

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.

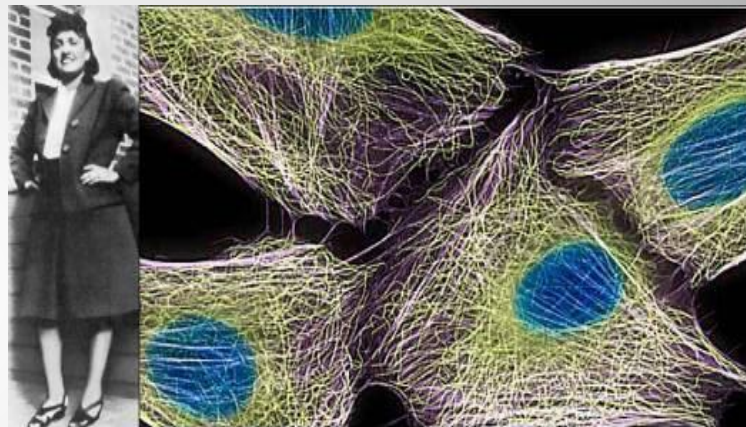


История изучения клеточного генома при различных неоплазиях

- 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.**

