного события значительно ниже. Этим объясняется высокий процент развития доброкачественных и злокачественных новообразований при наследственных опухолевых синдромах по сравнению со здоровыми людьми.

Функции белков-онкосупрессоров

Ген	Название белка	Функция белка
<i>APAF-1</i>	АРАF1 (Apoptotic protease activating factor 1)	регуляция апоптоза, активация про-каспазы-9 в цитохром-АТФ-зависимых путях
<i>APC</i>	APC (Adenomatous Polyposis Coli)	регуляция активности beta-катенина
<i>ATM</i>	серин/треониновая протеинкиназа (Ataxia-Telangiectasia Mutated)	репарация ДНК и контроль клеточного цикла при повреждении ДНК
<i>AXIN1</i>	AXIN	взаимодействие с Wnt путями, индукция апоптоза
<i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i>	BRCA(Breast Cancer1)	репарация повреждений ДНК
<i>CDH1</i>	Cadherin 1	регуляция адгезии клеток
<i>CDKN2A</i>	cyclin-dependent kinase inhibitor 2A	ингибирование CDK4 и CDK6, активация Rb и p53, регуляция клеточного цикла
<i>CHEK2</i>	Checkpoint Kinase2	поддержание стабильности генома, контроль репарации и деления
<i>DCC</i>	DCC (Deleted in Colorectal Carcinoma)	рецептор для белка Netrin в аксонах, сигнальная трансдукция
<i>HIC1</i>	HIC1 (Hyper-methylated In Cancer)	белок цинковых пальцев, регуляция транскрипции
<i>MEN1</i>	Menin	компонент комплекса гистоновой метилтрансферазы
<i>MGMT</i>	Methylguanine-DNA Methyltransferase	репарация повреждений алкилирующими агентами ДНК
<i>MLH1</i>	MutL homolog 1	система репарации неспаренных оснований ДНК
<i>MSH2</i>	MutS homolog 2	
<i>MУH</i>	MutY Homolog	эксцизионная репарация ДНК
<i>NBN</i>	Nibrin	активирует онкосупрессоры при повреждении ДНК
<i>NF1</i>	Нейрофибромин	ингибирование Ras-системы

Ген	Название белка	Функция белка
<i>NF2</i>	мерлин (шванномин)	контактное подавление пролиферации клеток
<i>PTCH1</i>	Patched protein homolog 1	рецептор для белка SHH (sonic hedgehog), регуляция Hedgehog-сигналов, клеточной адгезии
<i>PTEN</i>	Phosphatase and tensin homolog	регуляция апоптоза, адгезии и миграции клеток, подавление клеточного деления в G1-фазе
<i>RB1</i>	pRb (retinoblastoma protein)	комплексы с ТФ и белками ремоделирования хроматина
<i>SMAD2</i>	Mathers Against Decapentaplegic	участие в TGF-beta путях, ингибирование mTOR
<i>SMAD3</i>		
<i>SMAD4</i>		
<i>STK11</i>	Serine-threonine kinase 11	ингибирование mTOR, арест G1-цикла, действие на Wnt- путь, взаимодействие с p53
<i>LKB1</i>	Liver Kinase B1	
<i>TP53</i>	tumor protein p53	регуляция апоптоза, репарации ДНК и клеточного цикла
<i>TSC1</i>	tuberous sclerosis protein (туберин)	активация p53 путем ингибирования mTOR
<i>TSC2</i>		
<i>VHL</i>	von Hippel-Lindau protein	регуляция белка HIF1 alfa, ингибирование гена <i>VEGF</i>
<i>WT1</i>	Wilms Tumor 1 protein ДНК-связывающийся белок цинковых пальцев	регуляция транскрипции, дифференцировки мочеполовой и мезотелиальной ткани

Инактивации одного или обоих аллелей гена онкосупрессора, вызывающие развитие ЗНО, может быть вызвана различными механизмами (Рис. 5):

- 1) внутригенные мутации, вызывающие образование аномального белкового продукта, не способного выполнять необходимую функцию;
- 2) делеция локуса хромосомы, в котором расположен ген онкосупрессора (если данное явление происходит во втором аллеле при наследственном опухолевом синдроме, то говорят о потере гетерозиготности);

3) метилирование промоторной области гена, вызывающее подавление его экспрессии.

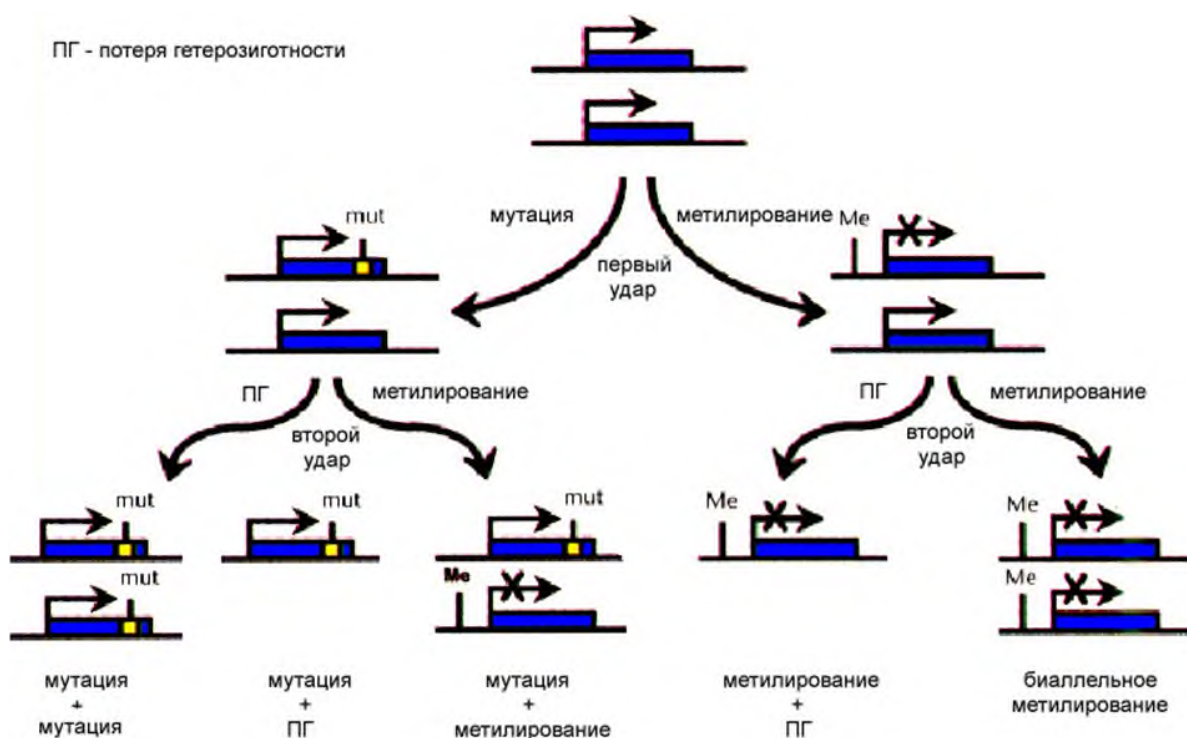


Рис. 5. Схема двухударной модели Кнудсона.

Чаще всего во всех спорадических ЗНО (более 50%) обнаруживаются мутации в гене *TP53*, который экспрессируется во всех клетках организма и кодирует фактор транскрипции p53. Последний участвует в регуляции клеточного цикла, апоптозе и стабилизации генома (Рис. 6).

Высокую частоту инактивации белка p53 в ЗНО можно объяснить его способностью устранять генетическую нестабильность, возникшую при повреждении ДНК путем ареста клетки для необходимой репарации генома. Сходной функцией обладает также продукт гена *Rb1*. Данные белки являются ТФ, которые взаимодействуют с регуляторными областями генов, управляющих репарацией ДНК, апоптозом и пролиферацией клеток.

Герминативные мутации генов-онкосупрессоров являются причинами развития наследственных опухолевых синдромов (таблица 6).

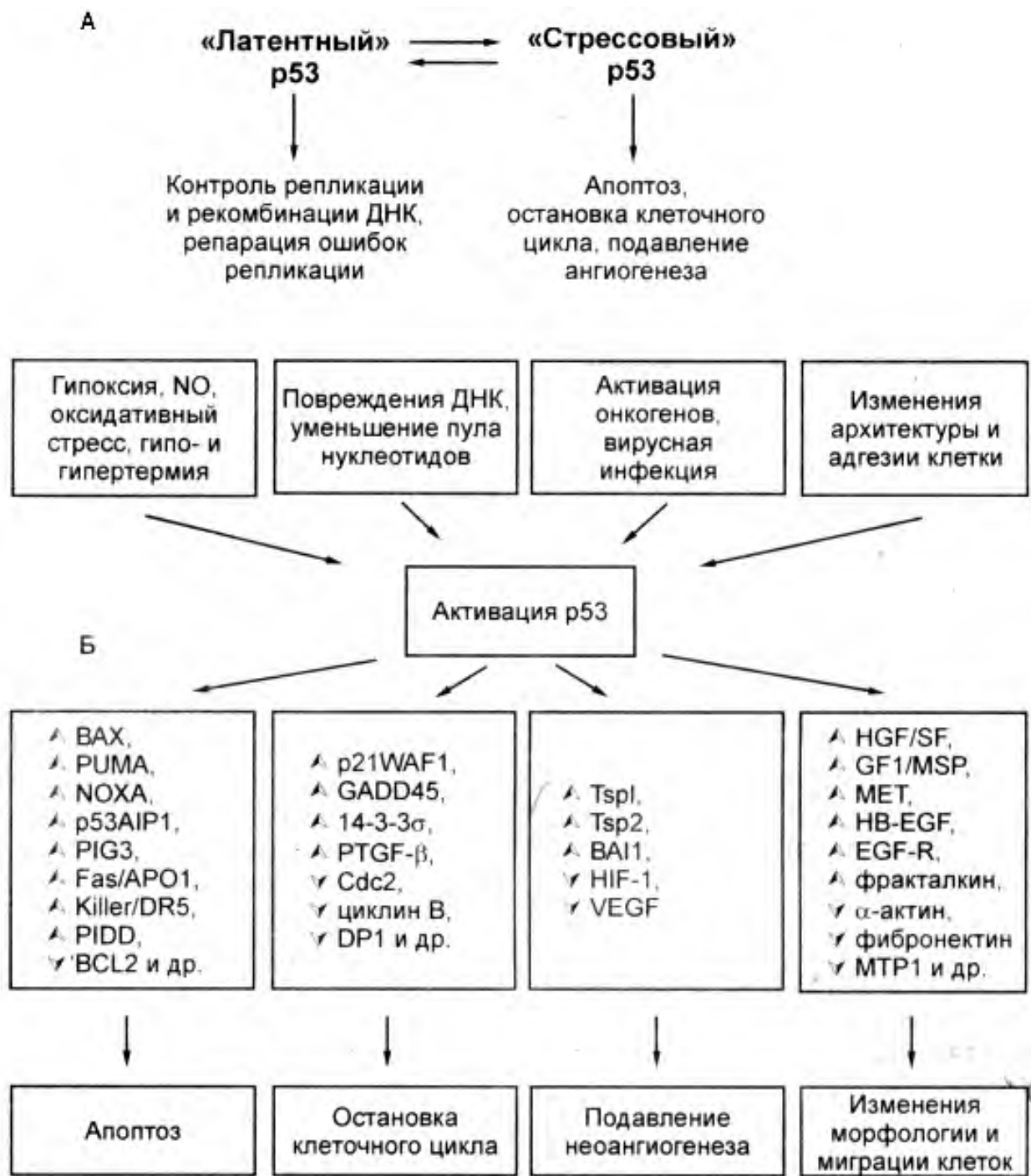


Рис. 6. Функции белка p53 у человека. А — функции различных форм p53. Б — активирующие экспрессию p53 факторы, его целевые гены и результаты их активации или супрессии (Заридзе, 2004).

**Наследственные опухолевые синдромы
и их клинические проявления**

Нозология	Специфические клинические черты
Наследственный РМЖ	Рак молочной железы
НФ1	Пигментные светло-коричневые пятна на коже. Кожные и подкожные нейрофибромы, глиомы зрительных нервов, гамартомы радужки. Злокачественные опухоли оболочек нервов
Туберозный Склероз	Шагреновые бляшки и пятна гипопигментации на коже. Ангиофибромы лица, подногтевые фибромы. Гамартомы головного мозга и глаз. Рабдомиомы сердца и ангиолипомы почек.
Наследственная ретинобластома	Злокачественная опухоль сетчатки глаз.
Синдром Гиппеля-Линдау	Гемангиобластома мозжечка. Ангиомы спинного мозга. Поликистоз почек. Гемангиомы сетчатки глаз.
НФ2	Пигментные светло-коричневые пятна на коже. Кожные и подкожные нейрофибромы. Невриномы слуховых нервов.
Синдром Луи-Бар	Атаксия и телеангиэктазия. Лейкозы и лимфомы.
Синдром Горлина-Гольца	Базальноклеточный рак. Врожденные пороки развития.
Синдром Пейтца-Егерса	Темные пигментные пятна на лице и слизистой рта. Множественные полипы ЖКТ.
Опухоль Вильмса	Высокозлокачественная нефробластома детей
Синдром Коудена	Полипы ЖКТ. Рак матки и щитовидной железы, РМЖ.
Синдром Ли-Фраумени	Саркомы, лейкоз, опухоли надпочечников, РМЖ.

Важную роль в патогенезе ЗНО играет нарушение адгезии клеток. Продукты онкосупрессорных генов *CDH1* и *APC* подавляют инвазию клеток — процесс, важный для прогрессирования ЗНО, так как злокачественные клетки

характеризуются инфильтративным ростом. Продукт гена *CDH1* — белок E-кадхерин, регулирующий кальций-зависимую адгезию клеток. Продукт гена *APC* взаимодействует с E-кадхерином, а также с β -катенином в Wnt-сигнальных путях. Продукт гена *PTEN* также участвует в регуляции клеточной адгезии.

Одними из наиболее известных генов-онкосупрессоров являются *BRCA1* и *BRCA2*, герминативные мутации в которых являются причиной 25% случаев рака яичников, а также вызывают наследственный рак молочной железы. Продукты данных генов входят в состав белкового комплекса, включающего также белки *MLH1*, *MSH2* и *ATM*, который репарирует поврежденную ДНК. Биаллельная инактивация генов *BRCA* происходит нарушение репарации разрывов двунитевой ДНК, что ведет к генетической нестабильности и дальнейшему накоплению мутаций в геноме пораженных клеток. Кроме того, более чем в 50% клеток РМЖ выявляется биаллельная инактивация гена *ATM*, продукт которого также участвует в репарации ДНК и контроле клеточного цикла при повреждении ДНК. В репарации неспаренных оснований ДНК участвуют продукты генов *MSH2* и *MLH1*.

Контрольные вопросы

1. Какие онкосупрессоры регулируют транскрипцию?
2. Какие онкосупрессоры регулируют апоптоз?
3. Назовите онкосупрессоры, участвующие в контроле адгезии клеток.
4. Какие онкосупрессоры активируют системы репарации ДНК?
5. Назовите онкосупрессоры, блокирующие клеточный цикл.

6. МУТАЦИИ «ДРАЙВЕРЫ» И МУТАЦИИ «ПАССАЖИРЫ»

Сегодня известно, что геном каждой опухоли содержит множество генетических и эпигенетических изменений, которые появляются еще до возникновения самой опухоли. Однако, только малая часть таких изменений происходит в драйверных генах, мутации в которых придают опухолевой клетке преимущество в скорости роста по сравнению с окружающими клетками. Концепция «драйверных» мутаций и мутаций «пассажиры» является важнейшим компонентом канцерогенеза.

Мутации, повышающие приспособленность опухолевых клеток, называют «драйверными», тогда как нейтральные или негативные нарушения — «пассажирами». Предполагается, что для большинства онкологических заболеваний драйверными являются порядка 140–200 генов, которые задействованы в ограниченном числе регуляторных путей, определяющих рост и судьбу клетки.

Установлено, что каждая драйверная мутация обеспечивает клетке лишь небольшое селективное преимущество роста. Однако в течение многих лет это небольшое увеличение может привести к большой массе, содержащей миллиарды клеток. Остальные мутации («пассажиры») возникают случайно в процессе эволюции клеток к злокачественному фенотипу, частота их встречаемости при конкретном онкологическом заболевании существенно ниже, чем мутаций в драйверных генах, и, как полагают, не оказывают существенного влияния на эволюцию опухоли.

Например, при аденокарциноме поджелудочной железы, одной из наиболее агрессивных опухолей, чаще всего встречаются мутации в генах *KRAS* (у 90% больных), *CDK2NA* (у 90% больных), *TP53* (у 75–90% пациентов), *DPC4/SMAD4* (у 50% больных). При других видах рака преобладают мутации в других драйверных генах. Считается, что в случае солидных опухолей у взрослых достаточно появления от 3 до 6–7 мутаций в драйверных генах, чтобы клетка приобрела злокачественный потенциал. Эти же цифры,

полученные на основании данных эпидемиологических исследований и полногеномного секвенирования, относятся к раку легкого и толстой кишки.

Сегодня благодаря активному внедрению метода полногеномного секвенирования, было выявлено много новых классов генов, задействованных в развитии опухоли. Так, обнаружение генов с низким уровнем экспрессии может указывать на совершенно новые пути развития опухоли. В связи с этим, становится очевидным, что для каждой опухоли может существовать гораздо больше драйверных генов, чем три или 6–7, как это предполагалось ранее. Согласно базе данных Driver Database для аденокарциномы легкого, например, существует 290 драйверных генов, а для аденокарциномы толстой кишки — 177.

При определении понятий «драйверных» и «пассажирских» мутаций следует учитывать, что и те и другие могут превращаться друг в друга в зависимости от условий и генетического фона опухоли. В частности, М. Герлингер (Gerlinger M., 2014) отмечает, что различие между «драйверными» и «пассажирскими» мутациями в опухоли может быть динамичным, поскольку наиболее приспособленные генотипы различны при разных видах рака, в разные моменты времени развития опухоли, а также в разных ее участках. Это связано с тем, что селективное преимущество любого генотипа зависит от окружающей среды, которая в случае опухоли должна трактоваться в широком смысле, включая спектр экспрессии генов и белков, мутации и эпигенетические изменения, уже имеющиеся в этой клетке, ближайшее микроокружение, отдаленно действующие факторы (например, гормоны) и внешние факторы, воздействующие на хозяина (например, канцерогены и препараты, используемые для лечения). Следует иметь в виду, что опухоли на поздней стадии не всегда зависят от «драйверов», работавших на ранней стадии.

Клональная гипотеза опухолевого процесса (Nowell P.C., 1976), дополненная моделью естественного отбора Чарльза Дарвина, говорит о том, что опухолевая прогрессия является результатом повышения генетической нестабильности в первичном клоне, приобретения клеточными субпопуляция-

ми новых генетических нарушений, и, поскольку они обладают конкурентными преимуществами в условиях селективного давления внешних факторов, происходит обособление их в дочерние субклоны (Fisher R., 2013). Все это применимо и для понимания природы внутриопухолевой гетерогенности. Подтверждением служит исследование Charles Swanton с коллегами, которые провели молекулярно-генетический анализ различных участков первичной опухоли почки и ее метастазов. Они установили, что из всего пула найденных мутаций почти две трети не были представлены в каждом из проанализированных образцов, только 30–35% мутаций были общими для всех образцов из разных участков одной и той же опухоли. Наблюдалась гетерогенность и по драйверным мутациям: различные мутантные варианты *SETD2*, *KDM5C*, *mTOR* и ряда других генов присутствовали в разных опухолевых сегментах, а мутации в гене *SETD2* — и в метастазах. Лишь мутация гена опухолевого супрессора *VHL* была обнаружена во всех образцах.

Опухолевый процесс и развитие внутриопухолевой гетерогенности носят клональный характер и подобны растущему дереву или эволюционному дереву жизни Ч. Дарвина. Мутации, существующие во всех опухолевых клетках (ствол и все ветви дерева), получили название «первичные драйверные мутации». Такие мутации являются основным триггером опухолевой трансформации нормальных клеток и приводят к образованию первичного опухолевого клона.

Генетическая нестабильность, создаваемая первичными драйверными мутациями, приводит к появлению новых нарушений в опухолевых клетках, часть из которых придает определенные селективные преимущества, проявляющиеся в появлении новых более жизнеспособных дочерних субклонов. Для обозначения такого рода нарушений был предложен термин «вторичная драйверная» мутация. Такие мутации детектируются только в конкретных опухолевых участках (или ветвях дерева).

Основное генетическое разнообразие опухоли обусловлено мутациями «пассажирами», определяющимися в одиночных опухолевых клетках. Пред-

полагается, что клональная архитектура опухоли как модели «растущего дерева» представлена тремя основными типами: «пальма», «каштан» и «баобаб». Опухоли, подобные пальмовому дереву, демонстрируют высокое содержание первичных драйверных мутаций и поэтому дают хороший терапевтический ответ. Напротив, опухоли по типу баобаба характеризуются большим генетическим разнообразием (основная доля мутаций – вторичные драйверы и пассажиры) и демонстрируют резистентностью к терапии. Вероятность ответа «опухолей-каштанов» на лечение занимает среднее положение между двумя предыдущими типами.

Современные исследования направлены чаще всего на изучение драйверных мутаций, действие которых считается основополагающим для возникновения и развития опухоли. Изменения же последовательности ДНК, характеризующиеся как «пассажирские» мутации, считаются чаще всего нейтральными, однако их фенотип систематически не проверялся. Хотя крайне патогенные «пассажирские» мутации отсеиваются отрицательным отбором, умеренно патогенные «пассажирские» мутации могут уклоняться от отрицательного отбора. Поскольку геномы раковых клеток могут содержать от сотен до тысяч «пассажирских» мутаций в белок-кодирующих генах, в совокупности они могут оказывать значительное влияние на процесс прогрессирования рака. Накопление «пассажирских» мутаций способно изменять динамику развития заболевания и может объяснить существование различных клинических проявлений, таких как медленное развитие, длительные периоды покоя, распространенность небольших субклинических форм рака, спонтанная регрессия и неоднородность в темпах роста.

Было показано, что, несмотря на умеренно патогенный эффект отдельных «пассажирских» мутаций, они накапливаются в больших количествах во время прогрессирования опухоли, снижая приспособленность раковых клеток и изменяя ход прогрессирования опухоли. Причинами этого может быть фенотип гена-мутатора, ускоряющего темпы и скорости накопления за счет малого размера популяции на ранних стадиях прогрессирования рака, эффект

«бутылочного горлышка», вызванный драйверными мутациями, пролонгация прогрессирования опухоли. Определение драйверных мутаций различных типов рака дает возможность создать прецизионную онкологию, которая позволит адаптировать лечение не только к определенному заболеванию, но и к генетическим особенностям конкретного человека.

Контрольные вопросы

1. Какие мутации называют «драйверными»?
2. Какие мутации относятся к «пассажирам»?
3. Кем была сформулирована клональная гипотеза опухолевого роста и в чем она заключается?
4. Что называют первичными и вторичными драйверными мутациями?
5. Какими основными типами представлена клональная архитектура опухоли как модели «растущего дерева»?

7. ХРОМОТРИПСИС И ХРОМОПЛЕКСИЯ В ОНКОЛОГИИ

Мутационные события, происходящие в злокачественной клетке, крайне разнообразны, начиная от однонуклеотидных замен и заканчивая глобальными перестройками целых хромосом. Геномная и хромосомная нестабильность характерны практически для всех типов опухолей. При этом, хромосомная нестабильность считается частным случаем геномной нестабильности, которая приводит к изменению структуры и числа хромосом в геноме клетки.

Одним из частых проявлений хромосомной нестабильности является хромотрипсис. Хромотрипсис — процесс фрагментирования и глобальной перегруппировки хромосом (Рис. 7). В результате данного процесса множество перегруппировок сосредоточивается на одной хромосоме или ее плече, затрагивая при этом большое количество генов и регуляторных элементов. Именно поэтому хромотрипсис создает потенциальную возможность быстрой эволюции за счет единовременного массивного изменения в структуре генома.

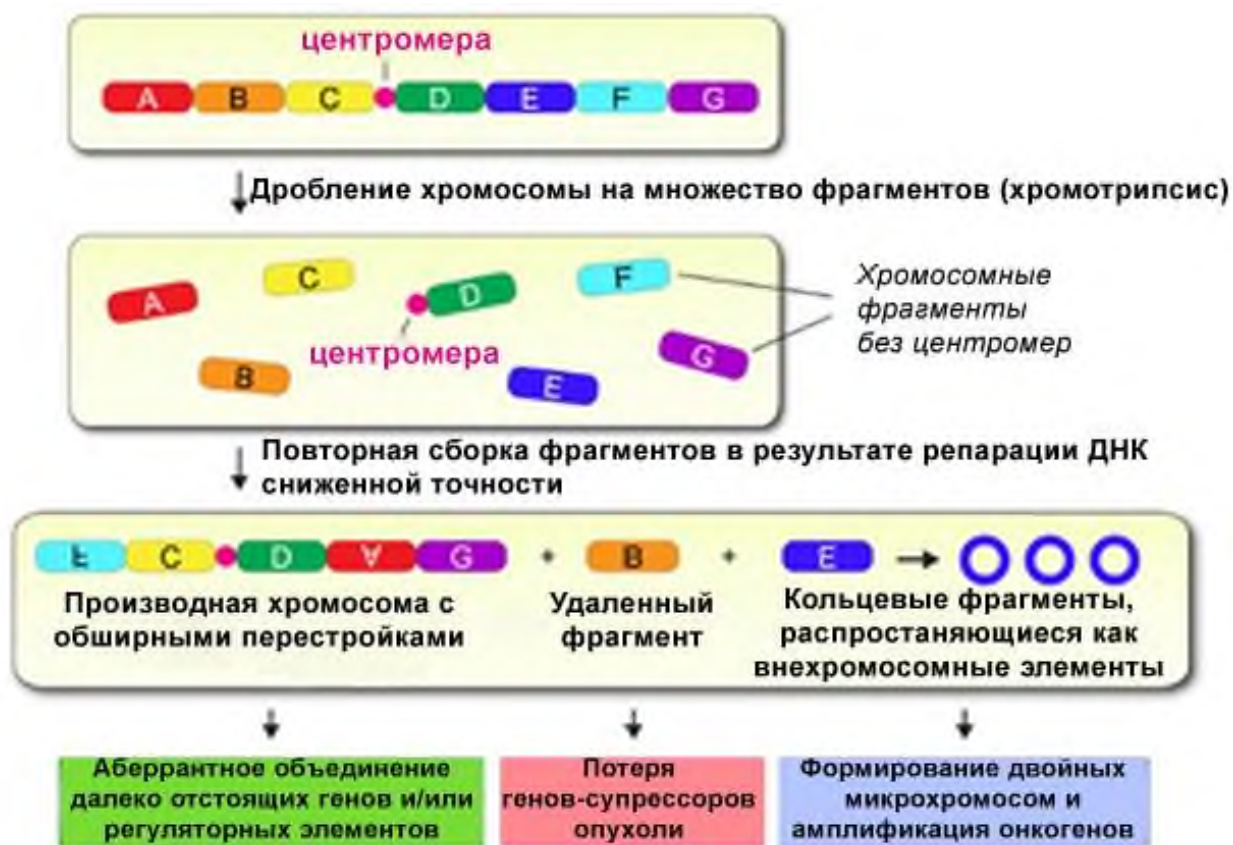


Рис. 7. Схематическое представление процесса хромотрипсиса (Lu P., Cleveland D.W., 2017).

Разрушение отдельной хромосомы может привести к образованию от десятков до сотен ацентрических фрагментов ДНК, которые сохраняются в качестве промежуточных соединений до тех пор, пока они не будут повторно лигированы и стабилизированы внутренними механизмами репарации ДНК. Эти фрагменты повторно собираются, образуя производную хромосому, содержащую множественные перестройки (хромотрипсис), теряются и/или самостоятельно лигируются в кольцевые структуры ДНК, называемые двойными микрохромосомами.

Согласно последним данным, хромотрипсис присутствует в 2–5% злокачественных опухолей, хотя при некоторых видах рака его частота выше (Hatch, Hetzer, 2015; Leibowitz, 2015). В клетках опухоли хромотрипсис может приводить к потере опухолевых супрессоров и нарушению регуляции генов, связанных с канцерогенезом, в частности, вызывать амплификацию онкогенов. Сегменты хромосом, которые не вошли в состав основной хромосомы при лигировании, могут образовывать так называемые двойные микрохромосомы (*double minute chromosomes*) — небольшие циклические внехромосомные ДНК, способные к амплификации. Если внутри них оказываются онкогены, такие как MYC, то они будут ускоренно амплифицироваться.

Потеря гена-супрессора опухоли *TP53*, который может остановить прогрессирование клеточного цикла в ответ на повреждение ДНК, также, по-видимому, является необходимым условием для хромотрипса. Современные экспериментальные модели для изучения хромотрипсиса в клетках человека демонстрируют необходимость инактивации p53 (Maciejowski J, 2015). Поэтому обход контрольной точки p53 является критически важным шагом к преодолению повреждений, сопровождающих хромотрипсис. Хотя подавляющее большинство нетрансформированных клеток, подвергающихся хромотрипсису, не выживают, такие случаи в раковых геномах являются редкими исключениями, которые подвергались клональному отбору и развитию злокачественности клеток. В целом, одна перестройка или их комбинация может стимулировать развитие рака посредством избирательных процессов.

Хромотрипсис является также причиной возникновения микронуклеусов, наличие которых может служить маркером нестабильности генома и повреждения ДНК (Рис. 8). Первоначальное предложение об этом появилось в 1968 году, когда Като и Сэндберг определили, что хромосомы в микронуклеусах подвергаются измельчению в митозе в результате неспособности завершить репликацию ДНК до входа в митоз. На выходе из митоза ядерные ламины и поровые комплексы перераспределяются вокруг вновь сегрегированных хромосомных масс, чтобы инкапсулировать геном в ядерной оболочке, в конечном итоге формируя ядро клетки. Хромосома, которая не может правильно сегрегироваться на одном из двух полюсов митотического веретена из-за неправильного прикрепления кинетохоры к микротрубочкам, будет производить микроядерную оболочку, собранную вокруг отстающих хромосом. Полученный микронуклеус пространственно изолирует одну или несколько неправильно сегрегированных хромосомы в небольшую ядрообразную структуру, которая расположена вне смежного первичного ядра. Поэтому микронуклеусы являются следствием ошибок сегрегации хромосом во время митоза.

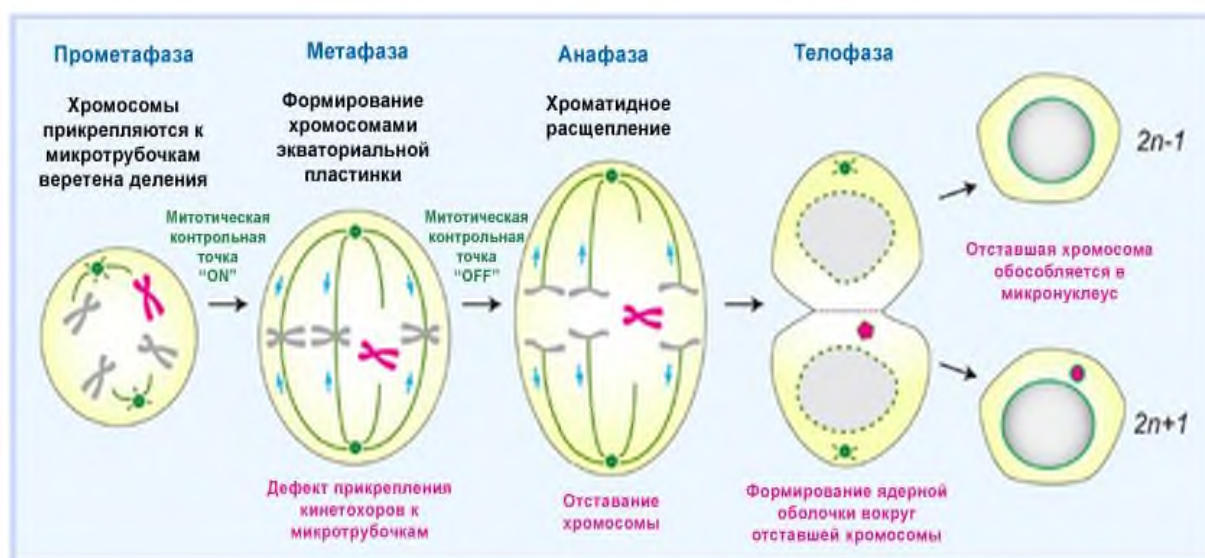


Рис. 8. Нарушение сегрегации хромосом во время митотического деления клеток могут приводить к захвату ДНК в микронуклеусе (Reese A.S., Hulse G.K., 2016).

Во время митоза, хромосома, которая не в состоянии встраиваться и/или формировать правильные биполярные веретенообразные микротрубочки-кинетохоры до начала анафазы может быть исключена во время физического разделения дублированного генома. Ядерная оболочка собирается вокруг неправильно сегрегированной хромосомы, образуя микронуклеус на выходе из митоза. Возможно, в определенных условиях хромотрипсис обеспечивает раковым клеткам селективные преимущества. Но более вероятно, что наблюдаемые хромотрипсисные клетки представляют собой малую часть клеток, которые «ухитрились выжить после катастрофы». Пока роль хромотрипсиса в качестве причинного фактора канцерогенеза неясна, хотя в некоторых случаях хромотрипсис ассоциируется с неблагоприятным исходом болезни. В качестве примера изучения хромотрипсиса при злокачественных новообразованиях можно привести исследование рака поджелудочной железы, в ходе которого была поставлена под сомнение традиционная ступенчатая парадигма прогрессирования данного типа рака. Была создана альтернативная модель, основанная на том, что акселерация ранних поражений поджелудочной железы по отношению к метастазированию происходит посредством событий, которые одновременно приводят к разнообразным онкогенным изменениям.

Секвенирование 107 геномов рака поджелудочной железы показали, что наряду с событиями дубликации генома (явление полиплоидии), хромотрипсис, затрагивающий по крайней мере одну хромосому, был обнаружен, как минимум в 2/3 рассмотренных случаев (Notta F, 2016). Также были обнаружены хромосомы, характеризующиеся признаками хромотрипсиса, которые конкурентно инактивировали несколько классических генов поджелудочной железы, включая *CDKN2A*, *SMAD4* и *TP53*. Известно несколько других одномоментных катастрофических перестроек при онкологических заболеваниях, например хромоплексия (chromoplexy) — катастрофическое событие, при котором множественные разрывы хромосом происходят по всему геному или одновременно во многих хромосомах, после чего образовавшиеся

фрагменты лигируются в процессе репарации ДНК так, что объединяются многие удаленные локусы генома (Рис. 9).

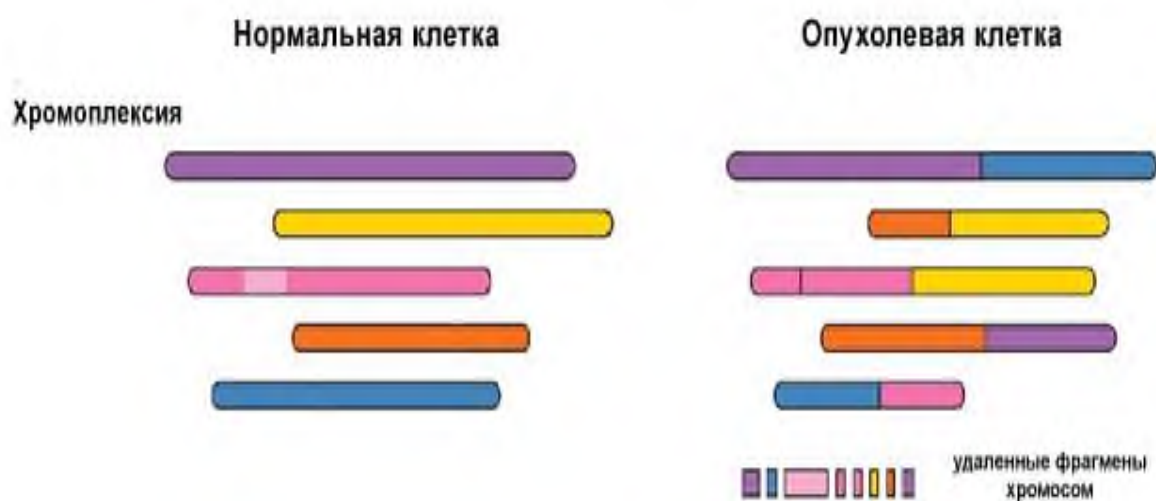


Рис. 9. Схематическое представление хромоплексии.

Хромоплексия отличается от хромотрипсиса, в частности тем, что включает сегменты многих хромосом, а не одной или двух, как в хромотрипсисе, и образует меньшее число перегруппировок. Кроме того, хромотрипсис, происходит в виде одного клонального события на ранней стадии прогресса опухоли, в то время как хромоплексия может встречаться более одного раза при раке предстательной железы, причем последовательные события обнаруживаются на клональных или субклональных частотах. Наконец, хромотрипсис представляет собой относительно редкое явление для всех типов опухолей, проанализированных до настоящего времени, в то время как хромоплексия является распространенным явлением при раке предстательной железы. Но различие между хромотрипсисом и хромоплексией недостаточно четко определены, и возможно, что некоторые согласованные структурные перестройки могут иметь промежуточные свойства.

Некоторые авторы используют понятие «геномного хаоса» (genome chaos) — процесса быстрой и хаотической реорганизации генома и выживания некоторых клеток с проявлениями этой хаотической катастрофы в виде

хромотрипсиса, хромоплексии и других подобных множественных перестроек. На сегодняшний день, наиболее полно охарактеризован геном опухолей предстательной железы, на долю которых приходится наибольшее количество злокачественных новообразований человека. Было показано, что солидные опухоли предстательной железы имеют крупномасштабные хромосомные перестройки и обширные изменения числа их копий, тогда как точковые мутации встречаются относительно редко. Предполагается, что структурные изменения в геномах опухолей представляют собой первичные драйверы прогрессирования рака предстательной железы (Barbieri et al., 2012).

В целом, хромоплексия и хромотрипсис, несомненно, являются ключевыми факторами развития опухоли. В отличие от традиционных «постепенных» представлений о последовательном накоплении раковых мутаций, крупномасштабные структурные изменения как хромоплексии, так и хромотрипсиса, вероятно, способствуют прерывистой эволюции опухоли в форме «прерывистого равновесия» (Vasa et al., 2013). Более того, дальнейшие дискретные этапы в развитии опухоли могут потенциально возникнуть в результате последовательного возникновения хромотрипсиса, сопровождаемого хромоплексией, или последовательных циклов хромоплексии. Моделирование причин и последствий таких геномных изменений будет серьезной задачей для биологов-онкологов, в то время как их влияние на реакцию и устойчивость к лечению создаст значительные клинические задачи.

Контрольные вопросы

1. Охарактеризуйте термин «хромотрипсис».
2. Для какой доли ЗНО характерен хромотрипсис?
3. О чем свидетельствует образование микронуклеосов и какова причина данного процесса?
4. Чем отличается хромоплексия от хромотрипсиса?
5. Охарактеризуйте термин «геномный хаос».

8. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ОПУХОЛЕВЫЕ СИНДРОМЫ

Наследственные опухолевые синдромы — это аутосомно-доминантные моногенные наследственные болезни, обусловленные мутациями в генах онкосупрессоров или протоонкогенов.

Частота встречаемости всех наследственных опухолевых синдромов в среднем по миру составляет около 1%. При этом они составляют до 10% всех ЗНО человека. К характерным признакам наследственных опухолевых синдромов относятся:

1) ранний возраст возникновения злокачественных новообразований, в среднем на 20–25 лет раньше, чем спорадический рак того же типа;

2) поражение после пика репродуктивной активности, то есть сохраняется вероятность оставить потомство и передать мутантные аллели, вызывающие рак, следующим поколениям;

3) фатальный риск возникновения новых злокачественных неоплазм (например, у женщин с наличием мутантного аллеля *BRCA1* после мастэктомии вероятность контралатеральной карциномы в ближайшие 10 лет = 50%);

4) возникновение множества опухолей;

5) меньшая гетерогенность фенотипа клеток в сравнении со спорадическими новообразованиями;

6) специфические морфологические и иммуногистохимические особенности (например, для рака яичника — серозный гистологический тип, для *BRCA1*-ассоциированного рака молочной железы — «трижды негативный» рецепторный статус);

7) доминантный тип наследования;

8) высокая частота встречаемости злокачественных неоплазм у кровных родственников.

Риск развития специфических новообразований при наследственных опухолевых синдромах составляет от 80 до 100%.

Самым распространенным наследственным опухолевым синдромом является **наследственный рак молочной железы**, встречающимся с частотой 1:400 женщин. Причина патологии — герминативные мутации в генах *BRCA1* (локализация 17q21) или *BRCA2* (13q13.1), продукты которых участвуют в репарации двойных разрывов ДНК (Рис. 10).

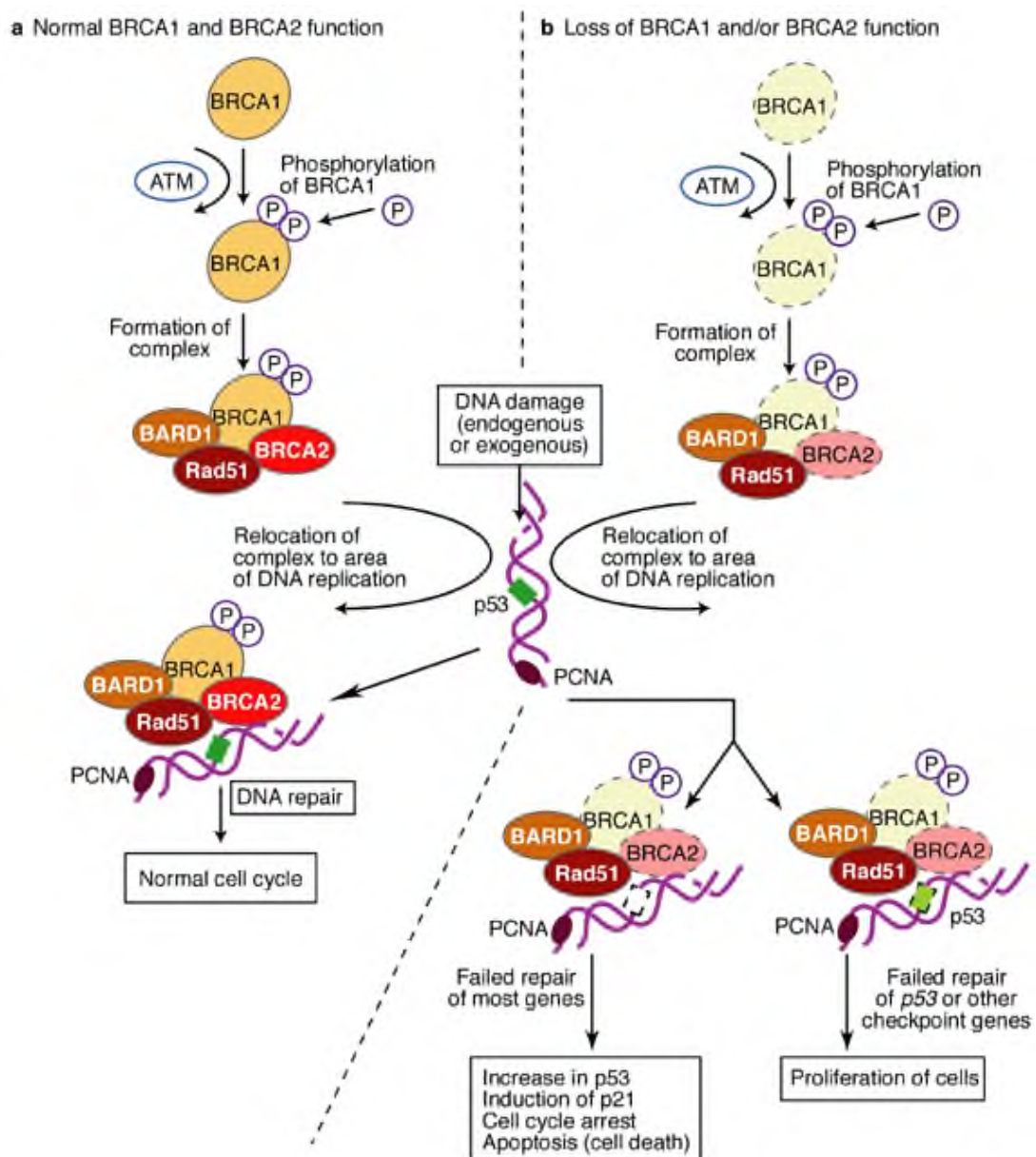


Рис. 10. Схема роли генов *BRCA1* и *BRCA2* в онкосупрессии (Expert Reviews in Molecular Medicine © 2001 Cambridge University Press).

Одной из причин развития рака в гормон-зависимых тканях молочной железы и яичника при мутации гена *BRCA1* является утрата контроля активации эстрогеновых рецепторов продуктом гена (Рис. 11).

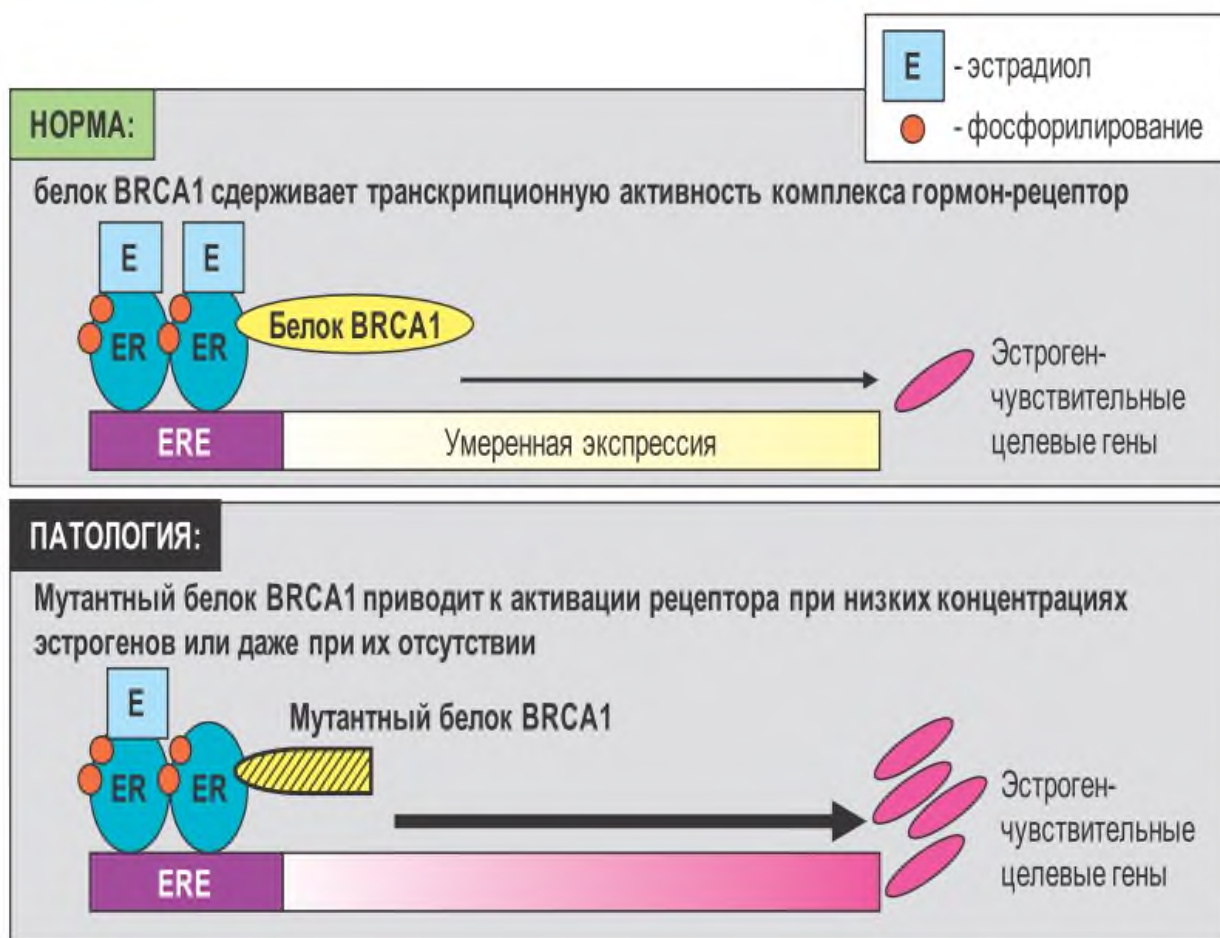


Рис. 11. Механизм активации генов, усиливающих пролиферацию в эстроген-чувствительных клетках при утрате функции BRCA1. ER — рецептор эстрогена (Киселев, Муйжнек, 2011).

Кроме того, белок BRCA1 необходим для дифференцировки стволовых клеток в эпителиальные, чувствительные эстроген-чувствительные клетки. При утрате функции белка, происходит нарушение созревания — недифференцированные эпителиоциты способны трансформироваться в раковые (рис. 12).

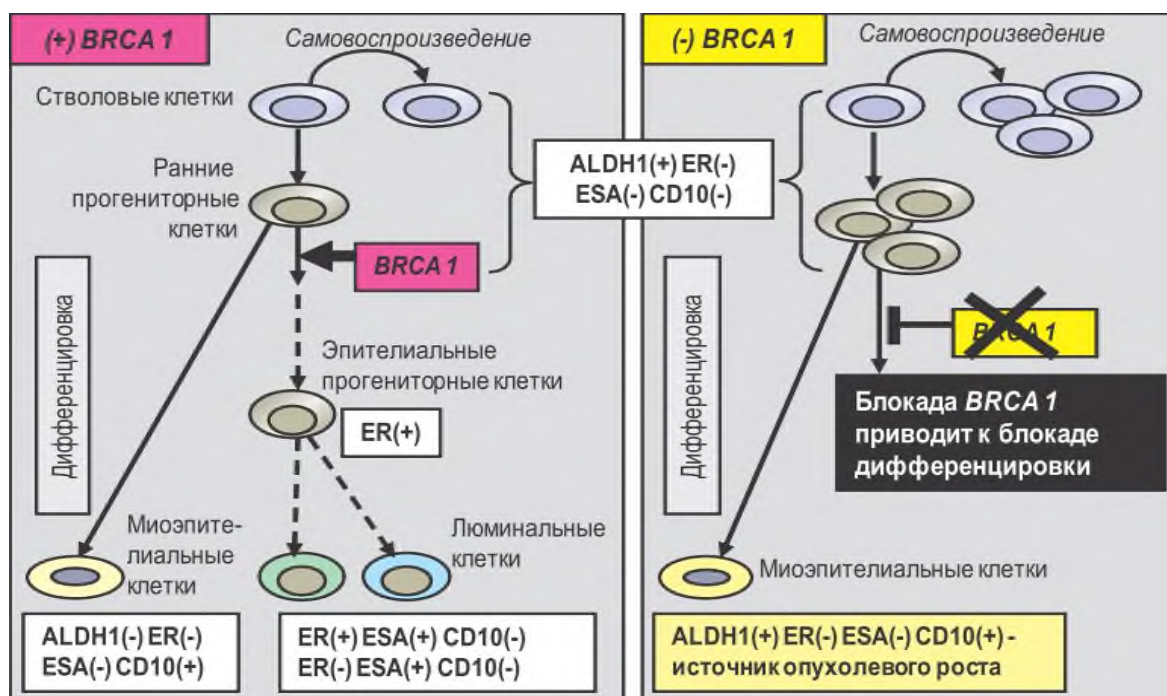


Рис. 12. Роль белка BRCA1 в регуляции дифференцировки клеток (Киселев, Муйжнек, 2011).

Другим наиболее часто встречающимся наследственным опухолевым синдромом является **нейрофиброматоз I типа**, частота встречаемости которого в мире не менее 1:3000. Практически у 100% больных выявляются множественные пигментные пятна на теле цвета «кофе с молоком», у 96% — гамартомы радужной оболочки глаза (узелки Лиша), у 95% — кожные и подкожные нейрофибромы, у 30% — плексиформные нейрофибромы, у 20% — глиомы зрительных нервов, у 10% — злокачественные опухоли из оболочек периферических нервов. Патогенез болезни связан с нарушением функции онкосупрессорного белка нейрофибромина (продукт гена *NF1*, локализованного на 17q11.2), который негативно регулирует активацию протоонкогена p21-ras (Рис. 13). Биаллельная инактивация гена *NF1* в клетках вызывает в них повышенную активность p21-ras и усиленную пролиферацию. Белки Ras играют ключевую роль в росте и дифференцировке клеток, и их патологическая активация вовлечена в развитие многих ЗНО. Известны три изоформы Ras-белков: H-, K- и N-Ras, и нейрофибромин регулирует активность всех трех изоформ. Около 50 % случаев НФ1 — спорадические, то есть вызваны вновь возникшими мутациями в гене *NF1*.

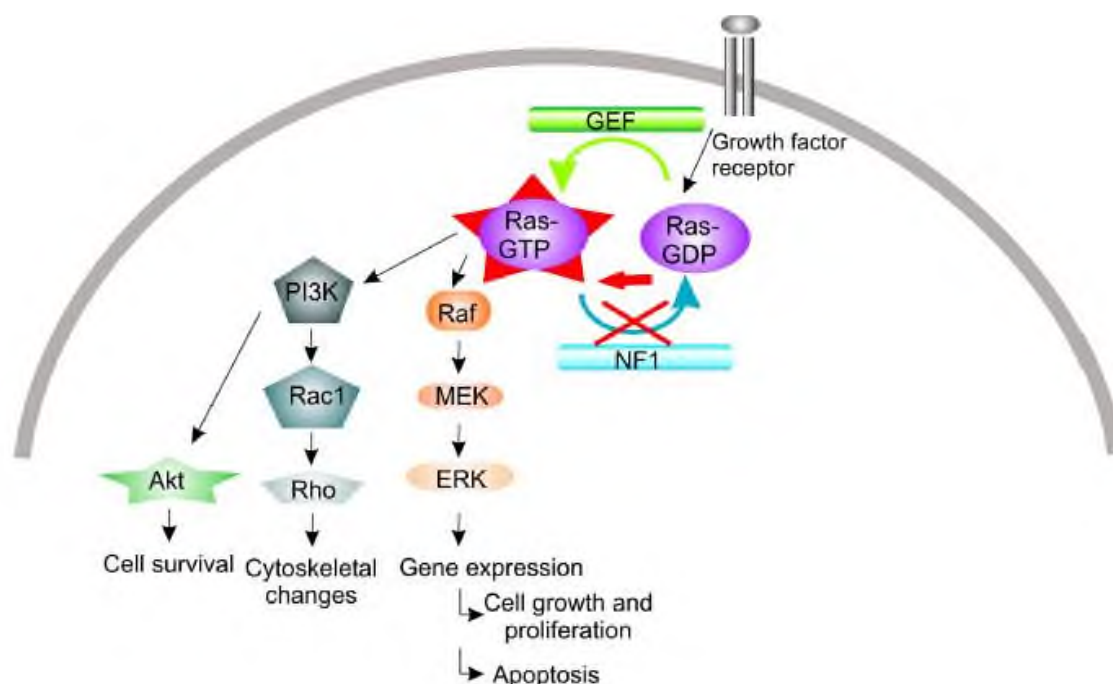


Рис. 13. Схема онкосупрессорной функции белка нейрофибромина (Vandenbrucke I. Identification and Characterization of Neurofibromatosis Type 1 Splice Variants, 2004).

Туберозный склероз встречается с частотой 1:6000 и обусловлен мутациями в генах *TSC1* (локализация 9q34) или *TSC2*(16p13.3). Болезнь характеризуется неполной пенетрантностью, большинство случаев спорадические (возникают в результате спонтанной мутации). Ген *TSC1* кодирует синтез белка гамартина, а ген *TSC2* — туберина. Данные белки имеют сходную функцию, связанную с регулированием синтеза ДНК и пролиферации клеток. Основным проявлением туберозного склероза являются гамартомы головного мозга, глаз и других органов. Для туберозного склероза характерны кожными изменениями, включая участки кожи неправильной формы с неровной поверхностью (шагреньевые бляшки), пятна гипопигментации, лицевые ангиофибромы и подногтевые фибромы. Опухолоподобные поражения (гамартомы) представляют собой корковые бугорки, субэпендимальные узелки вещества головного мозга (Рис. 14), рабдомиомы в сердце и почечные ангиомиолипомы. Пятна гипопигментации на теле и конечностях обычно присутствуют с рождения. К пятилетнему возрасту у большинства детей развиваются ангиофибромы лица в виде множественных телесного цвета или краснова-

тых папул (Рис. 15). Шагреневые бляшки — приподнятые коричневого или телесного цвета соединительнотканые невусы, часто появляются в поясничной области в период детства.

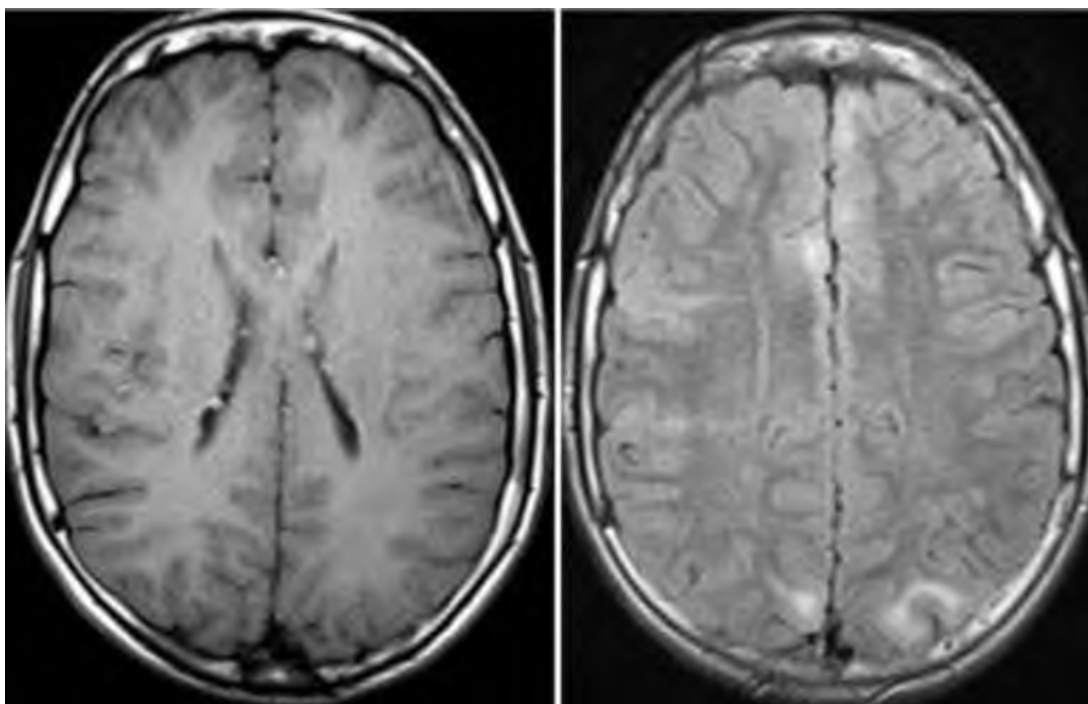


Рис. 14. Поражение головного мозга при туберозном склерозе (<https://radiographia.info>).



Рис. 15. Характерная локализация ангиофибром на лице при туберозном склерозе (из атласа кожных болезней Райера, опубликованного в 1835 году).

Наследственная ретинобластома — аутосомно-доминантное заболевание, характеризующееся развитием злокачественной опухоли сетчатки глаза и развивающееся преимущественно в первые 2 года жизни. В отличие от других наследственных опухолевых синдромов, большая часть которых являются причинами развития не более 10 % специфических ЗНО, наследственная ретинобластома составляет около 40 % всех случаев ретинобластомы. Причина заболевания — герминативные гетерозиготные мутации в гене *RBI*, локализованном на 13q14.2. Частота встречаемости в среднем 1:10000.

Наследственная ретинобластома впервые была описана Кнудсоном, на основании изучения которой он разработал свою двухударную модель канцерогенеза. Спорадические случаи данного ЗНО как правило односторонние, тогда как для наследственной ретинобластомы характерны ранний возраст возникновения и двустороннее поражение.

Продукт гена *RBI* регулирует активность ТФ семейства E2F, которые ответственны за вход и продвижение по S-фазе клеточного цикла (Рис. 16).

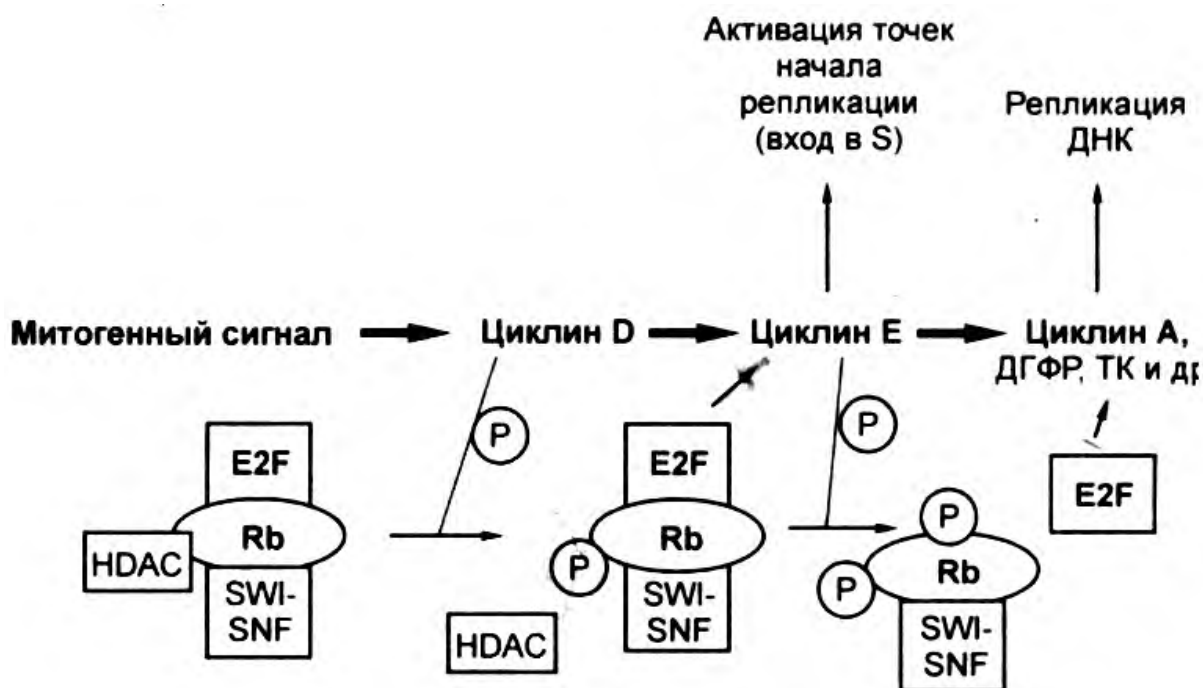


Рис. 16. Схема регуляторной роли белка Rb (Заридзе, 2004).

Синдром Гиппеля-Линдау встречается с частотой в среднем 1 на 36000 человек и обусловлен герминативной мутацией в гене *VHL* (Von

Hippel-Lindau disease), который локализован на 3p25.3. Основные клинические проявления синдрома Гиппеля-Линдау являются ангиомы спинного мозга в сочетании с гемангиобластомами мозжечка (ЗНО I степени злокачественности) с соответствующими клиническими проявлениями поражения мозжечка. Для болезни характерны также множественные врожденные кисты почек и поджелудочной железы, гемангиомы сетчатки (Рис. 17).

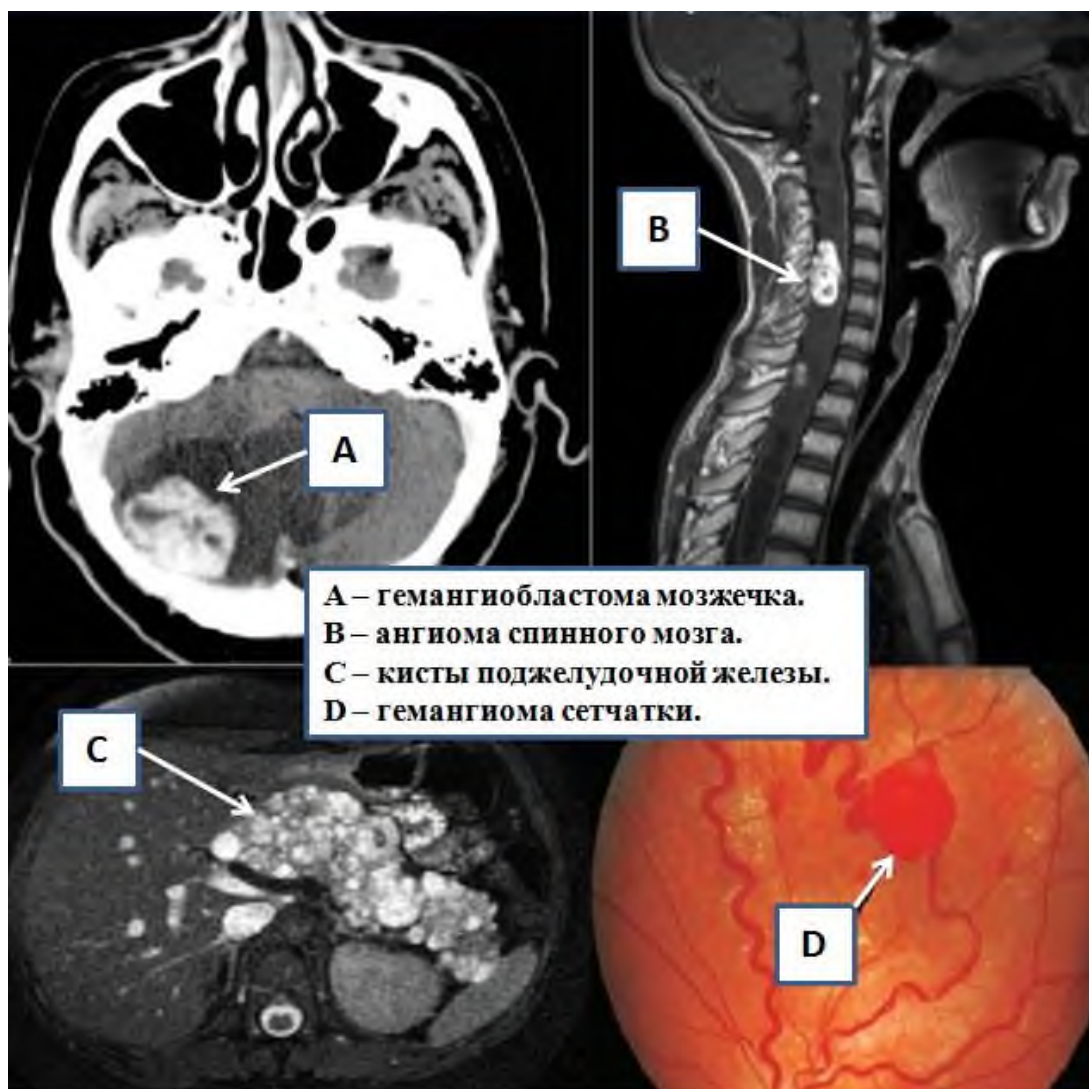


Рис. 17. Специфические проявления синдрома Гиппеля-Линдау (<https://supresustav.ru> — с изменениями).

Нейрофиброматоз II типа встречается с частотой 1:40000 населения, обусловлена мутациями гена *NF2*, локализованного на 22q11.2. Клинически

характеризуется развитием двусторонних вестибулярных неврином (опухоли VIII пары черепно-мозговых нервов).

Продукт гена *NF2* — мерлин, который по структуре сходен с белками эзрином, радиксином и моэзином (название получено от аббревиатуры Moezin Ezrin Radixin Like protein). Функция белка заключается в построении цитоскелета и регуляции пролиферации клеток.

Для нейрофиброматоза II типа характерны также шванномы других структур ЦНС и периферических нервов. Пятна цвета кофе-с-молоком при данном заболевании более скудные, чем при нейрофиброматозе I типа. Развиваются опухоли периферических нервов трех типов:

1) НФ2-бляшки, четко отграниченные, немного приподнятые над кожей, неровные, пигментированные или покрытые волосами кожные образования обычно менее 2 см в диаметре;

2) узловатые шванномы, сходные с таковыми при нейрофиброматозе I типа, развивающиеся из крупных периферических нервов;

3) НФ1-подобные кожные нейрофибромы, сходные с таковыми при НФ1, но скудные в количественном отношении.

Синдром Луи-Бар (атаксия-телеангиэктазия) встречается с частотой от 1:40000 до 1:100000 и обусловлен герминативными гетерозиготными мутациями в гене *ATM* (Ataxia Telangiectasia Mutated), который локализован на 11q22.3.

Продукт гена — белок АТМ, являющийся протеинкиназой, которая служит главным сенсором двунитевых разрывов ДНК, под действием которых активируется и участвует в фосфорилировании белков, необходимых для апоптоза или репарации ДНК (Рис. 18).

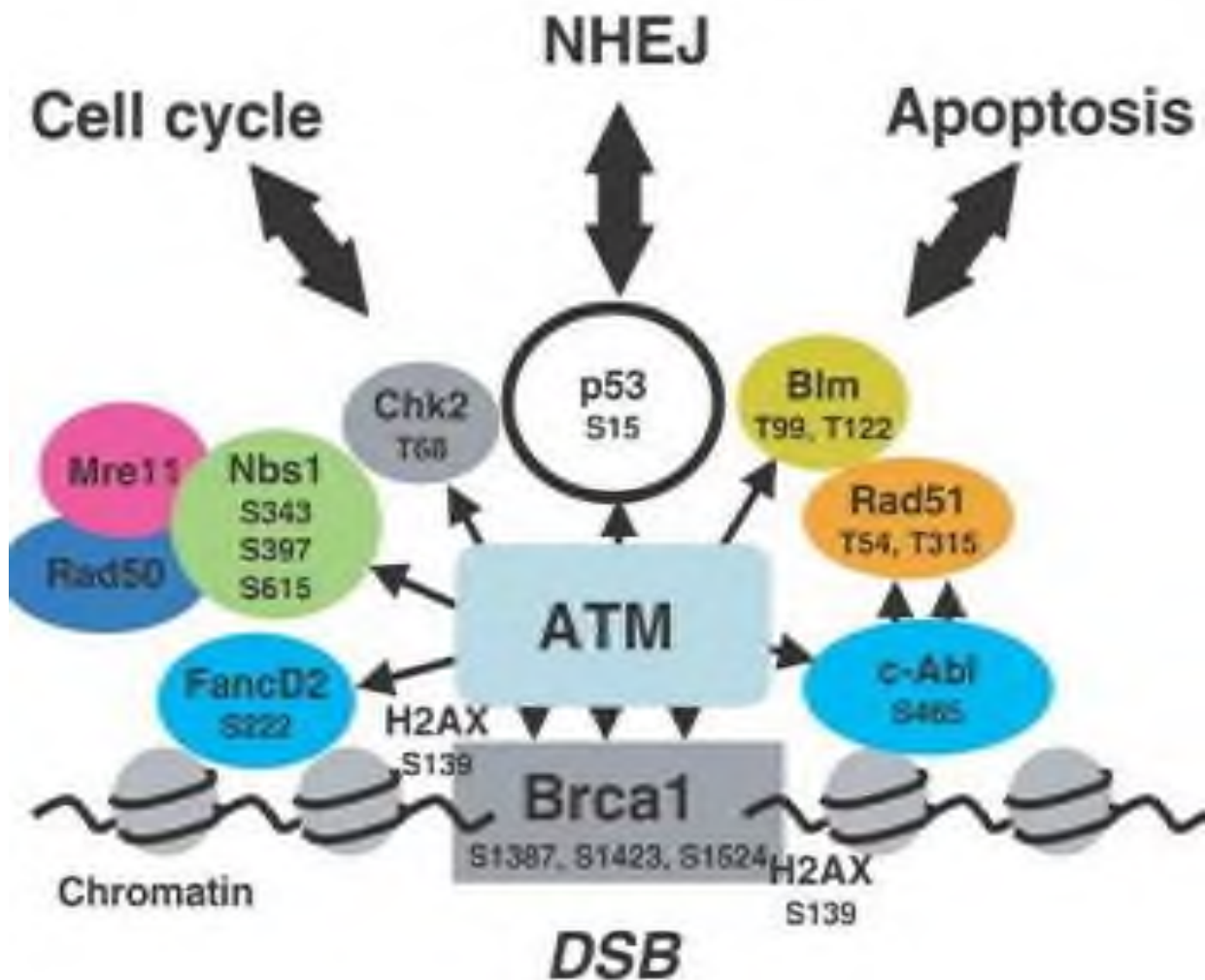


Рис. 18. Схема функции белка ATM (<http://moikompass.ru>). DSB — двойные разрывы нитей ДНК (Double-Strand Break). NHEJ — негомологичное воссоединение концов ДНК (Non-Homologous End Joining).

Характерными клиническими проявлениями синдрома Луи-Бар являются атаксия (нарушенная координация, вызванная поражением мозжечка) и телеангиэктазия (расширение кровеносных сосудов).

Кроме того, больные подвержены частым инфекциям вследствие иммунодефицита и развитию ЗНО (наиболее характерны лейкоз и лимфомы).

Риск развития ЗНО в течение жизни при синдроме Луи-Бар = 25%.

Синдром Горлина-Гольца или синдром первично-множественного базальноклеточного рака обусловлен герминативными мутациями в гене *PTCH1* (от слова «Patchy» — исправлять), который локализован на 9q22.3. Частота встречаемости 1:100000 населения.

Диагноз ставится при наличии 2 больших или 1 большого и 2 малых критериев. К большим диагностическим критериям относятся:

- 1) базальноклеточный рак, возникший в возрасте до 20 лет;
- 2) наличие синдрома Горлина-Гольца у родственников I степени родства;
- 3) одонтогенные кератинизирующие кисты челюстей;
- 4) кальцификация серпа головного мозга;
- 5) аномалии ребер (сращение или расщепление).

Малые критерии синдрома Горлина-Гольца:

- 1) фиброма яичника у женщин;
- 2) синдактилия, деформация грудной клетки или высокое стояние лопатки;
- 3) расщелина верхней губы и неба, гипертелоризм глаз;
- 4) аномалии турецкого седла на рентгенограммах;
- 5) медуллобластома;
- 6) долихоцефалия.

Синдром Пейтца-Егерса (гамартомный полипоз желудочно-кишечного тракта) может быть вызван мутациями в гене *STK11*, который локализован на 19q13.4 или в гене *LKB1*, локализованном на 19p13.3. Частота встречаемости в мире составляет от 1:50000 до 1:200000 новорожденных. Клинически болезнь проявляется множественными гамартомами (полипами) в различных областях ЖКТ в сочетании с множественными мелкими (1–5 мм в диаметре) пигментными пятнами темно-коричневого цвета на лице и слизистой оболочке полости рта.

Наследственная опухоль Вильмса — это эмбриональная злокачественная опухоль (нефробластома), характеризующееся высокой степенью злокачественности в сочетании с врожденными пороками развития и проявляющаяся в возрасте до 5 лет. Составляет около 38% всех опухолей Вильмса у детей. Часто наблюдается двустороннее поражение. Болезнь обусловлена герминативными гетерозиготными мутациями гена *WT1* (Wilms tumor), лока-

лизованного на 11p13 и кодирующего ТФ, участвующего в регуляции развития мочеполовой системы. Частота встречаемости 1:100000.

Синдром Коудена (синдром множественных гамартом) встречается с частотой 1:200000 и обусловлен гетерозиготными герминативными мутациями в гене *PTEN*, локализованном на 10q23.3. Белок РТЕН участвует в регуляции клеточного цикла, являясь негативным регулятором Akt/РКВ сигнальных путей (пути протеинкиназы В, которые способствуют пролиферации клеток в ответ на внеклеточные стимулы). Болезнь характеризуется мультисистемным поражением организма с образованием множества доброкачественных опухолей (гамартом) и повышенным риском развития РМЖ, рака матки и щитовидной железы. У 95% больных развиваются полипы желудочно-кишечного тракта, у 84% — макроцефалия, у 75% — фиброаденомы и внутрипроточные фиброаденомы молочных желез. У трети пациентов обнаруживаются фолликулярный аденоматоза или многоузловой зоб, у 10% — фолликулярный рак щитовидной железы.

Синдром Ли-Фраумени обусловлен герминативными мутациями в гене *TP53*, локализованном на 17p13.1. Несмотря на то, что в спорадических ЗНО мутации в гене *TP53* являются самыми часто встречающимися, распространенность синдрома Ли-Фраумени очень низкая. В литературе описано всего около 500 случаев данной болезни. Синдром Ли-Фраумени известен также как синдром SBLA (Sarcoma, Breast, Leukaemia and Adrenal gland). Как видно из названия, для заболевания характерно развитие саркомы, РМЖ, лейкоза и ЗНО надпочечников. Риск развития ЗНО в течение жизни при синдроме Ли-Фраумени составляет 100%.

В таблице 7 представлены данные о наследственных опухолевых синдромах и генах, герминативные гетерозиготные мутации в которых вызывают эти заболевания. Для наиболее распространенных болезней представлены данные о частоте встречаемости.

Гены онкосупрессоров и наследственные опухолевые синдромы

Ген	Локализация	Синдром	ЧВ
<i>BRCA1</i>	17q21	Наследственный рак молочной железы	1:400 женщин
<i>BRCA2</i>	13q13.1		
<i>NF1</i>	17q11.2	Нейрофиброматоз I типа	1:3000
<i>TSC1</i>	9q34.13	Туберозный склероз	1:6000
<i>TSC2</i>	16p13.3		
<i>RB1</i>	13q14.2	Наследственная ретинобластома	1:10000
<i>VHL</i>	3p25.3	Синдром Гиппеля-Линдау	1:36000
<i>NF2</i>	22q12.2	Нейрофиброматоз II типа	1:40000
<i>ATM</i>	11q22.3	Синдром Луи-Бар (атаксия-телеангиэктазия)	1:40000 – 1:100000
<i>PTCH1</i>	9q22.32	Синдром Горлина-Гольца	1:100000
<i>STK11</i>	19q13.4	Синдром Пейтца-Егерса	1:100000
<i>LKB1</i>	19p13.3		
<i>WT1</i>	11p13	Наследственная опухоль Вильмса	1:100000
<i>PTEN</i>	10q23.3	Синдром Коудена	1:200000
<i>TP53</i>	17p13.1	Синдром Ли-Фраумени	
<i>CDH1</i>	16q22.1	Наследственный рак желудка	
<i>CDKN2A</i>	9p21	Наследственная меланома кожи	
<i>CHEK2</i>	22q12.1	Синдром Ли-Фраумени 2	
<i>MEN1</i>	11q13.1	Множественная эндокринная неоплазия I типа	
<i>MLH1</i>	3p21	Синдром Линча	
<i>MSH2</i>	2p21-p16		
<i>MYH</i> (<i>MUTYH</i>)	1p34.1	FAP2 или MYH-ассоциированный полипоз	
<i>NBN</i>	8q21.3	Синдром Ниймеген	
<i>SMAD4</i>	18q21.1	Семейный ювенильный полипоз- ный синдром	
<i>APC</i>	5q22.2	Синдром Гарднера	

Контрольные вопросы

1. Назовите частоту встречаемости наследственных опухолевых синдромов в среднем по миру.
2. Какие характерные признаки наследственных опухолевых синдромов?
3. Какой наследственный опухолевый синдром наиболее распространен? Охарактеризуйте этиологию, эпидемиологию и патогенез данного заболевания.
4. Охарактеризуйте этиологию, эпидемиологию, патогенез и клинику туберозного склероза, синдрома Гиппеля-Линдау и Луи-Бар.
5. Какие специфические клинические признаки синдромов Горлина-Гольца, Пейтца-Егерса, Коудена и Ли-Фраумени вы знаете?

9. ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ НОВООБРАЗОВАНИЯ КАК МНОГОФАКТОРНЫЕ БОЛЕЗНИ

Большинство злокачественных новообразований относятся к многофакторным болезням, то есть патологии, обусловленной суммарным (аддитивным) эффектом генетических и средовых факторов.

Для исследования спорадических случаев ЗНО применяются различные методы медицинской генетики (подробнее в пособии «Методы исследования в медицинской генетике» (Р.Н. Мустафин и др., 2020г.), в том числе популяционно-статистический, близнецовый, клинико-генеалогический (для исключения наследственных опухолевых синдромов), цитогенетический (выявление хромосомных мутаций в тканях опухолей), молекулярно-цитогенетический (определение микроделеций и хромосомных перестроек), молекулярно-генетический и биохимический методы.

При помощи молекулярно-генетических методов спорадических ЗНО проводится:

- 1) определение полиморфных генетических маркеров, ассоциированных с повышенным риском развития того или иного типа опухоли;
- 2) выявление молекулярных маркеров доклинических стадий развития ЗНО;
- 3) диагностика молекулярных маркеров неблагоприятной динамики заболевания;
- 4) поиск опухолевых маркеров рецидива опухоли и микрометастазов.

Спорадические случаи ЗНО могут быть вызваны разнообразными молекулярно-генетическими механизмами. Однако часто их причинами могут быть соматические мутации (биаллельная инактивация) в генах известных онкосупрессоров, связанных с развитием наследственных опухолевых синдромов (Табл. 8).

Гены онкосупрессоров и спорадические ЗНО

Ген	Локализация гена	Спорадический тип рака
<i>APAF-1</i>	12q23.1	Метастазирующие меланомы
<i>APC</i>	5q22.2	Рак толстой кишки
<i>ATM</i>	11q22.3	Лимфолейкоз
<i>AXIN1</i>	16p13.3	Рак толстой кишки, печени
<i>BRCA1</i>	17q21	Рак молочной железы, яичника, простаты, толстого кишечника
<i>BRCA2</i>	13q13.1	
<i>CDH1</i>	16q22.1	Рак молочной железы, желудка, печени, мочевого пузыря
<i>CDKN2A</i>	9p21	Меланомы, рак поджелудочной железы, головы и шеи
<i>CHEK2</i>	22q12.1	Рак молочной железы
<i>DCC</i>	18q21.2	Колоректальный рак
<i>HIC1</i>	17p13.3	Рак молочной железы, легких, почек, толстой кишки
<i>MEN1</i>	11q13.1	Рак легкого, ангиофибромы, аденомы надпочечников и паращитовидных желез
<i>MGMT</i>	10q26.3	Злокачественная глиома, меланома, колоректальный рак, плоскоклеточный рак головы и шеи
<i>MLH1</i> <i>MSH2</i>	3p21 2p21-p16	Рак толстой кишки
<i>MYH (MUTYH)</i>	1p34.1	Рак толстой кишки
<i>NBN</i>	8q21.3	Рак молочной железы, лейкоз, нейробластома
<i>NF1</i>	17q11.2	Рабдомиосаркома, феохромоцитома, глиобластома, рак яичников, меланома
<i>NF2</i>	22q12.2	Шванномы, менингиомы
<i>PTCH1</i>	9q22.32	Рак щитовидной железы
<i>PTEN</i>	10q23.3	Рак простаты, мочевого пузыря, головного мозга
<i>RB1</i>	13q14.2	Ретинобластома

Ген	Локализация гена	Спорадический тип рака
<i>SMAD2</i>	18q21	Рак легкого, поджелудочной железы, толстой кишки
<i>SMAD3</i>	15q21-22	
<i>SMAD4</i>	18q21.1	Рак поджелудочной железы, головы и шеи, колоректальный рак
<i>STK11</i> <i>LKB1</i>	19q13.4 19p13.3	Рак поджелудочной железы, легких, щитовидной железы, молочной железы
<i>TP53</i>	17p13.1	50% всех типов рака, рак яичников, толстой кишки, головы и шеи, пищевода
<i>TSC1</i> <i>TSC2</i>	9q34.13 16p13.3	Нейроэндокринные опухоли
<i>VHL</i>	3p25.3	Рак почки
<i>WT1</i>	11p13	Нефробластома

Мутации в генах, вызывающие наследственные опухолевые синдромы, могут вызвать спорадические ЗНО, не характерные для данных синдромов. Для сравнения в таблице 9 представлены данные о генах, ассоциированных с развитием спорадических неоплазм и наследственных опухолевых синдромов.

Таблица 9

Сравнительная характеристика этиологии наследственных опухолевых синдромов и спорадических неоплазм

Ген	Спорадический тип рака	Синдром
<i>APAF-1</i>	Метастазирующие меланомы	не описан
<i>APC</i>	Рак толстой кишки	Гарднера
<i>ATM</i>	Лимфолейкоз	Луи-Бара
<i>AXIN1</i>	Рак толстой кишки, печени	не описан
<i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i>	Рак молочной железы, яичника, простаты, толстого кишечника	Наследственный РМЖ
<i>CDH1</i>	Рак молочной железы, желудка, печени, мочевого пузыря	Наследственный рак желудка
<i>CDKN2A</i>	Меланомы, рак поджелудочной железы, головы и шеи	Наследственная меланома кожи

Ген	Спорадический тип рака	Синдром
<i>CHEK2</i>	Рак молочной железы	Ли-Фраумени 2
<i>DCC</i>	Колоректальный рак	не описан
<i>hIC1</i>	Рак молочной железы, легких, почек, толстой кишки	не описан
<i>MEN1</i>	Рак легкого, ангиофибромы, аденомы надпочечников и паращитовидных желез	Множественная эндокринная неоплазия I типа
<i>MGMT</i>	Злокачественная глиома, меланома, колоректальный рак, плоскоклеточный рак головы и шеи	не описан
<i>MLH1, MSH2</i>	Рак толстой кишки	Синдром Линча
<i>MYH</i>	Рак толстой кишки	МУН-полипоз
<i>NBN</i>	Рак молочной железы, лейкоз, нейробластома	Синдром Ниймеген
<i>NF1</i>	Рабдомиосаркома, феохромоцитома, глиобластома, рак яичников, меланома	Нейрофиброматоз I типа
<i>NF2</i>	Шванномы, менингиомы	Нейрофиброматоз II типа
<i>PTCH1</i>	Рак щитовидной железы	Горлина-Гольца
<i>PTEN</i>	Рак простаты, мочевого пузыря, головного мозга	Коудена
<i>RB1</i>	Ретинобластома	Наследственная ретинобластома
<i>SMAD2</i>	Рак легкого, поджелудочной железы, толстой кишки	не описан
<i>SMAD3</i>		не описан
<i>SMAD4</i>	Рак поджелудочной железы, головы и шеи, колоректальный рак	Семейный ювенильный полипозный синдром
<i>STK11 LKB1</i>	Рак поджелудочной железы, легких, щитовидной железы, молочной железы	Синдром Пейтца-Егерса
<i>TP53</i>	50% всех типов рака	Ли-Фраумени
<i>TSC1 TSC2</i>	Нейроэндокринные опухоли	Туберозный склероз
<i>VHL</i>	Рак почки	Гиппеля-Линдау
<i>WT1</i>	Нефробластома	Наследственная опухоль Вильмса

Следует отметить, что к важнейшим свойствам клеток ЗНО, которые они приобретают при опухолевой прогрессии относятся:

- 1) ослабление индукции апоптоза;
- 2) нечувствительность к рост супрессирующим сигналам;
- 3) блокирование клеточной дифференцировки;
- 4) отсутствие репликативного старения;
- 5) самодостаточность в пролиферативных сигналах;
- 6) генетическая нестабильность;
- 7) изменение морфологии с инвазией и метастазированием;
- 8) стимуляция неоангиогенеза.

Контрольные вопросы

1. Какие методы медицинской генетики используют для диагностики sporadических ЗНО?

2. Назовите важнейшие свойства клеток ЗНО, которые они приобретают при опухолевой прогрессии.

3. Назовите онкосупрессорные гены, мутации в которых характерны для специфических типов злокачественных новообразований.

4. Мутации в каком гене встречаются в 50% всех типов рака?

5. Проведите сравнительную характеристику sporadических ЗНО и неоплазм при наследственных опухолевых синдромах, вызванных мутациями в тех же генах онкосупрессоров.

10. ЭПИГЕНЕТИКА КАНЦЕРОГЕНЕЗА

В качестве причин возникновения ЗНО важную роль играют нарушения эпигенетической регуляции генов, которые могут активировать протоонкогены и/или вызывать подавление экспрессии онкосупрессоров.

К основным механизмам эпигенетической регуляции относятся метилирование и деметилирование ДНК, модификации гистонов и воздействие некодирующих РНК (нкРНК). Данные механизмы регуляции являются обратимыми, в связи с чем их исследование наиболее перспективно с позиции возможного таргетного воздействия для лечения ЗНО.

Впервые термин «эпигенетика» был использован Конрадом Уоддингтоном для обозначения причинных механизмов, с помощью которых гены осуществляют свои фенотипические эффекты.

10.1. РОЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК И МОДИФИКАЦИЙ ГИСТОНОВ В ОНКОГЕНЕЗЕ

Аномальному метилированию генов как причине канцерогенеза в последнее время отводится все большее внимание. Дисбаланс метилирования наблюдается во всех опухолевых клетках, проявляясь глобальным гипометилированием генома и локальным гиперметилированием промоторов генов онкосупрессоров. Глобальное гипометилирование ДНК служит причиной геномной нестабильности, обусловленной активацией мобильных генетических элементов, вызывающих многочисленные хромосомные перестройки. Локальное гиперметилирование генов, вовлеченных в регуляцию апоптоза, дифференцировку клеток и регуляцию клеточного цикла вызывает неконтролируемую пролиферацию в канцерогенезе.

Ряд веществ, вызывающих метилирование ДНК, являются доказанными канцерогенами для лабораторных животных. Наиболее широко распространена инактивация путем гиперметилирования промоторного района гена *INK4A*, что является общей чертой многих типов опухолей. Для некоторых

типов неоплазм гиперметилирование является главным механизмом инактивации гена *INK4A* (60–90% случаев рака простаты, мочевого пузыря, толстой кишки). Для ряда опухолей было показано, что нарушение метилирования не ограничивается одним геном, а может затрагивать одновременно несколько генов, повреждение функций которых существенно для развития опухолей.

Из 45 000 CpG-островков, имеющих в геноме человека, одновременно гиперметилированными могут оказаться в среднем 600 с разбросом от 0 до 4500 в отдельных неоплазмах. При этом гиперметилирование CpG-островков приводит к возрастанию частоты мутаций вследствие нестабильности 5-метилцитозина с заменой пар G-C на A-T — подобные мутации гена *TP53* в неоплазмах составляют до 30%. Это говорит о важнейшей роли эпигенетической инактивации генов онкосупрессоров среди других механизмов, так как общая частота встречаемости мутаций гена *TP53* в ЗНО составляет около 50%. Аберрантное метилирование CpG-островков — раннее событие в процессе возникновения опухоли, обнаруживаемое на более ранних стадиях опухолевой прогрессии, чем потеря гетерозиготности. Более того, оказалось, что в нормальных клетках имеет место локальное гиперметилирование некоторых генов — феномен, связанный со старением.

10.2. МЕХАНИЗМЫ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК

Система метилирования пиримидинов и пуринов в составе ДНК и РНК возникла еще у бактерий для защиты собственной ДНК от расщепления ферментами рестриктазами, необходимыми для расщепления чужеродного генетического материала. У бактерий существуют системы рестрикции-модификации и метилтрансферазы Dam, Dcm, CcrM. Помимо 5-метилцитозина, для бактерий и их вирусов характерны и другие модификации оснований (Табл. 10).

Разновидности модификаций оснований ДНК в живой природе

Модификация	Таксоны	Доля в геноме, %
5-метилцитозин	бактерии	0,3–2
	бактериофаги	0,2–0,5
	грибы	1–5
	протисты	2–17
	эукариоты	5–30
N6-метиладенин	бактерии	0,3–3
	бактериофаги	0,5–2
	инфузории	0,8–2,5
	протисты	10
N6-карбамоилметиладенин	Фаг <i>E. coli</i> Mu	15
5-гидроксиметилцитозин	Фаг <i>E. coli</i> T2, T4	100

У эукариот метилирование ДНК необходимо для функционирования всех клеточных систем, регуляции репликации, транскрипции, рекомбинации и репарации. При этом ДНК-метилтрансферазы, в отличие от хаотичного не-энзиматического метилирования ДНК, модифицируют цитозин или аденин в специфических локусах, таких как CpG-островки.

Модификации подвергаются также рибосомальные РНК (рРНК), для которых характерно специфическое метилирование остатков рибозы по 2'-ОН и превращение уридина в псевдоуридин под влиянием малых ядрышковых РНК (мяоРНК). CpG-островком называется участок ДНК длиной около 200 пар нуклеотидов с содержанием C + G более 50% и соотношением количество CpG/ожидаемое количество CpG более 0,6.

CpG-островки находятся в промоторной области и в первом экзоне половины белок-кодирующих генов млекопитающих, включая все гены домашнего хозяйства и часть тканеспецифических генов (не более 40%).

Для эукариот наиболее характерной эпигенетической модификацией оснований ДНК служит метилирование цитозина в 5 положении (Рис. 19). Данная модификация, приводящая к эпигенетическому подавлению экспрессии

генов, заметно снижается по мере старения организма с общим снижением содержания метилцитозина, но с локальным возрастанием в некоторых CpG-островках. Этот феномен не наблюдается в бессмертных клеточных линиях.

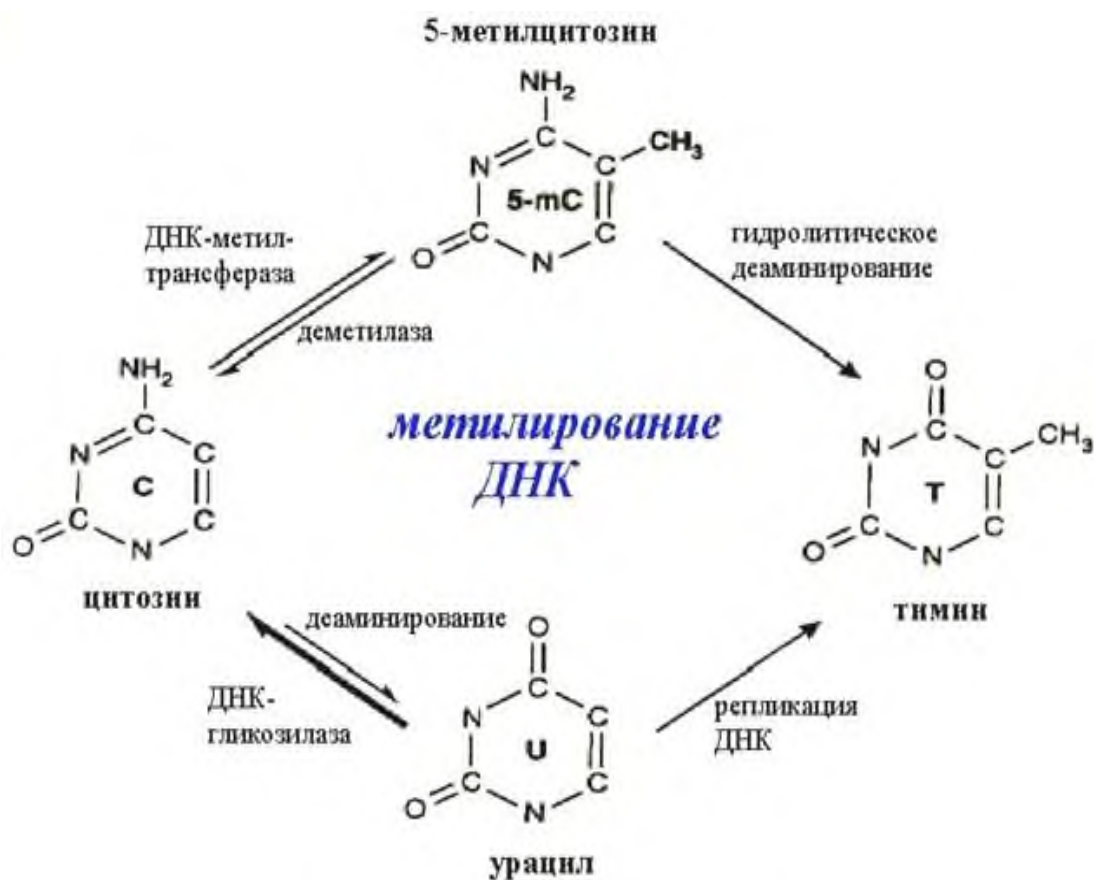


Рис. 19. Механизмы биохимических модификаций цитозина (Мутовин Г.Р. «Клиническая генетика», 2010).

Биологическая особенность метилирования ДНК у эукариот видоспецифична. У многоклеточных животных и растений существует тканевая (клеточная), субклеточная (органойдная) и возрастная разнокачественность метилирования ДНК. Степень метилирования генома может служить некими биологическими часами, по которым можно судить о возрасте и прогнозировать продолжительность жизни.

Метилирование промотора связано с сайленсингом гена, метилирование внутригенных областей оказывает различные эффекты на экспрессию гена, а метилирование межгенных областей может влиять на экспрессию посредством регуляции энхансера.

Уровень, при котором появляются эффекты, опосредованные метилированием ДНК, очень низок, существенное подавление экспрессии гена наблюдается, когда один 5-метилцитозин приходится на 300 п.н.

После репликации ДНК рисунок метилирования восстанавливается благодаря поддерживающим ДНК-метилтрансферазам.

Метилирование новых сайтов — задание и изменение эпигенетической информации — осуществляется при помощи *de novo* ДНК-метилтрансфераз. Соответственно, у человека ДНК-метилтрансферазы представлены семействами Dnmt1 (поддерживающее метилирование) и Dnmt3 (*de novo* метилирование). Dnmt2 модифицирует цитозин в антикодоновой петле некоторых тРНК.

У человека отцовские и материнские гены могут проявлять дифференциальную супрессию уже на ранних стадиях онтогенеза. В участках генома, подверженных **импринтингу**, экспрессируется только один аллель — отцовский или материнский.

Все типы метилирования ДНК тесно связаны не только друг с другом, но и с двумя другими глобальными эпигенетическими системами: модификацией гистонов и регуляцией экспрессии генов некодирующими РНК. Например, у человека ген гистоновой деацетилазы необходим для метилирования ДНК, индуцированного малыми нкРНК.

10.3. МЕХАНИЗМЫ МОДИФИКАЦИИ ГИСТОНОВ

Долгое время считалось, что структурные белки, вокруг которых завернута ДНК, являются инертными. Однако оказалось, что гистоны являются ключевыми игроками как в преходящей, так и в долгосрочной регуляции экспрессии генов. Гистоны подвергаются модификации благодаря присоединению к ним ацетильных (ацетилирование) или метильных (метилирование) групп, а также остатка фосфорной кислоты (фосфорилирование) в ограниченный набор аминокислот, благодаря чему они выступают из нуклеосомы и служат сигнальными молекулами (Рис. 20). Эти модификации инициируют

связывание с различными белками (считывателями), которые подавляют или активируют экспрессию генов, обычно путем индукции локального уплотнения или релаксации хроматина посредством перемещения нуклеосом.

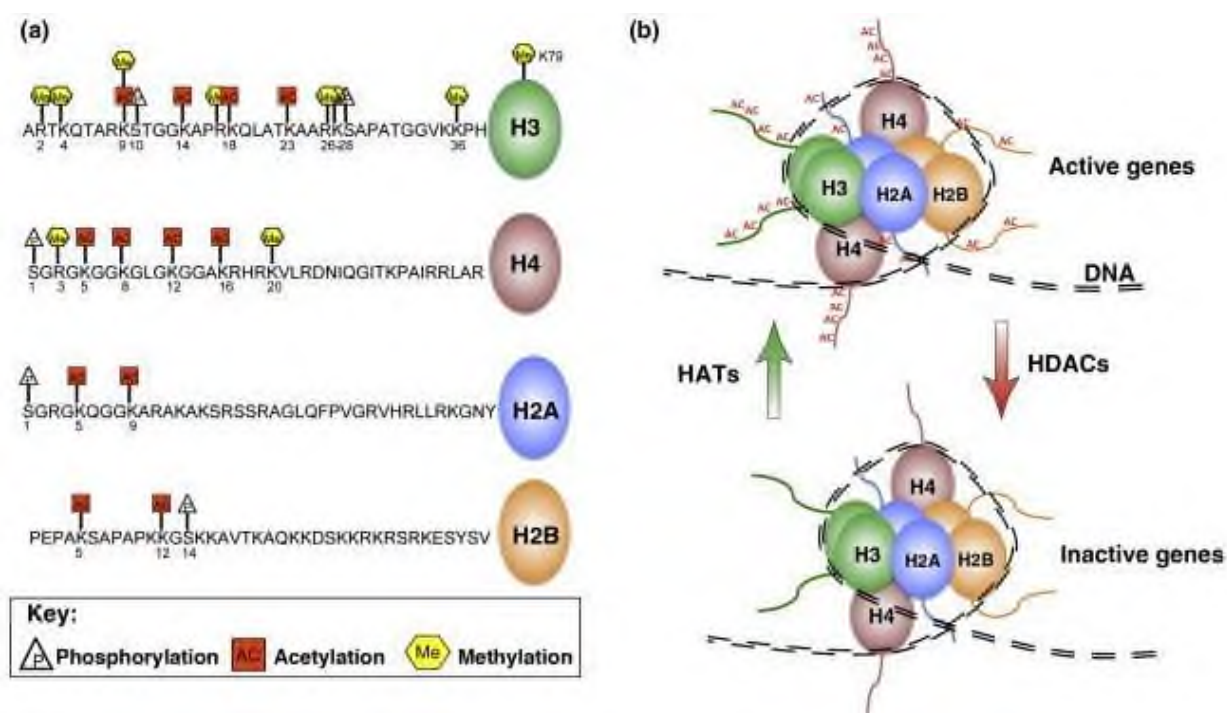


Рис. 20. Схема модификации гистонов.

Установлено, что различные области геномов эукариот существуют либо в относительно рыхлом эухроматине, либо в плотно упакованном гетерохроматиновом состоянии. *Эухроматиновые области* являются транскрипционно *активными* доменами в отличие от транскрипционно молчащих гетерохроматиновых. Гипоацетилирование гистонов, гиперметилирование H3K9 (метилирование гистона H3 в положении Lis-9) и рекрутирование белка гетерохроматина HP1 — характерные признаки образования гетерохроматина. Ацетилирование N-концов гистонов приводит к разрыхлению структуры хроматина и к увеличению транскрипционной активности генов.

10.4. РОЛЬ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

РНК-интерференцией (РНКи) обозначают механизмы подавления экспрессии генов при помощи нкРНК на транскрипционном и посттранскрипционном уровнях.

Имеются три ключевых компонента системы РНКи у эукариот — Dicer, Argonaute-Piwi и RdRP (РНК-зависимая РНК-полимераза).

Фермент РНКаза III Dicer является «линейкой», измеряющей фиксированное расстояние от определенной структуры РНК.

Семейство ферментов Argonaute (AGO) было названо в честь AGO1 у *Arabidopsis thaliana*, потеря которого приводит к образованию трубчатых листьев, напоминающих кальмаров *Argonautus*. Белки семейства AGO являются эффекторами системы РНКи за счет связывания с малыми нкРНК и использования их в качестве гидов для сайленсинга генов-мишеней.

У человека имеются три основных класса малых нкРНК:

- микроРНК;
- PIWI-взаимодействующие РНК (piРНК);
- малые интерферирующие РНК (siРНК).

Отличием siRNA является полная комплементарность своим мишеням, тогда как микроРНК проявляют ограниченную комплементарность их сайтам распознавания. Кроме того, микроРНК кодируются собственными отдельными генами, а siRNA транскрибируются из транспозонов или генерируются при деградации экзогенных двухцепочечных РНК.

МикроРНК имеют длину 22 нуклеотида и в составе РНК-индуцированного комплекса сайленсинга (RISC — RNA-induced silencing complex) способны комплементарно взаимодействовать с мРНК, вызывая деградацию мРНК-мишени или репрессию ее трансляции. Помимо контроля активности мРНК, микроРНК способны регулировать работу генома транскрипционно. МикроРНК участвуют в эпигенетическом контроле генов путем контролирования уровней первичных эпигенетических регуляторов — ДНК-метилтрансфераз и гистоновых деацетилаз.

Малые интерферирующие РНК (siРНК) имеют длину 21–25 нуклеотидов и направляют разрезание РНК-мишеней в комплексе RISC, а также подавляют транскрипцию генов, содержащих гомологичные siРНК последова-

тельности (транскрипционный сайленсинг генов, обнаруженный у животных, дрожжей и растений).

Система piРНК — это консервативная иммунная система на основе малых РНК, которая защищает геномы зародышевых клеток против мобильных генетических элементов (транспозонов).

Доказано значение дерегуляции микроРНК в инициации и прогрессировании опухолей, где они могут вести себя в роли онкогенов или онкосупрессоров в зависимости от клеточной функции их мишеней. Более того, активация или супрессия специфических семейств микроРНК является механизмом, посредством которых онкогены, такие как *Мус*, или онкосупрессоры, такие как *p53*, индуцируют или ингибируют туморогенез.

При некоторых наследственных опухолевых синдромах герминативные мутации были обнаружены в генах микроРНК, на основании чего высказано предположение, что они могут участвовать в наследственной предрасположенности к раку, особенно в тех случаях, когда не выявлен причинный ген болезни.

Вовлеченные в канцерогенез микроРНК характеризуются взаимодействием со множеством молекул, влияющих на опухолевую прогрессию. Так, мишенями для онкогенной микроРНК *miR-21*, которая усиливает свою активность во многих типах рака, являются *SKI, RAB6A, RAB6C, RHOV, TGFB1, TRFBR2, RASA1, BCL2, PDCD4, TP53, PTEN, ANP32A, SMARCA4, TPM1*. Мишенями для онкосупрессорной микроРНК *Let-7* являются гены *RAS, HMGA2, LIN28, PEBP1*.

Для каждого типа ЗНО характерно изменение экспрессии нескольких характерных микроРНК.

МикроРНК могут влиять на чувствительность к химиотерапии и лекарственную устойчивость, а также участвовать в регуляции метастазирования ЗНО (обозначаются «metastamir», проявляя про- или антиметастатическую активность). Так, в канцерогенез желудка вовлечены piРНК – piR-651/823 —

эффективный диагностический биомаркер рака желудка в крови и желудочном соке.

Согласно недавним исследованиям, рiРНК также экспрессируются в неоплазмах человека и изменение их экспрессии играет роль в развитии рака.

Среди большого количества микроРНК, *miR-1* преимущественно подавляется почти во всех обследованных раковых опухолях человека и представляет собой перспективную мишень для противораковой терапии. Использование *miR-1* может вызвать подавление пролиферации раковых клеток, стимулируя апоптоз и возвращать чувствительность к лекарствам как *in vitro*, так и *in vivo*.

В недавних исследованиях был выявлен новый тип биоматериала, способный расщеплять специфические последовательности микроРНК — miR-специфические искусственные рибонуклеазы (miRNAзы). В частности, представлен каталитический пептид Ацетил-[(LeuArg)₂Gly]₂, ковалентно присоединенный к miR-нацеленному олигонуклеотиду, который может быть линейным или в виде шпильки. Одна из наиболее эффективных miRNAз показала специфическое ингибирование miR-21 в клетках лимфосаркомы, приводя к снижению пролиферативной активности.

МикроРНК могут быть использованы в качестве биомаркеров рака, так как они присутствуют в крови и очень стабильны. А онкоассоциированные микроРНК могут представлять новую группу жизнеспособных мишеней для терапевтического воздействия — работы по их клиническому применению уже ведутся. Так, *miR-137* может использоваться в качестве прогностического маркера у больных с первичным раком печени. У больных с раком яичников высокие концентрации *miR-135a-3p* в сыворотке ассоциированы с благоприятным клиническим прогнозом. Было показано, что повышенная экспрессия *miR-135a-3p* индуцировала лекарственную чувствительность клеток рака яичника к цисплатину и паклитакселу и подавляла пролиферацию клеток и рост опухоли ксенотрансплантата.

Ресвератол, натуральный съедобный полифенольный фитоалексин, оказывает противоопухолевое действие при лимфолейкозе, за счет ингибирования *miR-196b/miR-1290*, вызывая антипролиферативный эффект, остановку клеточного цикла, апоптоз и ингибирование миграции. При этом *miR-196b/miR-1290* взаимодействует с 3'-UTR областью мРНК гена *IGFBP3* (белка связывания инсулиноподобного фактора роста).

Новый класс противоопухолевых микроРНК связан с онколитическими аденовирусами. Было выявлено, что *miR-26b* может усиливать опосредованную аденовирусом гибель клеток, способствуя распространению онколитических вирусов в клеточных линиях рака простаты. В связи с этим *miR-26b* может быть использован в комбинации с онколитическим аденовирусом.

10.5. ДЛИННЫЕ НЕКОДИРУЮЩИЕ РНК

Длинные нкРНК (lncРНК) представляют собой одноцепочечные молекулы РНК, состоящие в среднем из 200 и более нуклеотидов.

Их характерным свойством является их высокая тканевая специфичность. Так, 11% lncРНК человека синтезируются в клетках только одного типа, в связи с чем профилирование уровня их транскрипции позволяет выявить тканевую принадлежность образца.

Определенные lncРНК служат рибозимами, то есть катализируют биохимические реакции без участия белков (например, процессинг тРНК, образование рибосом и теломер).

Известно три механизма регуляции при помощи lncРНК:

- 1) управление модификацией и структурой хроматина (инактивация X-хромосомы);
- 2) связывание с ферментами метилирования и деметилирования гистонов и ДНК для регуляции транскрипции;
- 3) функционирование в качестве «приманки». Важное значение lncРНК имеют в регуляции синтеза ДНК, управлении делением клеток, апоптоза, транскрипции, процессинга, сплайсинга и трансляции мРНК.

ЛнсРНК участвуют в таких важнейших процессах, как дифференцировка клеток, старение, циркадные часы, регуляция клеточного цикла и плюрипотентность (Рисунок 21). В геноме человека более 14000 генов лнсРНК, многие из которых вовлечены в развитие специфических типов ЗНО. Так, с раком желудка ассоциированы лнсРНК, такие как *CCAT1*, *GACAT1*, *H19* и *SUMO1P3*.

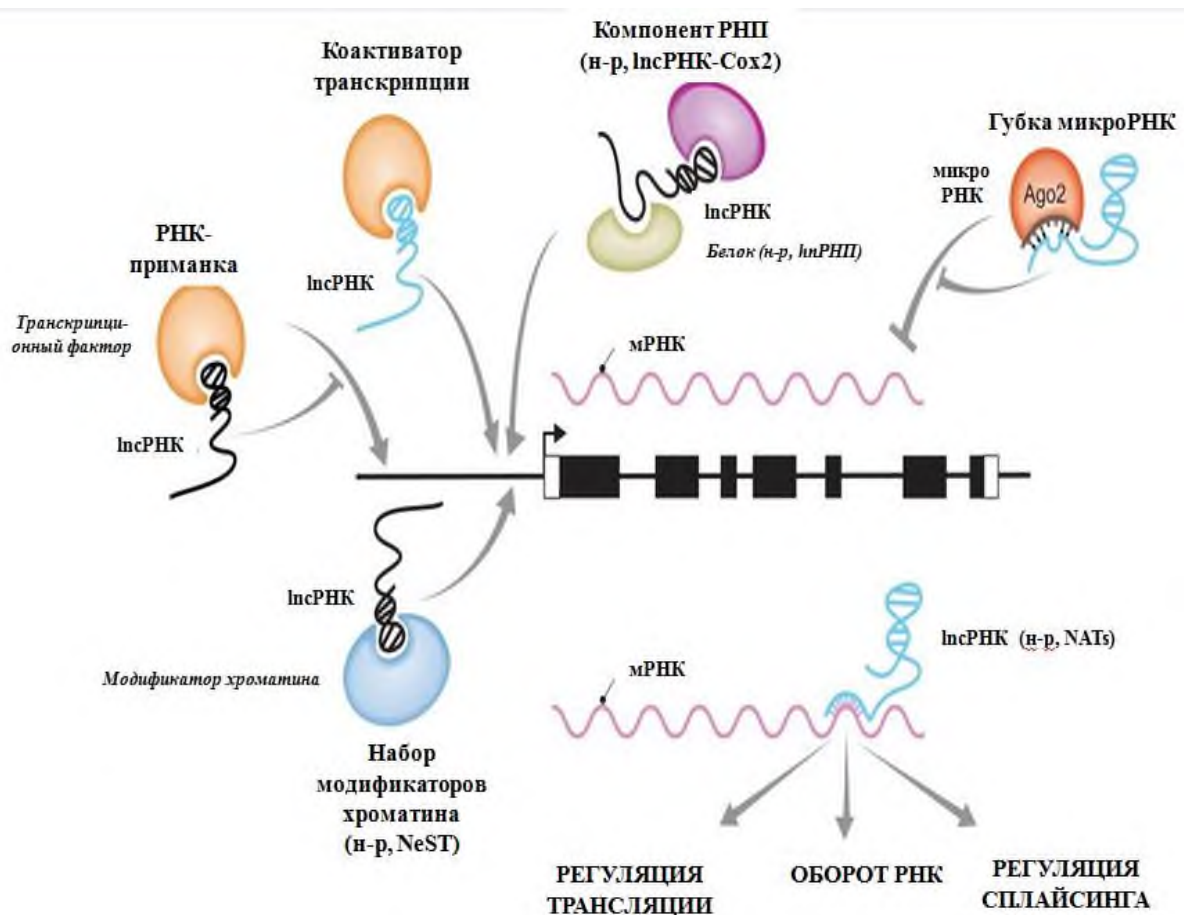


Рис. 21. Функции длинных некодирующих РНК.

Контрольные вопросы

1. Какие основные механизмы эпигенетической регуляции вы знаете?
2. Какие канцерогены влияют на метилирование ДНК?
3. Перечислите разновидности модификаций ДНК в живой природе.
4. Какие механизмы модификаций гистонов вы знаете?
5. Какие классы малых нкРНК вы знаете?
6. Что такое РНК-интерференция?

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Решение данных тестовых заданий направлено на формирование профессиональных компетенций ПК-5, ПК-6, ПК-8, ПК-9.

Выберите один правильный ответ

1. ДЛЯ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕВЫХ СИНДРОМОВ НЕ ХАРАКТЕРНО

- 1) рецессивный тип наследования
- 2) доминантный тип наследования
- 3) ранний возраст появления неоплазм
- 4) высокий процент заболеваемости раком у кровных родственников
- 5) наследование в ряду поколений

2. ГЕН НАСЛЕДСТВЕННОЙ РЕТИНОБЛАСТОМЫ РАСПОЛОЖЕН

- 1) 13q14.2
- 2) 17q11.2
- 3) 22q12.2
- 4) 3p25.3
- 5) 6q33.3

3. К ПРОТООНКОГЕНАМ НЕ ОТНОСЯТСЯ

- 1) рецепторные тирозинкиназы
- 2) регуляторы апоптоза
- 3) некиназные рецепторы
- 4) транспортные факторы
- 5) транскрипционные факторы

4. ОНКСУПРЕССОР, РЕПАРИРУЮЩИЙ ДНК

- 1) CDKN2A
- 2) BRCA1
- 3) CDH1
- 4) APC
- 5) NF1

5. К КРИТЕРИЯМ ОНКОМАРКЕРОВ НЕ ОТНОСЯТСЯ

- 1) должны быть органоспецифическими
- 2) должны выявляться в следовых количествах
- 3) должны продуцироваться только злокачественными клетками
- 4) специфичны для определенного ЗНО
- 5) позволяют идентифицировать определенный рак

6. НАСЛЕДСТВЕННЫЙ РАК СОСТАВЛЯЕТ ОТ ВСЕХ ЗНО

- 1) 1–3%
- 2) 7–10%
- 3) 20%
- 4) 30%
- 5) 90%

7. К БИОЛОГИЧЕСКИМ КАНЦЕРОГЕНАМ ОТНОСЯТСЯ

- 1) ароматические углеводороды
- 2) нитрозосоединения
- 3) стрептококки.
- 4) HHV-4
- 5) бацилла Коха

8. В КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ УЧАСТВУЕТ ОНКОСУПРЕССОР

- 1) CDKN2A
- 2) BRCA
- 3) CDH1
- 4) ARAF1
- 5) NF1

9. НЕ НАСЛЕДСТВЕННЫЙ ОПУХОЛЕВЫЙ СИНДРОМ

- 1) синдром Лая-Берка
- 2) синдром Гарднера
- 3) синдром Ли-Фраумени
- 4) синдром Горлина-Гольца
- 5) нейрофиброматоз

10. К ОНКОМАРКЕРАМ ОТНОСЯТСЯ

- 1) рибонуклеопротеиды
- 2) липопротеиды
- 3) дезоксирибонуклеотиды
- 4) рибонуклеотиды
- 5) углекислота

11. КАНЦЕРОГЕНЫ КЛАССИФИЦИРУЮТ НА

- 1) психические
- 2) неврологические
- 3) химические
- 4) венерологические
- 5) хирургические

12. ОНКОСУПРЕССОР, АКТИВИРУЮЩИЙ ПРОКАСПАЗУ-9

- 1) CDKN2A
- 2) BRCA1
- 3) CDH1
- 4) ARAF1
- 5) NF2

13. К ОНКОМАРКЕРАМ НЕ ОТНОСЯТСЯ

- 1) гормоны
- 2) ферменты
- 3) продукты обмена
- 4) радиоизотопы
- 5) липопротеины

14. ХОРИОНИЧЕСКИЙ ГОНАДОТРОПИН СПЕЦИФИЧЕН ДЛЯ

- 1) первичного рака печени
- 2) карциномы яичка
- 3) гемобластозов
- 4) колоректального рака
- 5) рака простаты

15. ДЛЯ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКИХ СПЕЦИФИЧЕН
- 1) Фрагмент цитокератина 19 (CYFRA21-1)
 - 2) PSA и PAP
 - 3) Нейрон-специфическая енолаза (HCE)
 - 4) Радиоизотоп
 - 5) NF2
16. ОКОСУПРЕССОР, АКТИВИРУЮЩИЙ RB И P53
- 1) CDKN2A
 - 2) BRCA1
 - 3) CDH1
 - 4) APC
 - 5) NF1
17. АЛЬФА-ФЕТОПРОТЕИН СПЕЦИФИЧЕН ДЛЯ
- 1) первичного рака печени
 - 2) карциномы яичка
 - 3) гемобластозов
 - 4) колоректального рака
 - 5) глиобластомы
18. ДЛЯ КАРЦИНОМЫ ПРОСТАТЫ СПЕЦИФИЧНО
- 1) фрагмент цитокератина 19 (CYFRA21-1)
 - 2) PSA и PAP
 - 3) нейрон-специфическая енолаза (HCE)
 - 4) CYP2D6
 - 5) CYP3A4
19. МАРКЕР МЕТАСТАЗИРУЮЩИХ КАРЦИНОМ ЖЕЛУДКА
- 1) CA-15-3
 - 2) CA-19-9
 - 3) CA-72-4
 - 4) ANM.
 - 5) NAV

20. ОНКОСУПРЕССОР, ВЗАИМОДЕЙСТВУЮЩИЙ С WNT-ПУТЯМИ

- 1) CDKN2A
- 2) BRCA1
- 3) CDH1
- 4) APC
- 5) AXIN

21. БЕТА2-МИКРОГЛОБУЛИН ХАРАКТЕРЕН ДЛЯ

- 1) первичного рака печени
- 2) карциномы яичка
- 3) гемобластозов
- 4) колоректального рака
- 5) глиобластомы

22. ДЛЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ СПЕЦИФИЧЕН

- 1) CA-15-3
- 2) CA-19-9
- 3) CA-72-4
- 4) NF1
- 5) NF2

23. РАКОВО-ЭМБРИОНАЛЬНЫЙ АНТИГЕН ХАРАКТЕРЕН ДЛЯ

- 1) первичного рака печени
- 2) карциномы яичка
- 3) гемобластозов
- 4) колоректального рака
- 5) рака поджелудочной железы

24. ДЛЯ МЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКИХ СПЕЦИФИЧЕН

- 1) фрагмент цитогератина 19 (CYFRA21-1)
- 2) PSA и PAP
- 3) нейрон-специфическая енолаза (NSE)
- 4) CA-19-9
- 5) CA-15-3

25. СПЕЦИФИЧНО КАРЦИНОМЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

- 1) СА-15-3
- 2) СА-19-9
- 3) СА-72-4.
- 4) ПСА.
- 5) HCE

26. ОНКОСУПРЕССОР ФОСФАТИДИЛИНОЗИТОЛ-3-КИНАЗА

- 1) CDKN2A
- 2) BRCA1
- 3) CDH1
- 4) ATM
- 5) AXIN

27. КЛЕТОЧНЫЙ АТИПИЗМ И ИНФИЛЬТРАТИВНЫЙ РОСТ ПРИ

- 1) доброкачественных неоплазмах
- 2) злокачественных неоплазмах
- 3) фибромах
- 4) остеобластокластомах
- 5) переломе трубчатых костей

28. ЛИМИТ ХЕЙФЛИКА ОБУСЛОВЛЕН

- 1) укорочением центромер при каждом делении
- 2) укорочением теломер при каждом делении
- 3) сокращением количества аминокислот в гистонах
- 4) метилированием ДНК
- 5) РНК-интерференцией

29. ЛИНИЯ ПЕРЕВИВАЕМЫХ КЛЕТОК HELA – ЭТО

- 1) клетки рака желудка, ассоциированные с *Helicobacter pylori* La
- 2) клетки, искусственно выращенные в среде *Memolimfa Lana*
- 3) клетки рака шейки матки Генриетты Лакс
- 4) клетки рака желудка Генри Ласкета
- 5) ткань простаты Гаррода Леннека

30. ВАЖНЫЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ РАКА

- 1) сцинтиграфия
- 2) электрокардиография
- 3) аускультация
- 4) тонометрия
- 5) фотография

31. ФИЛАДЕЛЬФИЙСКАЯ ХРОМОСОМА ХАРАКТЕРНА ДЛЯ

- 1) немелкоклеточного рака легкого
- 2) рака молочной железы
- 3) хронического миелолейкоза
- 4) лимфомы Ходжкина
- 5) рака желудка

32. ФИЛАДЕЛЬФИЙСКАЯ ХРОМОСОМА ОБРАЗУЕТСЯ ПРИ

- 1) реципрокной транслокации 21 и 13 хромосом
- 2) робертсоновской транслокации 19 и 21 хромосом
- 3) нерципрокной транслокации 21 и 13 хромосом
- 4) реципрокной транслокации 22 и 9 хромосом
- 5) простой транслокации 21 и 13 хромосом

33. МЕТОД ВЫЯВЛЕНИЯ ФИЛАДЕЛЬФИЙСКОЙ ХРОМОСОМЫ

- 1) цитогенетический
- 2) биохимический
- 3) молекулярно-цитогенетический
- 4) аускультативный
- 5) секвенирование

34. МНОГОФАКТОРНЫЕ ОТ ВСЕХ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

- 1) 30%
- 2) 40%
- 3) 92%
- 4) 50%
- 5) 80%

35. МНОГОФАКТОРНЫЕ БОЛЕЗНИ МОГУТ БЫТЬ

- 1) геномные и митохондриальные
- 2) моногенные и полигенные
- 3) хромосомные и болезни импринтинга
- 4) полигенные и хромосомные
- 5) ятрогенными и полисомными

36. ПРИЧИНЫ МНОГОФАКТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

- 1) среда
- 2) хромосомные мутации
- 3) геномные мутации
- 4) врачебные ошибки
- 5) деонтологические проблемы

37. К МНОГОФАКТОРНЫМ БОЛЕЗНЯМ ОТНОСЯТСЯ

- 1) расщелина верхней губы и неба, эпилепсия, сахарный диабет
- 2) синдром Дауна, гипертоническая болезнь, псориаз
- 3) эпилепсия, синдром Марфана, ИБС, гипертоническая болезнь
- 4) сахарный диабет, болезнь Гоше, болезнь Крона
- 5) нейрофиброматоз 1-го типа

38. НАСЛЕДСТВЕННЫЕ ОПУХОЛЕВЫЕ СИНДРОМЫ — ЭТО

- 1) аутосомно-рецессивные генные болезни
- 2) аутосомно-доминантные генные болезни
- 3) многофакторные болезни
- 4) хромосомные болезни
- 5) экзогенные болезни

39. К МНОГОФАКТОРНЫМ БОЛЕЗНЯМ ПРИМЕНЯЮТ МЕТОД

- 1) близнецовый, популяционно-статистический, секвенирование
- 2) скрининг новорожденных, FISH метод, закон Харди-Вайнберга
- 3) популяционно-статистический метод, цитогенетический
- 4) молекулярно-цитогенетический, цитологический
- 5) биохимический скрининг беременных

40. ДЛЯ МНОГОФАКТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ПРИМЕНЯЮТ

- 1) OR
- 2) CR
- 3) AR
- 4) SNPR
- 5) NF1

41. ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫЕ НОВООБРАЗОВАНИЯ – ЭТО

- 1) аутосомно-рецессивные генные и многофакторные болезни
- 2) аутосомно-доминантные генные и многофакторные болезни
- 3) многофакторные болезни и мукополисахаридозы
- 4) хромосомные болезни и геномные мутации
- 5) полиплоидии и анеуплоидии

42. ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ КОЭФФИЦИЕНТ РИСКА

- 1) $\lambda = \text{ЧВ МБ у родственников пробанда} / \text{ЧВ МБ в популяции}$
- 2) $H = (K_{mb} - K_{db}) / 100 - K_{db}$
- 3) $OR = (M1c \times M2k) / (M2c \times M1k)$
- 4) $p^2 + 2pq + q^2 = 1$
- 5) $h^2 = (ДДБ - ДМБ) / ДДБ$

43. ЗАКОН ХАРДИ-ВАЙНБЕРГА

- 1) $\lambda = \text{ЧВ МБ у родственников пробанда} / \text{ЧВ МБ в популяции}$
- 2) $H = (K_{mb} - K_{db}) / 100 - K_{db}$
- 3) $OR = (M1c \times M2k) / (M2c \times M1k)$
- 4) $p^2 + 2pq + q^2 = 1$
- 5) $h^2 = (ДДБ - ДМБ) / ДДБ$

44. ПОКАЗАТЕЛЬ ОТНОШЕНИЯ ШАНСОВ

- 1) $\lambda = \text{ЧВ МБ у родственников пробанда} / \text{ЧВ МБ в популяции}$
- 2) $H = (K_{mb} - K_{db}) / 100 - K_{db}$
- 3) $OR = (M1c \times M2k) / (M2c \times M1k)$
- 4) $p^2 + 2pq + q^2 = 1$
- 5) $h^2 = (ДДБ - ДМБ) / ДДБ$

45. КОНКОРДАНТНОСТЬ ДЗБ АУТОСОМНО-ДОМИНАНТНОЙ

- 1) 75%
- 2) 50%
- 3) 25%
- 4) 4–20%
- 5) 25–80%.

46. КОЭФФИЦИЕНТ НАСЛЕДУЕМОСТИ ПО ХОЛЬЦИНГЕРУ

- 1) $\lambda = \text{ЧВ МБ у родственников пробанда} / \text{ЧВ МБ в популяции}$
- 2) $H = (K_{\text{мб}} - K_{\text{дб}}) / 100 - K_{\text{дб}}$
- 3) $OR = (M_{1c} \times M_{2k}) / (M_{2c} \times M_{1k})$
- 4) $p^2 + 2pq + q^2 = 1$
- 5) $h^2 = (ДДБ - ДМБ) / ДДБ$

47. ПРОДОЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕ БЫВАЕТ

- 1) групповым
- 2) ретроспективным
- 3) проспективным
- 4) единовременным
- 5) лонгитюдным

48. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЯВЛЕНИЯ НА ЕГО СОСТАВНЫЕ ЧАСТИ

- 1) интенсивный показатель
- 2) экстенсивный показатель
- 3) лонгитюдный показатель
- 4) ретроспективный показатель
- 5) показатель Харди-Вайнберга

49. УРОВЕНЬ ЯВЛЕНИЯ В СРЕДЕ, КОТОРАЯ ЕГО ПРОДУЦИРУЕТ

- 1) интенсивный показатель
- 2) экстенсивный показатель
- 3) лонгитюдный показатель
- 4) ретроспективный показатель
- 5) показатель отбора

50. ОСОБЕННОСТИ МНОГОФАКТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

- 1) низкая частота в популяции, аллельная гомогенность
- 2) аллельная гетерогенность, высокая частота в популяции
- 3) аутосомно-доминантный тип наследования
- 4) соответствуют законам Менделя
- 5) составляют 1% от моногенных болезней

51. ИДЕНТИЧНЫХ ГЕНОВ У РОДСТВЕННИКОВ 4 СТЕПЕНИ

- 1) 100%.
- 2) 6,4%
- 3) 3,125%
- 4) 6,25%
- 5) 12,5%

52. НАИБОЛЬШАЯ ДОСТОВЕРНОСТЬ ДЛЯ МЕТОДОВ

- 1) поперечные
- 2) продольные открытые многоцентровые
- 3) проспективные одиночные слепые
- 4) продольные двойные слепые
- 5) поперечные рандомизированные многоцентровые

53. МАЛАЯ ВЫБОРКА ПРИ КОЛИЧЕСТВЕ УЧАСТНИКОВ ДО

- 1) 30
- 2) 50
- 3) 100
- 4) 100000
- 5) 70

54. КРИТЕРИЙ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДОСТОВЕРНОСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ

- 1) m
- 2) t
- 3) λ
- 4) h^2
- 5) $r+S$

55. ДЛЯ БОЛЬШИНСТВА МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДОСТАТОЧНАЯ СТЕПЕНЬ ВЕРОЯТНОСТИ БЕЗОШИБОЧНОГО ПРОГНОЗА

- 1) 80%
- 2) 89%
- 3) 95%
- 4) 98%
- 5) 100%

56. ОШИБКА РЕПРЕЗЕНТАТИВНОСТИ

- 1) m
- 2) t
- 3) λ
- 4) h^2
- 5) f

57. ТИПЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

- 1) рутинное
- 2) вариационное
- 3) обсервационное
- 4) экстремальное
- 5) латентное

58. ОТНОСИТЕЛЬНЫЙ КОЭФФИЦИЕНТ РИСКА

- 1) m
- 2) t
- 3) λ
- 4) h^2
- 5) H

59. КОНКОРДАНТНОСТЬ ДЗБ МНОГОФАКТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

- 1) 75%
- 2) 50%
- 3) 25%
- 4) 4–20%
- 5) 25–80%

60. НЕЙРОФИБРОМАТОЗ 1-ГО ТИПА ВЫЗВАН МУТАЦИЕЙ

- 1) NF1
- 2) PTCH1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) RB1
- 5) TP53

61. ГЕН НАСЛЕДСТВЕННОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

- 1) NF1
- 2) BRCA1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) RB1
- 5) TP53

62. ГЕН НАСЛЕДСТВЕННОЙ РЕТИНОБЛАСТОМЫ

- 1) NF1
- 2) PTCH1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) RB1
- 5) TP53

63. СИНДРОМ ЛИ-ФРАУМЕНИ ВЫЗВАН МУТАЦИЕЙ В ГЕНЕ

- 1) NF1
- 2) PTCH1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) RB1
- 5) TP53

64. ГЕН НАСЛЕДСТВЕННОГО РАКА ЖЕЛУДКА

- 1) CDH1
- 2) PTCH1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) RB1
- 5) TP53

65. СИНДРОМ ПЕЙТЦА-ЕГЕРСА ВЫЗВАН МУТАЦИЕЙ В ГЕНЕ

- 1) NF1
- 2) PTCH1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) RB1
- 5) TP53

66. СИНДРОМ ГОРЛИНА-ГОЛЬЦА ВЫЗВАН МУТАЦИЕЙ

- 1) NF1
- 2) PTCH1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) RB1
- 5) TP53

67. ГЕН НАСЛЕДСТВЕННОЙ ОПУХОЛИ ВИЛЬМСА

- 1) WT1
- 2) PTCH1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) RB1
- 5) TP53

68. ГЕН ТУБЕРОЗНОГО СКЛЕРОЗА

- 1) NF1
- 2) PTCH1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) TSC1
- 5) TP53

69. СИНДРОМ КОУДЕНА ВЫЗВАН МУТАЦИЕЙ В ГЕНЕ

- 1) PTEN
- 2) VHL
- 3) ATM
- 4) CDKN2A
- 5) CHEK2

70. СИНДРОМ ГАРДНЕРА ВЫЗВАН МУТАЦИЕЙ В ГЕНЕ

- 1) PTEN
- 2) VHL
- 3) ATM
- 4) CDKN2A
- 5) APC

71. ГЕН НАСЛЕДСТВЕННОЙ МЕЛАНОМЫ КОЖИ

- 1) PTEN
- 2) VHL
- 3) ATM
- 4) CDKN2A
- 5) CHEK2

72. ГЕН СИНДРОМА ГИППЕЛЯ-ЛИНДАУ

- 1) PTEN
- 2) VHL
- 3) ATM
- 4) CDKN2A
- 5) CHEK2

73. СИНДРОМ ЛИНЧА ВЫЗВАН МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ

- 1) MLH1 и MSH2
- 2) VHL
- 3) ATM
- 4) CDKN2A
- 5) CHEK2

74. СИНДРОМ НИЙМЕГЕН ВЫЗВАН МУТАЦИЯМИ ГЕНА

- 1) PTEN
- 2) VHL
- 3) ATM
- 4) CDKN2A
- 5) NBN

75. ГЕН СИНДРОМА ЛИ-ФРАУМЕНИ-2

- 1) PTEN
- 2) VHL
- 3) ATM
- 4) CDKN2A
- 5) CHEK2

76. ПРИ СИНДРОМЕ ЛУИ-БАР МУТАЦИИ В ГЕНЕ

- 1) PTEN
- 2) VHL
- 3) ATM
- 4) CDKN2A
- 5) CHEK2

77. ПРИ СПОРАДИЧЕСКОМ РАКЕ ТОЛСТОЙ КИШКИ МУТАЦИИ

- 1) AXIN1
- 2) PTCH1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) ARAF-1
- 5) TP53

78. ПРИ СПОРАДИЧЕСКИХ МЕЛАНОМАХ МУТАЦИИ В ГЕНЕ

- 1) AXIN1
- 2) PTCH1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) ARAF-1
- 5) TP53

79. В СПОРАДИЧЕСКИХ ЗНО ЧАЩЕ ВСЕГО МУТИРОВАН

- 1) AXIN1
- 2) PTCH1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) ARAF-1
- 5) TP53

80. МУТАЦИЯ СПОРАДИЧЕСКОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

- 1) BRCA1
- 2) PTCH1
- 3) STK11 и LKB1
- 4) ARAF-1
- 5) TP53

81. ПРИ НЕЙРОФИБРОМАТОЗЕ 1-ГО ТИПА

- 1) семейный рак толстого кишечника
- 2) нарушена координация, расширены кровеносные сосуды
- 3) множественные пигментные пятна на теле
- 4) двусторонние невриномы слуховых нервов
- 5) выпадение волос, ослабление памяти

82. ПРИ НЕЙРОФИБРОМАТОЗЕ 2-ГО ТИПА

- 1) семейный рак толстого кишечника
- 2) нарушена координация, расширены кровеносные сосуды
- 3) множественные пигментные пятна на теле
- 4) двусторонние невриномы слуховых нервов
- 5) рак прямой кишки

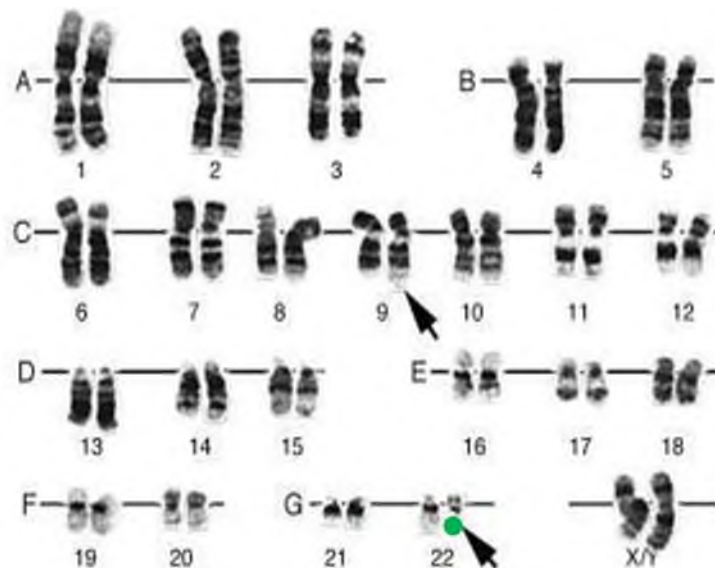
83. ПРИ СИНДРОМЕ ЛУИ-БАР

- 1) семейный рак толстого кишечника
- 2) нарушена координация, расширены кровеносные сосуды
- 3) множественные пигментные пятна на теле
- 4) двусторонние невриномы слуховых нервов
- 5) рак прямой кишки.

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

Решение данных ситуационных задач направлено на формирование профессиональных компетенций компетенции ПК-5, ПК-6, ПК-8, ПК-9.

Задача № 1. На прием обратилась женщина 35 лет с жалобами на ноющие боли в костях, периодические боли в левом подреберье. При осмотре и объективном обследовании патологии не выявлено. ЭКГ — синусовый ритм, ЧСС 75 в минуту. ЭХО-КГ патологии не выявлено. На УЗИ органов брюшной полости определено увеличение селезенки. В общем анализе крови эритроциты составляют $3 \times 10^{12}/л$; гемоглобин — 82 г/л; цветовой показатель — 1,01; тромбоциты — $75 \times 10^9/л$; лейкоциты $72 \times 10^9/л$ (базофилы 6%; эозинофилы 8%; миелобласты 5%; миелоциты 4%; юные 4%; палочкоядерные 10%; сегментоядерные 50%; лимфоциты 12%; моноциты 2%); СОЭ 62 мм/ч. При молекулярно-цитогенетическом исследовании клеток костного мозга (FISH-метод) с использованием специфического зонда для локуса 9q34.4, в люминисцентном микроскопе определено свечение зонда на длинном плече 22 хромосомы (*кариограмма с использованием FISH-метода*):



1. Какой диагноз у пациента?
2. Как называется изменение хромосом и чем оно обусловлено?
3. Как обозначается данный тип хромосомной мутации?
4. Какие препараты для фармакотерапии Вы предложите?
5. Какой наиболее эффективный способ лечения данной болезни?

Задача № 2. На прием к врачу генетику обратились супруги с ребенком с жалобами на наличие множества пигментных пятен на коже ребенка цвета «кофе с молоком», увеличение левого глазного яблока.

При сборе анамнеза оказалось, что несколько крупных пигментных пятен есть у отца ребенка. Дед ребенка со стороны отца умер от опухоли головного мозга. Осмотр мужчины позволил выявить также несколько кожных опухолей мягкой консистенции, диаметром от 0,3 до 2 см, безболезненных на ощупь. Нарушений слуха в семье и у ребенка не отмечено.

Ребенок 6 лет, мальчик, определяется множество пигментных пятен на коже туловища и конечностей от 0,1 до 6 см в диаметре. Левое глазное яблоко увеличено.

1. Какой диагноз у ребенка?
2. С какими заболеваниями необходимо проводить диф.диагностику?
3. Чем обусловлено увеличение глазного яблока?
4. Мутации в каком гене вызывают развитие данного заболевания?
5. Определите риск повторного развития больного ребенка в семье.
6. Какова тактика ведения пациента?

Задача № 3. На прием к генетику обратилась девушка с просьбой определить риск развития у нее рака молочной железы и провести генетическую диагностику на данное заболевание. Из анамнеза, у матери, бабушки и прабабушки пробанда был диагностирован рак молочной железы в молодом возрасте, были проведены радикальные мастэктомии. Возраст пробанда 20 лет, рост 170 см, вес 57 кг, правильного телосложения, отставания в умственном развитии не наблюдалось. При пальпации молочных желез патологии не выявлено. На УЗИ молочных желез без патологии.

1. Какой диагноз у матери, бабушки и прабабушки пробанда?
2. Можно ли определить риск развития рака молочной железы у пробанда без дополнительных методов обследования? Каков риск?
3. Молекулярно-генетическое исследование каких генов необходимо проводить в первую очередь? С чем это связано?
4. Укажите локализацию генов, вызывающих данное семейное заболевание, функции продуктов экспрессии генов.
5. Какова тактика ведения пациента при отрицательном результате молекулярно-генетического анализа пробанда? Что необходимо предпринять

в данном случае? При каких наследственных опухолевых синдромах характерна повышенная предрасположенность к развитию рака молочной железы?

Задача № 4. На прием к врачу генетику обратилась семья с жалобами на наличие пигментных пятен на коже у ребенка. При сборе анамнеза оказалось, что несколько крупных пигментных пятен есть у матери ребенка. Кроме того, мать ребенка 2 года назад была прооперирована в нейрохирургическом отделении по поводу двусторонних опухолей слуховых нервов. Бабушка ребенка страдала приобретенной глухотой и умерла от опухоли головного мозга.

Ребенок 4 лет, девочка, правильного телосложения, физическое и умственное развитие соответствует возрасту, определяется множество пигментных пятен на коже туловища и конечностей от 0,1 до 6 см в диаметре. Других патологических изменений не выявлено.

1. Какой диагноз у ребенка?
2. С какими болезнями необходимо проводить диф.диагностику?
3. Какие опухоли слуховых нервов у матери ребенка?
4. Мутации в каком гене вызывают развитие данного заболевания, укажите локализацию гена и механизм развития опухолей.
5. Определите риск повторного развития больного ребенка в семье.

Задача № 5. На прием обратилась супружеская пара с ребенком. Направлены педиатром по месту жительства с подозрением на наследственное заболевание в связи с наличием у ребенка гипертелоризма глаз, расщелины верхней губы и неба, деформации грудной клетки со сращением 2 и 3 ребра справа. Отец здоров, в анамнезе серьезных заболеваний не отмечено, семейный анамнез без особенностей. У матери в анамнезе базальноклеточный рак кожи в возрасте 14 лет (успешное лечение в онкодиспансере), одонтогенные кератинизирующие кисты челюстей.

1. Какой предварительный диагноз вы можете поставить?
2. Каков тип наследования болезни и риск повторного рождения ребенка в семье?
3. На какое исследование вы направите ребенка для подтверждения диагноза?

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ НА ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ И СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

Эталоны ответов на тесты

№ вопроса	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ОТВЕТ	1	1	4	2	2	2	4	3	1	2
№ вопроса	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
ОТВЕТ	3	4	4	2	1	1	1	2	3	5
№ вопроса	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ОТВЕТ	3	1	4	3	2	4	2	2	3	1
№ вопроса	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
ОТВЕТ	3	4	3	3	2	1	1	2	1	1
№ вопроса	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
ОТВЕТ	2	1	4	3	2	2	4	2	1	2
№ вопроса	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
ОТВЕТ	3	4	1	2	3	1	3	3	4	1
№ вопроса	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
ОТВЕТ	2	4	5	1	3	2	1	4	1	5
№ вопроса	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
ОТВЕТ	4	2	1	5	5	3	1	4	5	1
№ вопроса	81	82	83							
ОТВЕТ	3	4	2							

Эталоны ответов на ситуационные задачи

Задача № 1.

1. Хронический миелолейкоз.
2. Филадельфийская хромосома, обусловлена реципрокной транслокацией между локусом 34.4 длинного плеча 9-й хромосомы и локусом 11 длинного плеча 22 хромосомы.
3. $t(9;22)(q34;q11)$.
4. Цитостатики гидреа (гидроксимочевина), гливек (иматиниба мезилат), интерферон альфа.
5. Наиболее эффективна трансплантация костного мозга.

Задача № 2.

1. Диагноз: Нейрофиброматоз 1-го типа.

2. Необходимо дифференцировать с нейрофиброматозом 2-го типа (для него характерно поражение опухолью VIII пары черепно-мозговых нервов и снижением слуха). Данных о нарушении слуха у ребенка и у его кровных родственников не получено.

3. Увеличение глазного яблока связано с развитием глиомы зрительного нерва — доброкачественного новообразования с прогрессирующим течением.

4. Болезнь обусловлена в гене нейрофибромина — обозначается *NF1*, ген локализован на 17q11.2. Механизм образования опухолей связан с соматической инактивацией второго аллеля гена, который кодирует белок, обладающей онкосупрессорной активностью. В результате утраты функции онкосупрессорного белка происходит усиленная пролиферация клеток нейроэктодермального происхождения и развитие опухоли.

5. Так как заболевание имеет аутосомно-доминантный тип наследования, а жизнеспособные особи гетерозиготны (гомозиготы по доминантному аллелю погибают внутриутробно), риск развития больного в семье, где один из родителей болен, а другой — здоров, составляет 50%.

6. Тактика ведения заключается в хирургическом лечении глиомы зрительного нерва, так как она достигла больших размеров. Специфических лекарственных препаратов для лечения НФ1 нет, поэтому основная тактика заключается в динамическом наблюдении и профилактических мероприятиях (избегать воздействие канцерогенов, приема биоактивных веществ).

Задача № 3.

1. Диагноз у мамы, бабушки и прабабушки пробанда — Наследственный рак молочной железы.

2. Да, можно, при помощи клинико-генеалогического метода. Так как наследственный РМЖ — аутосомно-доминантное заболевание, а мать пробанда больна, то, учитывая 100% пенетрантность болезни, риск развития рака молочной железы у пробанда составляет 50%.

3. Самыми распространенными мутациями, вызывающими наследственный РМЖ, являются изменения в генах *BRCA1* и *BRCA2*. В связи с этим необходимо проводить поиск мутаций в данных генах.

4. Ген *BRCA1* локализован на 17q21, ген *BRCA2* локализован на 13q13.1. Функции продуктов данных генов связаны с репарацией двойных разрывов ДНК, поэтому инактивация *BRCA1* и *BRCA2* ведет к генетической нестабильности и накоплению мутаций в клетках с их злокачественной трансформацией.

5. При отрицательном результате молекулярно-генетического анализа пробанда необходимо провести аналогичное исследование ее матери и бабушки — при выявлении у них мутаций в гене *BRCA1* или *BRCA2* можно говорить, что пробанду не передалось данное заболевание, в отношении которого она здорова. Молекулярно-генетическое исследование матери и бабушки обязательно, так как случаи семейного РМЖ могут быть обусловлены и другими наследственными опухолевыми синдромами, предрасполагающими к повышенному риску развития данного ЗНО — например, синдром Коудена или синдром Ли-Фраумени. Для исключения этих заболеваний необходим поиск мутаций в генах *PTEN* и *TP53*.

Задача № 4.

1. Диагноз: Нейрофиброматоз 2-го типа.
2. С нейрофиброматозом 1-го типа.
3. У матери ребенка двусторонние невриномы слуховых нервов.
4. Мутации в гене *NF2*, который кодирует белок мерлин, участвующий в регуляции пролиферации клеток и построении цитоскелета.
5. Риск составляет 50%.

Задача № 5.

1. Диагноз: Синдром Горлина-Гольца.
2. Аутосомно-доминантный тип наследования, риск = 50%.
3. Молекулярно-генетическое исследование — выявление мутации в гене *PTCH1*, локализованного на 9q22.3 (секвенирование экзонов гена).

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная:

1. Бочков, Н.П. Клиническая генетика [Электронный ресурс]: учебник / Н.П. Бочков, В.П. Пузырев, С.А. Смирнихина; под ред. Н. П. Бочкова. — 4-е изд., доп. и перераб. — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2015. — 592 с. — Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970435700.html>.
2. Мустафин, Р.Н. Роль транспозонов в дифференцировке стволовых клеток / Р.Н. Мустафин // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. — 2019. — № 37 (2). — С. 51-57.
3. Мустафин, Р.Н. Стресс-индуцированная активация транспозонов в экологическом морфогенезе / Р.Н. Мустафин, Э.К. Хуснутдинова // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2019. — Т.4. — С. 380–389.
4. Анализ генома человека: учебное пособие / Р.Н. Мустафин, А.Х. Нурғалиева, Д.С. Прокофьева, Э.К. Хуснутдинова. — Уфа: БашГУ, 2016. — 80 с. — Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru>
5. Мустафин, Р.Н. Гипотеза происхождения вирусов от транспозонов / Р.Н. Мустафин // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. — 2018. — Т. 4. — С. 182–190. — Режим доступа: <http://www.studmedlib.ru>.
6. Мустафин, Р.Н. Методы анализа генома человека / Р.Н. Мустафин — Уфа, 2016. — 96 с. — Режим доступа: <http://library.bashgmu.ru/staticznyie-straniczyi/knigoobespechennost.html>
7. Мустафин, Р.Н. Взаимосвязь эпигенетических факторов в механизмах старения и малигнизации / Р.Н. Мустафин, Э.К. Хуснутдинова // Успехи физиологических наук. — 2017. — № 3. — С. 92–120.
8. Мустафин, Р.Н. Эпигенетика канцерогенеза / Р.Н. Мустафин, Э.К. Хуснутдинова // Креативная хирургия и онкология. — 2017. — № 3. — С. 60–67.
9. Онкогенетика и эпигенетика: учебное пособие / А.Х. Нурғалиева, Р.Н. Мустафин, И.Р. Гилязова, Д.С. Прокофьева, А.С. Карунас, Э.К. Хуснутдинова. — Уфа: БашГУ, 2018. — 108 с.

Дополнительная:

1. Куликов, В.А. Сигнальные каскады, онкогены, гены-онкосупрессоры и метаболизм раковой клетки / В.А. Куликов, Л.Е. Беляева // Вестник ВГМУ. — 2014. — Т. 13. — № 5. — С. 6–15.
2. Мустафин, Р.Н. Роль эпигенетических факторов в патогенезе нейрофиброматоза 1-го типа / Р.Н. Мустафин, Э.К. Хуснутдинова // Успехи молекулярной онкологии. — 2017. — № 3. — С. 15–27.
3. Мустафин, Р.Н. Реклингхаузена в Республике Башкортостан, результаты и перспективы исследований / Р.Н. Мустафин, М.А. Бермишева, Э.К. Хуснутдинова // Медицинский вестник Башкортостана. — 2016. — № 2. — С. 9–12.
4. Мустафин, Р.Н. Особенности нейрофиброматоза 1-го типа в республике Башкортостан / Р.Н. Мустафин, М.А. Бермишева, Э.К. Хуснутдинова // Медицинская генетика. — 2015. — Т. 14. — № 6 (156). — С. 29–35.
5. Одинцова, И.Н. Эпидемиология злокачественных новообразований в мире / И.Н. Одинцова, Л.Ф. Писарева, А.В. Хряпенов // Сибирский онкологический журнал. — 2015. — № 5. — С. 95–101.

Мустафин Рустам Наилевич
Гилязова Ирина Ришатовна
Тимашева Янина Римовна
Хуснутдинова Эльза Камилевна
Карунас Александра Станиславовна

Онкогенетика

Учебное пособие

Лицензия № 0177 от 10.06.96 г.

Подписано к печати 17.04.2020 г.

Отпечатано на цифровом оборудовании
с готового оригинал-макета, представленного авторами.

Формат 60x84 ¹/₁₆. Усл.-печ. л. 5,7.

Тираж 310 экз. Заказ № 17.

450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3,
Тел.: (347) 272-86-31, e-mail: izdat@bashgmu.ru
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России

450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3,
Тел.: (347) 272-86-31, e-mail: izdat@bashgmu.ru
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России