

# Хромосомный анализ в диагностике онкологических заболеваний.

Аспирант 2 года обучения  
Вакуленко Майя Юрьевна

# Реорганизация генома при малигнизации клеток.

Малигнизации клеток связана с реорганизацией генома, которая нередко выражается структурными или численными изменениями хромосом и их отдельных районов. В настоящее время известны многочисленные примеры хромосомных перестроек, которые либо обуславливают предрасположенность к развитию онкологических заболеваний, либо могут являться прямой причиной злокачественной трансформации. Опухолевая прогрессия также часто связана с появлением клеточных клонов, несущих новые хромосомные перестройки и отличающихся от исходного штамма целым рядом признаков, имеющих непосредственное значение для прогнозирования развития заболевания и выбора оптимальной стратегии лечения.

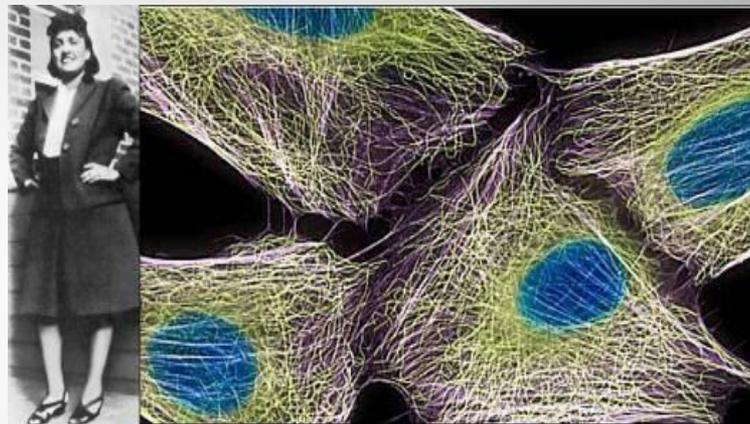


## История изучения клеточного генома при различных неоплазиях

- 1890 Hansemann -Первые систематические исследования реорганизации клеточных структур при злокачественных новообразованиях.
- Boveri 1914-выдвинул предположение о приобретении опухолевыми клетками наследуемых изменений в виде нарушения геномного баланса.
- 1930 году Винге-Были выявлены некоторые закономерности появления и дальнейшей эволюции клеток с измененным кариотипом, а развитие постулата, сформулированного в 1930, привело к описанию поведения популяций опухолевых клеток в терминах генетической изменчивости и отбора.
- 1950-х годах изучение злокачественных асцитов, как спонтанно возникших, так и экспериментально индуцированных, показало, что для малигнизированных клеток характерны численные и структурные хромосомные аномалии.
- Nowell and Hungerford 1960-Обнаружение филадельфийской хромосомы (Ph), как типичной хромосомной аномалии при хронической миелоидной лейкемии.
- Caspersson et al., 1970-Новые методы цитологического анализа хромосом, открыли возможности идентификации не только индивидуальных хромосом человека, но их отдельных районов.
- Mitelman et al., 1997-К июлю 1996 года были опубликованы результаты анализа 26523 неоплазий, несущих различные хромосомные аномалии. Результаты этих исследований были суммированы в 5-ом издании Каталога хромосомных aberrаций при онкологических заболеваниях.

## История изучения клеточного генома при различных неоплазиях

- **HeLa** — линия «бессмертных» клеток, используемая во множестве научных исследований в области биологии и фармакологии.
- Линия была получена 8 февраля 1951 года из раковой опухоли шейки матки пациентки по имени *Henrietta Lacks*, умершей от этого заболевания 4 октября того же года. Клетки из опухолевого образования Генриетты были изъяты без её ведома и согласия исследователем Джорджем Гейем, который обнаружил, что в них можно поддерживать жизнь. Ему удалось выделить одну конкретную клетку, умножить её и начать клеточную линию. Гей назвал их клетками HeLa, по начальным буквам имени Генриетты Лакс. Это первые человеческие клетки, выращенные в лаборатории, которые были «бессмертными» — они не погибали после нескольких делений и могли быть использованы во многих экспериментах.



**Хромосомы клеток HeLa имеют не укорачивающиеся теломеры.**

## Хромосомные перестройки причина возникновения рака

- 1970-С введением в цитогенетическую практику новых методов обработки хромосом и окрашивания удалось обнаружить высокую специфичность метафазных хромосом. Это связано с тем, что в хромосоме наблюдается чередование эухроматиновых и гетерохроматиновых районов, уникальных для каждого конкретного человека. Такая уникальность обеспечивает широкий хромосомный полиморфизм у человека, для которого характерны наличие определенного варианта строения хромосомы во всех клетках, передачи его от родителей к детям как простого моногенного признака при отсутствии заметного фенотипического эффекта.
- Rabbitts 1994, Heim and Mitelman 1995 -в 80-е годы были получены результаты молекулярно-биологических исследований, которые расширили представления о механизмах неопластических процессов. Значительное число точек разрывов-воссоединений хромосом было охарактеризовано на молекулярном уровне. В результате было выделено два класса генов, которые часто оказывались локализованными в районах близких к местам хромосомных перестроек : **“доминантные” онкогены и “рецессивные” гены-супрессоры** опухолевого роста.
- Klein 1989- Первым описанным случаем активации **онкогена** в результате хромосомной перестройки оказался перенос онкогена MYC в район транскрипционно активных иммуноглобулиновых генов. Следствием такого переноса является развитие лимфомы Беркитта .

## Хромосомные перестройки причина возникновения рака

- Инактивация **генов-супрессоров** опухолевого роста может быть следствием делеции хромосомного района или потери всей хромосомы. В пользу этой концепции говорят результаты исследований наследственных форм онкологических заболеваний, например: таких как ретинобластома, опухоль Вильмса. Потеря районов, содержащих гены-супрессоры опухолевого роста, была убедительно продемонстрирована совместными цитогенетическими и молекулярно-биологическими исследованиями (Knudson 1985, 1995, Stanbridge 1992, Weinberg 1994, Knudson 1995). Предполагается, что такой механизм имеет место при возникновении значительного числа различных карцином (Knudson 1985).



## **Хромосомные перестройки причина возникновения рака**

Таким образом, хромосомная перестройка приводит к изменению регуляции онкогена, выражающемуся в его активации. Значительное число подобных примеров было обнаружено при анализе сбалансированных хромосомных перестроек: транслокаций и инверсий в различных типах неоплазий.

А инактивация генов-супрессоров опухолевого роста может быть следствием делеции хромосомного района или потери всей хромосомы. Потеря районов, содержащих гены супрессоры опухолевого роста, была убедительно продемонстрирована совместными цитогенетическими и молекулярно-биологическими исследованиями. Предполагается, что такой механизм имеет место при возникновении значительного числа различных Карцином.

При проведении достаточного объема исследований было показано присутствие типичных хромосомных перестроек для большого числа неоплазий человека. В это же время стала очевидной клиническая значимость данных хромосомного анализа при постановке окончательного диагноза, выбора стратегии лечения и контроля эффективности проводимой терапии.

В качестве примера рассмотрим подробнее, какая информация, имеющая практическое значение для диагностики и лечения гемопоэтических неоплазий, может быть получена в результате цитогенетических исследований.

## **Вклад цитогенетических исследований в диагностику онкологических заболеваний.**

Практическое значение цитогенетической диагностики во многом зависит от существования альтернативных более эффективных методов детекции клональной пролиферации. Хромосомный анализ не имеет большого значения для проверки подозрения на В-лимфоцитарные неоплазии, но значим при диагностике неоплазий миелоидной линии, так как другие методы применимы только для женщин, гетерозиготных по генам X хромосомы. Хромосомный анализ имеет большое значение для диагностики случаев, когда трансформация произошла в лимфоцитах очень низкого уровня дифференцировки - еще до перестройки генов иммуноглобулинов . При таких заболеваниях другие методы диагностики оказываются мало эффективными. Наличие клона клеток с хромосомной аномалией может рассматриваться как доказательство неоплазии, однако, неудача в выявлении кариотипически аномального клона не может исключать ее наличие. Отметим случаи, когда выявление клональности цитогенетическими методами имеет большое значение для постановки окончательного диагноза.

## **выявление клональности цитогенетическими методами**

- Диагностика гипопластической острой миелоидной лейкемии при возможной апластической анемии.

- Дифференцирование миелоидного диспластического синдрома и иных нарушений функций костного мозга.

- Дифференцирование гиперэозинофильного синдрома, обусловленного миелоидной неоплазией и реактивной эозинофилии.

- Подтверждение диагноза полицитемии rubra vera.

- Подтверждение анализа хронической гранулоцитарной лейкемии на ранних стадиях.

- Подтверждение диагноза лимфомы в случаях ангиоиммунобластных лимфоаденопатия-подобных лимфом.

- Отличие лимфом, особенно иммунобластных лимфом, от неконтролируемой пролиферации, обусловленной инфекцией EBV иммунодефицитных пациентов.

- Подтверждение диагноза гранулоцитарной лейкемии, особенно в случаях без перестройки tcr генов.

## **Хромосомные аномалии, как указание на происхождение неоплазий ■**

- Цитогенетический анализ может представить информацию о моменте, когда произошла клеточная трансформация. Имела ли она место в плюрипотентной стволовой клетке, способной дифференцироваться и в лимфоидном, и в миелоидном направлениях, или трансформация произошла в мультипотентной стволовой клетке, дальнейшая дифференцировка которой ограничена миелоидным рядом, или же в клетках, коммиттированных к моноцитной/гранулоцитной или лимфоцитарной дифференцировке. Выяснение этого вопроса имеет не только чисто теоретический интерес, но также большое значение для прогнозирования развития заболевания.
- Определение хромосомных перестроек в ряде случаев позволяет высказывать предположения о механизме клеточной трансформации. Транслокации хромосом могут приводить к созданию гибридных генов или переносить онкогены в районы, находящиеся под влиянием промоторов и энхансеров других генов, а делеции хромосомных районов могут вести к потере генов-супрессоров опухолевого роста. В связи с этим, анализ генного состава районов, утерянных или прилежащих к точкам разрывов, может оказаться информативным не только для определения механизма клеточной информации, но и для поиска молекулярных зондов, которые бы позволили проводить диагностику не на метафазных хромосомах, а непосредственно на интерфазных ядрах. Такая диагностика имеет большое значение для оценки стадии заболевания и эффективности проводимой терапии.

## **Значение цитогенетических данных для выбора варианта терапии.**

- Обнаружение кариотипических аномалий в случаях миелодисплазивного синдрома, ранее имеющего нормальный кариотип, указывает на ухудшение прогноза. Об ухудшение прогноза свидетельствует и выявление новых хромосомных аномалий при хронической гранулоцитарной лейкемии. Во время бластного криза значительная часть пациентов имеют вторичные кариотипические аномалии. Интересно отметить различия дополнительных кариотипических нарушений, имеющих место при лимфобластной и миелобластной трансформациях, что, вероятно, является следствием реализации различных генетических механизмов клеточной трансформации.

Рецидивы миелобластной лейкемии часто связаны с появлением клеток с новыми кариотипическими аномалиями.

Кроме перечисленных выше моментов, информация о кариотипических изменениях может оказаться полезной для определения вероятности регрессии заболевания, эффективности трансплантации костного мозга, наследственного характера некоторых заболеваний, дифференциации между рецидивом и вторичной лейкемией. В связи с этим не удивительно, что результаты цитогенетического анализа могут оказывать большое влияние на выбор оптимальной стратегии лечения, и на ее корректировку.

# анализ хромосомных изменений

- В настоящее время можно выделить несколько основных подходов, широко используемых современной молекулярной цитогенетикой при анализе хромосомных изменений в случае онкологических заболеваний:
- **Идентификация материала протяженных хромосомных районов и целых хромосом.**
- **Детекция в интересующем районе конкретной последовательности ДНК.**
- **Анализ нарушения баланса отдельных хромосомных районов.**

