



Гончаренко Г. Г., Чеховский А.Л.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ РАКОВОЙ КЛЕТКИ



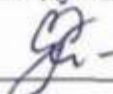
Гомель 2021

Учреждение образования Гомельский государственный университет
имени Франциска Скорины»

Факультет биологический
Кафедра зоологии, физиологии и генетики

СОГЛАСОВАНО

Заведующий кафедрой

 Г.Г. Гончаренко

05.10.2020 г.

СОГЛАСОВАНО

Декан факультета


В.С. Аверин

05.10.2020 г.

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС
ПО УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ**

Молекулярная биология раковой клетки

для специальности 1-31 80 01 – «Биология»

Рассмотрено и утверждено на заседании
кафедры зоологии, физиологии и генетики
05.10.2020 г. протокол № 3

Составители:

член-корр. НАН Б, профессор, д.б.н. Гончаренко Г.Г.
к.б.н., старший преподаватель Чеховский А.Л.

Рассмотрено и утверждено
на заседании научно-методического совета
УО «Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины»
30.10.2020 г. протокол № 2

**02 Содержание учебно-методического комплекса по дисциплине
«Молекулярная биология раковой клетки»
для специальности
1-31 80 01 – «Биология»**

- 01 Титульный лист
- 02 Содержание
- 03 Пояснительная записка
- 1 Теоретический раздел
 - 1.1 Перечень теоретического материала
- 2 Практический раздел
 - 2.1 Задания к лабораторным работам
- 3 Контроль знаний
 - 3.1 Перечень вопросов к зачету
 - 3.2 Критерии оценок по дисциплине
 - 3.3 Тестовые задания по дисциплине
- 4 Вспомогательный раздел
 - 4.1 Учебная программа дисциплины
 - 4.2 Глоссарий
 - 4.3 Перечень рекомендуемой литературы

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

03 ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебно-методический комплекс предназначен для магистрантов 2 курса специальности 1-31 80 01 «Биология».

Учебная дисциплина «Молекулярная биология раковой клетки» относится к дисциплинам по выбору магистрантов цикла специальных дисциплин учебных планов.

Данная дисциплина выступает в качестве одной из научно-прикладных дисциплин, знания по которым необходимы для становления полноценного специалиста, работающего в научных, медицинских и педагогических учреждениях.

В курсе рассматриваются основные особенности раковой клетки, а также факторы риска развития злокачественных опухолей. Подробно приводится генетический контроль и регуляция клеточного цикла в нормальной клетке. Представлены признаки и механизмы возникновения характерных свойств неопластических клеток. Рассмотрена тема онкогенов, опухолевых супрессоров (pRb, p53) и мутаторных генов (BRCA1, BRCA2). Описаны причины и механизм развития рака молочной железы (РМЖ) и простаты. Приведены основные цитокины, участвующие в канцерогенезе. Рассмотрен механизм апоптоза (активация программируемой клеточной гибели). Отдельно показана роль теломеразы в канцерогенезе и ее важное значение в диагностике и лечении опухолей. В заключение приведены особенности эпигенеза и роль метилирования ДНК в развитии рака.

Цель учебной дисциплины – сформировать у студентов представление о принципах инициации и развития злокачественных новообразований, особенностях фенотипа и генотипа клеток опухолей, современных методах молекулярной диагностики.

В задачи учебной дисциплины входит изучение молекулярно-генетических механизмов инициации, развития и лечения злокачественных новообразований человека.

Программа учебной дисциплины составлена с учетом межпредметных связей и программ по смежным учебным дисциплинам («Генетика», «Геномика», «Молекулярная биология» и др.). Преподавание учебной дисциплины «Молекулярная биология раковой клетки» базируется на знаниях, полученных магистрантами при изучении дисциплин «Цитология и гистология», «Биохимия», «Молекулярная биология», «Генная инженерия» и других.

Содержание разделов ЭУМК соответствует образовательным стандартам высшего образования данной специальности. Главная цель ЭУМК – оказание методической помощи магистрантам в систематизации учебного материала в процессе подготовки к итоговой аттестации по курсу «Основы иммунологии».

Структура ЭУМК включает:

1. Учебно-методическое обеспечение дисциплины

1.1. Теоретический раздел (учебное издание для теоретического изучения дисциплины в объеме, установленном типовым учебным планом по специальности).

1.2. Практический раздел (материалы для проведения практических занятий по дисциплине в соответствии с учебным планом).

2. Контроль контролируемой самостоятельной работы магистрантов (материалы текущей и итоговой аттестации, позволяющие определить соответствие учебной деятельности обучающихся требованиям образовательных стандартов высшего образования и учебно-программной документации, в т.ч. вопросы для подготовки к экзамену, задания, тесты, вопросы для самоконтроля и др.).

3. Вспомогательный раздел.

3.1. Учебно-программные материалы (учебная программа).

3.2. Информационно-аналитические материалы (список рекомендуемой литературы, перечень электронных образовательных ресурсов и их адреса).

Работа с ЭУМК должна включать на первом этапе ознакомление с тематическим планом дисциплины, с тематикой лекций и практических занятий, перечнях рассматриваемых вопросов и рекомендуемой для их изучения литературы.

Для подготовки к практическим занятиям и промежуточным зачетам необходимо, в первую очередь, использовать материалы, представленные в разделе учебно-методическое обеспечение дисциплины, а также материалы для текущего контроля самостоятельной работы. В ходе подготовки к итоговой аттестации рекомендуется ознакомиться с требованиями к компетенциям по дисциплине, изложенными в учебной программе, а также перечнем вопросов к экзамену. Для написания рефератов могут быть использованы информационно-аналитические материалы, указанные в соответствующем разделе ЭУМК.

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

знать:

- закономерности реализации контроля за целостностью генетического материала клетки;
- механизмы инициации опухолей ксенобиотиками и эндогенными мутагенами;
- основные принципы репарации повреждений генетического материала клетки;

уметь:

- определять тип повреждающего эффекта при взаимодействии с ДНК клетки эндо- или экзогенных мутагенов;

- использовать знания для определения потенциально опасных соединений, обладающих выраженным канцерогенным эффектом;

владеть:

- терминологическим аппаратом дисциплины;
- полученными знаниями для более глубокого понимания современных научных работ в области молекулярной биологии, онкологии и молекулярной клинической диагностики;

Изучение учебной дисциплины «Молекулярная биология раковой клетки» должно обеспечить формирование у магистрантов следующих компетенций:

Требования к академическим компетенциям специалиста

АК-1. Уметь применять базовые научно-теоретические знания для решения теоретических и практических задач.

АК-2. Владеть системным и сравнительным анализом.

АК-3. Владеть исследовательскими навыками.

АК-4. Уметь работать самостоятельно.

АК-6. Владеть междисциплинарным подходом при решении проблем.

Научно-исследовательская деятельность

ПК-1. Квалифицированно проводить научные исследования в области биохимии и молекулярной биологии, проводить анализ результатов экспериментальных исследований, формулировать из полученных результатов корректные выводы.

ПК-2. Осваивать новые модели, теории, методы исследования, участвовать в разработке новых методических подходов.

ПК-3. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научной литературе, составлять аналитические обзоры.

ПК-4. Готовить научные статьи, сообщения, доклады и материалы к презентациям.

ПК-5. Составлять и вести документацию по научным проектам исследований.

Научно-производственная деятельность

ПК-6. Квалифицированно проводить научно-производственные исследования, выбирать грамотные и экспериментально обоснованные методические подходы, давать рекомендации по практическому применению полученных результатов.

ПК-7. Осуществлять поиск и анализ данных по изучаемой проблеме в научно-технических и других информационных источниках.

ПК-8. Организовывать работу по подготовке научных статей и заявок на изобретения и лично участвовать в ней.

ПК-9. Организовывать работу по обоснованию целесообразности научных проектов и исследований.

ПК-10. Составлять и вести документацию по научно-производственной деятельности.

Управляемая самостоятельная работа (УСР) студентов предполагает изучение теоретического материала на основе списка источников литературы, приведенных в данной программе. УСР протекает в форме делового взаимодействия: с первой недели семестра студент получает от преподавателя учебные задания на самостоятельную проработку отдельных тем или их частей, непосредственные указания, рекомендации преподавателя об организации и содержании самостоятельной деятельности. Преподаватель выполняет функцию управления через учет, контроль и коррекцию ошибочных действий.

Работа студентов в рамках УСР состоит в проработке обзорного лекционного материала, в изучении по учебникам программного материала и рекомендованных преподавателем литературных источников.

Работа преподавателя состоит в обучении студентов способам самостоятельной учебной работы и развитию у них соответствующих умений и навыков, в разработке программ контроля самостоятельной работы студентов.

Дисциплина «Молекулярная биология раковой клетки» изучается магистрантами II курса дневной формы обучения специальности 1-31 80 01 Биология в 3 семестре.

Общее количество часов по дисциплине – 90 часов;

- аудиторное количество часов для дневной формы обучения – 36 часов, из них: лекции 26 часов (в том числе 10 часов УСР), практические занятия – 10 часов, форма отчетности – зачет в 3 семестре.

- аудиторное количество часов для заочной формы обучения – 12 часов, из них: лекции – 8 часов, практические занятия – 4 часа, форма отчетности – зачет в 3 семестре.

1 ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ РАЗДЕЛ

1.1 Перечень теоретического материала

- 1 Введение
- 2 Генетически контроль клеточного цикла
- 3 Инициация опухолевых клеток и базовые механизмы их возникновения
- 4 Онкогены
- 5 Опухолевые супрессоры pRb p53
- 6 Мутаторные гены
- 7 Онкогенез рака молочной железы
- 8 Онкогенез рака предстательной железы
- 9 Цитокины
- 10 Инструктивный апоптоз – механизм активации программируемой клеточной гибели
- 11 Роль теломеразы в канцерогенезе
- 12 Теломераза, теломеры и лечение опухолей
- 13 Эпигенез, роль метилирования ДНК в карценогенезе

ЛЕКЦИЯ 1

ВВЕДЕНИЕ

1. Особенности раковых клеток
2. Основные факторы риска злокачественных опухолей

1. Особенности раковых клеток

Канцерогенез – сложный многостадийный процесс, для реализации которого необходимо несколько, последовательных генетических событий. Известно, что злокачественные опухоли редко возникают *de novo* и что им **предшествуют предраковые изменения**, из которых с той или иной степенью вероятности может развиваться злокачественная опухоль.

Экспериментальные исследования, касающиеся индукции опухолей с применением химических канцерогенов, привели к созданию в 60-х годах **концепции инициации и промоции**. Согласно этой концепции, в результате инициации клетка претерпевает **необратимые изменения**, которых, однако, **недостаточно** для ее превращения в опухолевую. На стадии же **промоции** в клетке происходят процессы, приводящие к экспрессии опухолевого фенотипа, т.е. превращению инициированной клетки в **опухолевую**.

Открытие генов и их продуктов, участвующих в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток и играющих ведущую роль в формировании опухоли, стало переломным этапом в понимании механизмов канцерогенеза. К этим генам в первую очередь относятся **протоонкогены** и **гены-супрессоры**. Структурные изменения, гиперэкспрессия или потеря этих генов приводит к нарушению контроля нормального клеточного роста, дифференцировки и пролиферации, и в конечном счете – к злокачественной трансформации клетки. Злокачественная опухоль развивается в результате инактивации генов-супрессоров и активации онкогенов.

Изучение **наследственных синдромов**, таких как, семейная ретинобластома и аденоматозный полипоз толстой кишки, показало, что первой ступенью процесса канцерогенеза могут быть наследуемые терминальные мутации в генах **Rb**, **APC** и некоторых других. Однако для развития злокачественных опухолей **необходимы дополнительные генетические изменения** в соматических клетках.

Пролиферация является необходимым компонентом процесса канцерогенеза. Она может быть результатом генетических изменений в клетке, но может быть связана с другими физиологическими или патологическими процессами и предшествовать изменению в геноме клетки. Репликация ДНК в пролиферирующих клетках делает их **более чувствительными** к воздействиям, вызывающим повреждение их генома. В них также

увеличивается вероятность спонтанных мутаций, так что пролиферация может быть охарактеризована как ранняя стадия канцерогенеза.

Важное значение в процессе канцерогенеза имеет приобретаемое трансформированными клетками свойство **ухода от апоптоза**, т.е. присутствующего нормальной клетке механизма клеточного самоуничтожения. Уход от апоптоза повышает жизнеспособность трансформированной клетки, делает ее менее чувствительной к факторам противоопухолевого иммунитета и терапевтическим воздействиям. К отличительным свойствам опухолевой клетки принадлежит их способность **стимулировать неоангиогенез**, т.е. формировать новые кровеносные и лимфатические сосуды.

Открытие **теломеразы** — фермента, удлиняющего концы линейных хромосом, и роли этого явления в процессе формирования опухоли является одним из наиболее значимых в области фундаментальной онкологии. В связи с тем, что примерно **85 % опухолей человека обладают теломеразной активностью**, можно утверждать, что реакция теломеразы участвует в канцерогенезе, следовательно, ингибирование (репрессия) теломеразы должно уменьшать вероятность развития опухоли.

Причиной развития некоторых форм опухолей у человека является **вирусная инфекция** (гепатит, ВИЧ, вирус папилломы и т.д.).

Открытие феномена индивидуальной чувствительности к канцерогенным воздействиям, обусловленной **наследственными особенностями организма**, способствовало пониманию процесса канцерогенеза как результата взаимодействия эндогенных и экзогенных факторов. Генетические изменения, которые наследуются и с высокой вероятностью приводят к развитию рака, обычно выражаются в **мутациях одного аллеля гена-супрессора: ген ретинобластомы (Rb), ген-супрессор р53, ген аденоматозного полипоза толстой кишки (APQ)** и т.д.

Теория, касающаяся роли **иммунологического статуса** в развитии опухолей человека, подтвердилась только для опухолей **вирусного генеза** — большинства злокачественных лимфом и саркомы Капоши. Риск развития этих форм опухолей высок у больных с иммуносупрессиями или различными формами иммунодефицита, особенно у больных СПИДом и ВИЧ-инфицированных.

Исследования в области эпидемиологии рака показали, что **факторы образа жизни и окружающей среды** являются основной причиной развития **90-95 % злокачественных опухолей**. По данным Международного агентства по изучению рака, около 80 веществ, сложных смесей и профессиональных факторов являются канцерогенными для человека. При этом **причиной 30-35 % всех опухолей человека является курение**. К доказанным канцерогенным факторам окружающей среды относятся **ультрафиолетовая и ионизирующая радиация**. В этиологии ряда злокачественных опухолей человека важную роль играют **факторы питания**.

Таким образом, процесс канцерогенеза является результатом воздействия на человека **множества различных факторов**, как экзогенных, так и эндогенных. Переход от одной стадии в другую (последующую или предыдущую) также происходит в результате **взаимодействия этих факторов**, которые могут как **способствовать**, так и **противодействовать** процессу канцерогенеза.

2. Основные факторы риска злокачественных опухолей.

1) Курение

Влияние курения на риск возникновения злокачественных опухолей хорошо изучено. Курение табака является канцерогенным фактором для человека и приводит к развитию рака губы, языка и других отделов полости рта, глотки, пищевода, поджелудочной железы, гортани, трахеи, бронхов, мочевого пузыря, почки и т.д. В состав табачного дыма, кроме никотина, входит несколько десятков токсичных и канцерогенных веществ, в их числе полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), ароматические амины, летучие нитрозосоединения, бензол, формальдегид, фенолы, хром, кадмий, полоний-210, свободные радикалы и т.д.

Риск возникновения рака полости рта и глотки у курящих **повышен в 2-3 раза** по сравнению с некурящими, а у выкуривающих более одной пачки сигарет в день относительный риск **достигает 10**. Отмечена дозовая зависимость между возрастом начала курения, длительностью, количеством сигарет, выкуриваемых в день, и показателем относительного риска (ОР) – вероятностью развития заболевания относительно группы людей, не подверженных влиянию исследуемого фактора.

ОР рака легкого равен 7,9 у курящих 1-14 сигарет, 12,7 – у выкуривающих 15-24 сигареты и 25 – у тех, кто курит более 25 сигарет в день. Наибольший ОР рака легкого отмечен у мужчин, которые **начали курить до 15 лет** (15,0). У мужчин, начавших курить в возрасте 15-19, 20-24 и более 25 лет, ОР был равен 12,8, 9,7 и 3,2 соответственно (**рисунок 1**).

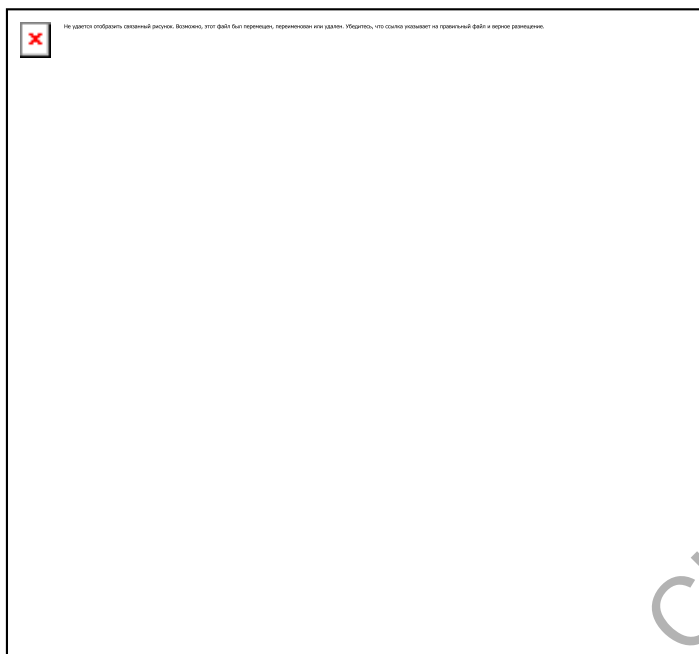


Рисунок 1 – Рак легкого 4 стадии.

Риск возникновения рака пищевода **в 5 раз выше** у курящих по сравнению с некурящими. Риск возникновения рака желудка у курящих равен **1,3-1,5**. ОР рака поджелудочной железы **повышен в 2-3 раза**. Курение является причиной развития рака мочевого пузыря и почки. Например, риск рака мочевого пузыря среди курящих **повышен в 5-6 раз**.

Атрибутивный риск (АР), т.е. процент всех случаев рака, этиологически связанный с курением, различен для различных форм злокачественных опухолей. Например, по самым консервативным оценкам, непосредственной **причиной 85-90 % рака легкого у мужчин является курение сигарет**. По данным эпидемиологических исследований, проведенных в США, **курение сигарет является причиной 35 % всех злокачественных опухолей**.

Пассивное курение также является канцерогенным для человека. ОР рака легкого у некурящих женщин, мужья которых курят, равен по данным различных исследований **1,3-1,7**. Таким образом, курение является важнейшей причиной развития злокачественных опухолей.

2) Питание

Питание играет важную роль в этиологии злокачественных опухолей, по крайней мере, **одна треть всех злокачественных опухолей связана с питанием**. Географическая вариабельность в заболеваемости злокачественными опухолями обусловлена некими факторами окружающей среды и образа жизни, а не популяционными генетическими особенностями, в связи с чем и была сформулирована **гипотеза о роли питания в этиологии злокачественных опухолей**.

Потребление жиров, особенно животных, мяса и молока, количество потребляемых калорий коррелирует с заболеваемостью раком толстой

кишки, молочной железы, матки и простаты. Доказано, что **ожирение является доминирующим фактором риска** для рака эндометрия, он увеличивается примерно **в 3 раза** при повышении весоростового индекса с 20 до 35. Кроме того, избыточная масса тела повышает риск рака желчного пузыря, рака молочной железы, почки и толстой кишки. Для рака молочной железы показано **удвоение ОР** при повышении весоростового индекса с 17 до 37.

При этом **повышенная физическая активность, снижает риск развития рака** практически всех гормонозависимых форм. Показана **защитная роль клетчатки**. Наиболее мощным эффектом обладает клетчатка овощей и фруктов. Доказано **защитное влияние овощей и фруктов** против развития различных злокачественных опухолей. Выраженным защитным эффектом обладают **лук и чеснок**.

3) Гормоны

Гормональный статус является фактором, определяющим риск многих злокачественных опухолей и прежде всего рака тела матки, яичников, молочной железы, простаты и яичка. Скорее всего злокачественная опухоль развивается в результате **повышенной (чрезмерной) гормональной стимуляции органа**, нормальный рост, развитие и функция которого находятся под контролем того или иного стероидного или полипептидного гормона.

Синтез и метаболизм стероидных половых гормонов в значительной степени определяются типом питания, в частности потреблением жира. Жирные кислоты, особенно насыщенные, ингибируют связывание эстрадиола, что является причиной высокой концентрации в плазме свободного эстрадиола. Снижение же концентрации эстрадиола в плазме на 17 % приводит к **4-5-кратному снижению** риска рака молочной железы. Высокие уровни эндогенных половых гормонов в крови повышают риск рака тела матки и яичников. Потребление жиров влияет и на концентрацию в крови мужского полового гормона тестостерона, что повышает ОР рака простаты. Однако эта связь менее ярко выражена.

Ранний возраст начала менструации (менархе) и поздняя менопауза **повышают риск** рака молочной железы, тела матки и яичника. **Роды снижают ОР рака молочной железы**. По сравнению с никогда не рожавшей женщиной, у женщины, которая родила одного ребенка, **ОР снижен на 50 %**. Более того, с увеличением количества беременностей, завершившихся родами, риск рака молочной железы продолжает снижаться. Ранние роды также являются фактором, **снижающим риск рака молочной железы**. Так, у женщин, которые родили первого ребенка до 25 лет, ОР рака молочной железы **на 35 % ниже**, чем у женщин, у которых первые роды были после 35 лет.

4) Потребление алкоголя

Чрезмерное потребление алкогольных напитков **повышает риск** развития злокачественных опухолей. **Доказана канцерогенность** потребления алкогольных напитков для полости рта, глотки, гортани, печени, поджелудочной и молочной желез. Для других форм рака данные неоднозначны. Отмечен **синергизм между канцерогенным эффектом курения и потребления алкоголя**, и этот эффект имеет **мультипликативный** характер. В большинстве исследований ОР растет вместе с увеличением количества потребляемого алкоголя и может достигать 10 и более.

Чрезмерное потребление алкоголя **повышает риск** первичного рака печени примерно в 1,5-5 раз. Однако среди населения, в котором распространен другой важный фактор риска для первичного рака печени – инфекция вирусом гепатита В и С, влияние потребления алкоголя на риск рака печени более выражено – наблюдается **8-кратное увеличение ОР** (рисунок 2). ОР рака молочной железы **на 30 % выше** у женщин, потребляющих спиртные напитки, чем у непьющих.

При этом механизм канцерогенного действия алкоголя все еще **неясен**. В экспериментальных исследованиях этанол неканцерогенен. Однако этанол играет роль **промотора канцерогенеза** в многочисленных экспериментах. Скорее всего подобный эффект спирта можно объяснить его способностью повышать проницаемость мембран клеток. Также этанол воздействует на метаболизм ксенобиотиков и усиливает их повреждающее действие на ДНК.

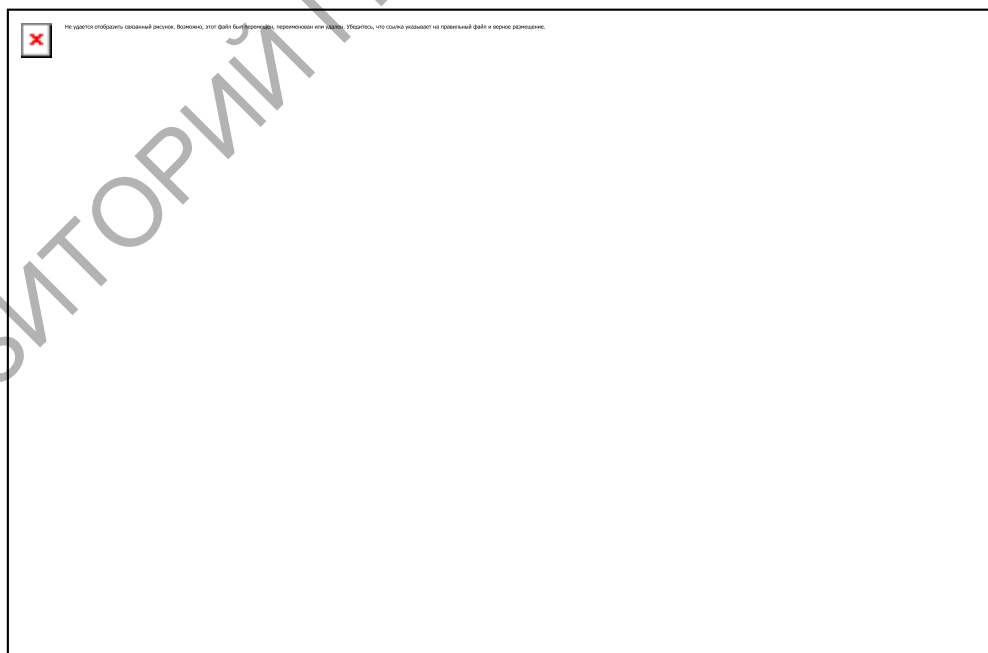


Рисунок 2 – Рак печени в комбинации с хроническим вирусным гепатитом.

5) Профессиональные канцерогены

Несколько десятков веществ, применяемых в промышленности, или промышленных процессов **повышают риск** развития злокачественных опухолей и являются канцерогенными для человека. Кроме того, экспериментальные и эпидемиологические исследования показали, что около 100 веществ, с которыми человек соприкасается в условиях производства, также являются предположительно канцерогенными. Канцерогенные профессиональные факторы редко представлены в виде одного определенного вещества. Чаще мы имеем дело со **сложными смесями, не все составные части которых могут быть известны**. Долю случаев рака, причинно связанных с профессиональным воздействием, оценить трудно, но, по имеющимся данным, она составляет **около 5 %** всех злокачественных новообразований в развитых странах.

6) Загрязнение воздуха

Высокий уровень **загрязнения атмосферного воздуха городов и близость места проживания к некоторым промышленным предприятиям** могут быть связаны с повышенным риском рака легкого. Основными источниками загрязнения атмосферного воздуха являются предприятия **металлургической, коксохимической, нефте-перерабатывающей и алюминиевой промышленности, ТЭЦ и автомобильный транспорт**.

Эпидемиологические данные указывают на повышение риска рака легкого в связи с загрязнением атмосферного воздуха. ОР рака легкого, связанный с загрязнением атмосферного воздуха, **не превышает 1,5**. В большинстве случаев повышение риска рака легкого отмечено только у курящих. Однако примерно 4,3 % рака легкого у мужчин и 10,5 % у женщин вызвано **загрязнением атмосферного воздуха**. В целом процент злокачественных опухолей, связанных с загрязнением атмосферного воздуха, **не превышает 2 %** и колеблется в различных странах в пределах 0,1-2 %.

7) Ультрафиолетовое излучение

Ультрафиолетовое (УФ) излучение является канцерогенным и приводит к развитию базалиомы, плоскоклеточного рака и меланомы кожи. В большинстве плоскоклеточных раков кожи человека в гено-супрессоре p53 обнаруживаются мутации, **аналогичные мутациям** в результате воздействия УФ-радиации. Кроме того, известно, что УФ-радиация вызывает изменение в иммунологической системе, тем самым **ингибируя** отторжение трансформированных клеток. Злокачественные опухоли кожи преобладают среди «белого» населения и особенно среди голубоглазых и сероглазых блондинов и рыжеволосых, которые чаще сгорают на солнце и у которых есть склонность к появлению веснушек. Чаще опухоли кожи появляются на открытых частях тела.

8) Ионизирующая радиация

Ионизирующая радиация вызывает практически все формы злокачественных опухолей, кроме лимфобластного лейкоза, лимфогранулематоза, рака шейки матки и простаты. Самым важным источником радиации для человека является **естественная фоновая радиация**, представляющая собой комплекс излучений разного вида. Следующую по величине дозу радиации в течение жизни человек получает от **медицинских источников**. В среднем в год человек получает дозу радиации, равную 1,6 мЗв, исключая радон (доза от которого может варьировать и превышать указанное значение). В среднем, **4-5 % всех злокачественных опухолей человека причинно связаны с ионизирующей радиацией**.

В медицинской практике **лучевая терапия повышает риск возникновения второй злокачественной опухоли у онкологических больных**. Радиотерапия ответственна за 5-10 % всех вторых опухолей.

При изучении отдаленных последствий облучения населения, связанных со взрывами атомного оружия (бомбардировка в Хиросиме и Нагасаки), отмечено, что риск, связанный с облучением, был **повышен для острого лимфоцитарного, миелоцитарного и хронического миелоцитарного лейкозов. Рак щитовидной железы** был первой солидной опухолью, заболеваемость которой была повышена у жителей Хиросимы и Нагасаки, подвергшихся атомной бомбардировке (**рисунок 3**). Выявлена линейная зависимость риска заболевания от дозы облучения. Также значительно повышен риск **рака молочной железы**. Зависимость частоты возникновения опухоли от дозы также имела линейный характер. Отмечено **повышение риска всех гистологических форм рака легкого, желудка, толстой кишки, печени, яичника, мочевого пузыря и кожи**.



Рисунок 3 – Агрессивный рак щитовидной железы.

Оценка отдаленные последствия аварии на Чернобыльской АЭС показывает достоверное **повышение риска рака щитовидной железы среди детей**. Рост заболеваемости раком щитовидной железы был наиболее выражен в Гомельской области, в регионе, жители которого получили наиболее высокие дозы радиации и, в частности, радиоактивного йода (^{131}I), экспозиция которому предшествовала экспозиции другим радиоактивным веществам, в частности изотопам цезия. Результаты эпидемиологических исследований, в которых изучалась связь между аварией на ЧАЭС и раком щитовидной железы у взрослых, менее убедительны.

Данные эпидемиологических исследований не указывают на связь между аварией на ЧАЭС и заболеваемостью лейкозом у детей. Однако повышение риска острого лейкоза было отмечено среди ликвидаторов, получивших наибольшие дозы радиации.

9) Инфекционные факторы

Имеется выраженная корреляция между инфицированностью населения вирусом гепатита В (HBV) и заболеваемостью гепатоцеллюлярным раком. **Хроническая инфицированность HBV в 100 раз и более повышает риск развития гепатоцеллюлярного рака**. ОР достоверно колебался в пределах 5-30. Риск возникновения рака значительно выше у мужчин, чем у женщин, что связано как с гормональным профилем мужчин, так и с особенностями образа жизни, т.е. потреблением алкоголя и курением. **В случае вируса гепатита С (HCV) риск рака печени существенно повышается – ОР составляет около 50.**

Заражение вирусом папилломы человека (HPV) может приводить к предраку и раку шейки матки. HPV 16-го и 18-го типов обнаруживаются в подавляющем большинстве случаев рака шейки матки. Носительство HPV **в 10 раз и более повышает риск рака**. Показатели ОР варьируют в пределах 25-100.

ВИЧ-инфицированность связана с повышенным риском саркомы Капоши (СК). Среди больных с пересаженными органами, которые получали иммуносупрессивную терапию, СК составляет 5 % от всех злокачественных опухолей. С начала 80-х годов XX в., когда началась эпидемия СПИДа, заболеваемость СК начала резко расти. **Риск СК среди группы ВИЧ-инфицированных в 2000 раз и более выше, чем среди здорового населения.**

10) Наследственность

Некоторые наследуемые дефекты повышают риск возникновения рака **в 100 раз и более**. В ряде случаев вероятность заболевания у носителей этого наследуемого дефекта **достигает 100 %** (в таких случаях «наследственность» является достаточной причиной для возникновения

рака). Однако подобные генетические дефекты чрезвычайно редки. Процент злокачественных опухолей, этиологически связанных с редкими наследственными синдромами, **не превышает 0,1-0,5 %**.

Молекулярным субстратом наследственной формы рака являются унаследованные от родителей **терминальные мутации в одном аллеле гена супрессора**. Этот дефект поражает все соматические клетки потомков, а мутации во втором аллеле, которые приводят к малигнизации клетки, являются приобретенными и чаще всего носят случайный характер. **Инактивация рецессивных генов супрессоров – непосредственная причина большинства наследственных и семейных форм рака.**

К наиболее хорошо изученным наследственным злокачественным опухолям и наследственным синдромам относятся **ретинобластома, опухоль Вильмса, семейный аденоматозный полипоз толстой кишки, синдром Линча, синдром Ли-Фраумени, наследственный рак молочной железы.**

Вопросы для самоконтроля:

- 1. Перечислите особенности раковых клеток.*
- 2. Охарактеризуйте особенности раковых клеток, связанных с протоонкогенами и генами-супрессорами, наследственными синдромами и пролиферацией.*
- 3. Охарактеризуйте особенности: апоптоз, неоангиогенез, иммунологический статус, теломеразная активность.*
- 4. Перечислите основные факторы риска злокачественных опухолей.*
- 5. Курение и питание, как факторы риска.*
- 6. Гормоны, алкоголь, профессиональный канцерогены.*
- 7. Загрязнение воздуха, УФ-излучение, ионизирующая радиация.*
- 8. Инфекции, наследственность.*

ЛЕКЦИЯ 2

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

- 1. Регуляция клеточного цикла*
- 2. Повреждение ДНК*
- 3. Дополнительная регуляция клеточного цикла белком p53*

В нормально функционирующих клетках прохождение клеточного цикла **жестко регулируется** и находится под **генетическим контролем**.

Основными регуляторами клеточного цикла являются белки циклины и ферменты циклин-зависимые киназы (Cyclin dependent kinases – CDK). Прохождение клеточного цикла достигается путем **последовательной активации и дезактивации** разных комплексов циклин-CDK.

Огромную роль в изучении механизмов регуляции клеточного цикла сыграл британский ученый Пол Нерс (**Paul Nurse**). Он вместе с Леландом Хартвеллом (**Leland Hartwell**) и Тимоти Хантом (**Timothy Hunt**) в 2001 г. получили **Нобелевскую премию в области физиологии и медицины за открытие механизмов регуляции клеточного цикла циклинами и циклин-зависимыми киназами**.

1. Регуляция клеточного цикла.

Модель клеточного цикла предложили **Говард** и **Пелк** в 1953 г. Согласно их модели в клеточном цикле выделяют две фазы: интерфаза, включающая пресинтетический (G1), синтетический (S) и постсинтетический (G2) периоды, и митоз (M) – собственно деление клетки.

Закономерная последовательность смены периодов клеточного цикла осуществляется при взаимодействии ферментов **циклин-зависимых киназ** и белков **циклинов**.

Точность прохождения каждого периода клеточного цикла определяется в так называемых **контрольных точках**. Если клетка проходит контрольную точку, то она продолжает свое развитие. Если же какие-либо обстоятельства, например повреждение ДНК, мешают клетке пройти через контрольную точку, то развитие клетки останавливается и следующего периода клеточного цикла не наступает, пока не будут устранены дефекты, не позволявшие клетке пройти через контрольную точку. Если преодолеть негативное воздействие не удастся – запускается процесс апоптоза.

Существует как минимум четыре контрольных точки клеточного цикла (**рисунок 4**)

- 1) контрольная точка в G1 периоде, где проверяется целостность ДНК, перед вхождением в S-фазу;
- 2) контрольная точка в S периоде, в которой проверяется правильность репликации ДНК;
- 3) контрольная точка в G2 периоде, в которой проверяются повреждения, пропущенные при прохождении предыдущих точек, либо полученные на последующих стадиях клеточного цикла;
- 4) контрольная точка начальной M фазы, в которой проверяется готовность структур клетки к делению и целостность веретена деления.

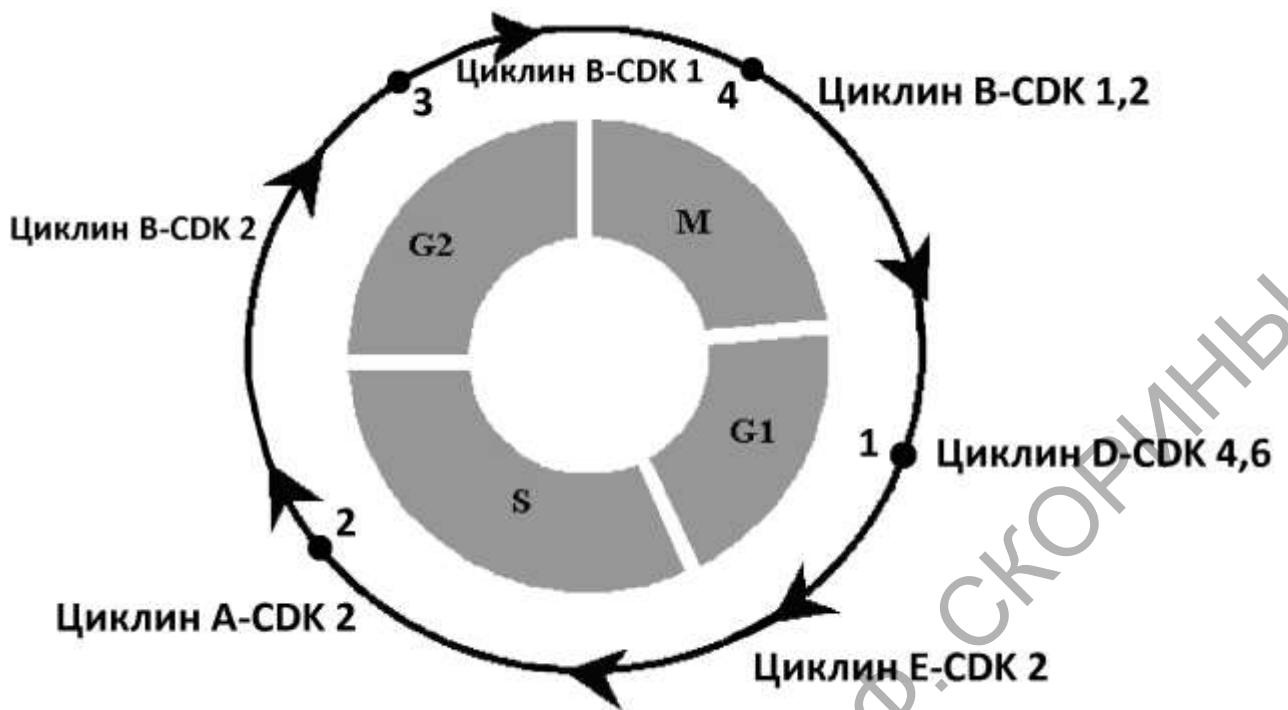


Рисунок 4 – Смена периодов клеточного цикла под воздействием различных комплексов белков циклинов и ферментов циклин-зависимых киназ.

Активация пролиферации

В G1 периоде, в так называемой **R-точке** (**точка рестрикции**, первая «**контрольная точка**»), определяется, будет ли в дальнейшем клетка делиться или нет. Точка рестрикции делит G1 период на два функционально различных этапа: **G1_{pm}** (постмитотический этап) и **G1_{ps}** (пресинтетический этап). В течение G1_{pm} клетка оценивает присутствующие в ее окружении **ростовые факторы**. Если необходимые ростовые факторы присутствуют в **достаточном количестве**, то клетка **переходит в G1_{ps}**. Клетки, перешедшие в G1_{ps} этап, продолжают нормальное прохождение всего клеточного цикла даже при отсутствии ростовых факторов. Если **отсутствуют** необходимые ростовые факторы в G1_{pm} периоде, то клетка переходит в состояние **пролиферативного покоя (G0 периода)**.

Активация перехода клетки к G1_{ps} представляет собой **сложный каскадный процесс** (**рисунок 5**), который активируется внеклеточными сигналами – **ростовыми факторами** (гормоны, факторы роста, интерлейкины, нейромедиаторы и т.д.), распознаваемые соответствующими **рецепторами**. На том конце рецептного белка, который обращен в цитоплазму клетки собирается **сигнальный комплекс**. Данный комплекс активирует **Ras-белки**, которые в свою очередь активируют **Raf-белки**. Активированные **Raf-белки**, индуцируют транскрипцию ранних генов (в том числе и ответственных за синтез белков циклинов и ферментов CDK) и обеспечивают пролиферацию клетки.

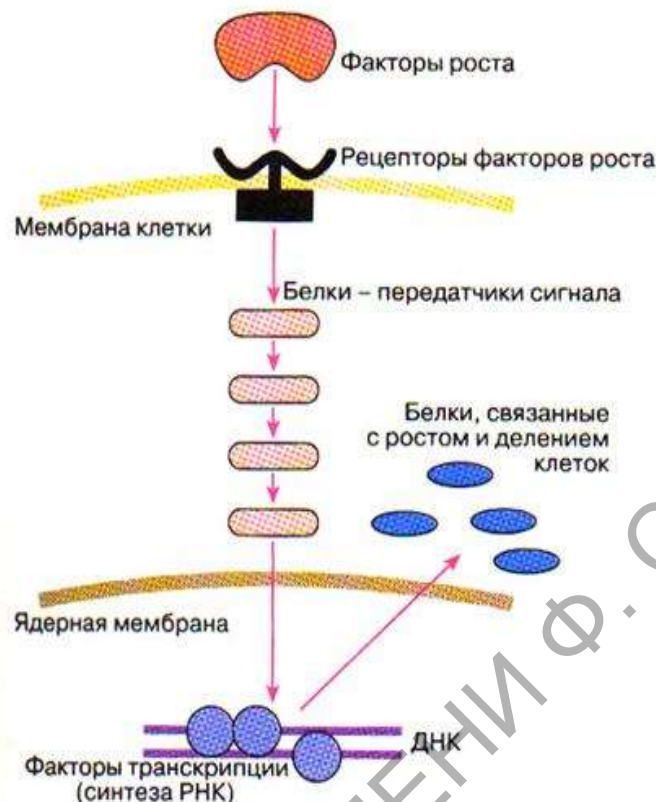


Рисунок 5 – Каскадный процесс активации пролиферации клетки

Регуляция G1 периода

Основным результатом каскада сигнальных событий, происходящих вследствие связывания ростового фактора с рецептором на поверхности клетки, является **активация комплекса циклин D-CDK4,6**. Активность этого комплекса существенно возрастает уже в раннем G1 периоде. Этот комплекс **фосфорилирует мишени**, необходимые для прохождения в S период. **Основным субстратом** комплекса циклин D-CDK4,6 является продукт гена **ретинобластомы (белок Rb)**. Нефосфорилированный белок Rb связывается и, тем самым, инактивирует транскрипционные факторы **группы E2F**. Фосфорилирование белка Rb комплексами циклин D-CDK4,6 приводит к **высвобождению фактора E2F**, который инициирует **транскрипцию генов белков**, необходимых для **репликации ДНК**, а также **генов циклина E и циклина A**. В конце G1 периода происходит кратковременное увеличение количества **циклин E-CDK2**, которое обуславливает накопление **циклин A-CDK2** и переход в S период.

Остановку клеточного цикла в G1 периоде могут вызвать следующие факторы: повышение уровня ингибиторов CDK, отсутствие ростовых факторов, повреждения ДНК, внешние негативное воздействия.

Регуляция S периода

S период – это этап клеточного цикла, когда происходит **репликация ДНК**. Каждая из двух дочерних клеток, которые образуются в конце

клеточного цикла, должна получить **точную копию ДНК** материнской клетки. Именно поэтому синтез ДНК регулируется **крайне жестко**.

Репликация ДНК начинается в **точке ori**, где **ORC (Origin of replicating complex)** связывается с ДНК. Для инициации репликации комплекс **циклин А-CDK2** соединяется с **протеинкиназой**, которая фосфорилирует ORC и **инициирует репликацию**. При этом **белок Cdc6** отсоединяется от ORC после начала репликации и деградирует. Также происходит фосфорилирование некоторых белков ORC, прежде всего **белков Mcm**. Эти **изменения в ORC**, вызванные циклин А-CDK2 (**вторая «контрольная точка»**), **препятствуют** повторному запуску репликации и **активируют восстановление ошибок ДНК** с участием ряда специфических ферментов, которые входят в ORC.

Регуляция G2 периода

G2 период – это этап клеточного цикла, который начинается после завершения репликации ДНК и вплоть до начала деления. Основным регулятором прохождения G2 периода служит комплекс **циклин В-CDK2**, который активируется после завершения репликации. Остановка клеточного цикла в G2 периоде обусловлена **сигнальными ATM и NBS1 белками**, которые связываются с молекулой ДНК в местах ее повреждения и активируются, запуская каскадный процесс, в результате которого происходит **инактивация комплекса циклин В-CDK2**, пока повреждения не будут устранены (**третья «контрольная точка»**).

Регулятором перехода от G2 к М фазе является комплекс **циклин В-CDK1**, который ингибирован белком Wee1. На протяжении G2 периода концентрации **циклин В-CDK1** постепенно нарастает. После прохождения третьей контрольной точки **циклин В-CDK1** активирует белок Cdc25, который дефосфорилирует **циклин В-CDK1**, что вызывает ингибирование и отсоединение белка Wee1 и переход в М фазу. Способность циклин В-CDK1 активировать свой собственный активатор (Cdc25) и ингибировать свой собственный ингибитор (Wee1) предполагает, что активация циклин В-CDK1 в митозе резко усиливается при наличии такой позитивной обратной связи.

Регуляция митоза

Комплекс **циклин В-CDK2**, который был активирован в G2, продолжает поддерживать процесс деления клетки, однако основным регуляторным комплексом митоза является **циклин В-CDK1**. Активность комплекса циклин В-CDK1 приводит к деградации ядерной оболочки, конденсации хроматина и формированию метафазной пластинки. **Активированный комплекс циклин В-CDK1** гарантирует, что **переход из интерфазы в митоз необратим** за счет его обратного фосфорилирования членами семейства фосфатаз **Cdc25** (**четвертая «контрольная точка»**). Перед тем как клетка переходит из метафазы в анафазу, происходит **дегра-**

дация циклина В. Утрата активности комплекса циклин В-CDK1 индуцирует миграцию хромосом к полюсам и деление клетки надвое.

Таким образом, на разных стадиях клеточного цикла синтезируются разные циклины и в особых случаях супрессорные белки, а также клетка проходит ряд контрольных точек, чем в совокупности и обуславливается регуляция клеточного цикла.

2. Повреждение ДНК.

Для того чтобы сохранить и защитить генетическую информацию, клетки развили сложные процессы, отвечающие за восстановление и контроль повреждений ДНК. Повреждения ДНК могут быть индуцированы многими агентами, включая ионизирующее излучение, свободные радикалы, токсичные вещества и т.д. **Двухцепочечные разрывы ДНК (Double break standed – DBS)** – наиболее часто встречающиеся повреждения ДНК. Подобные повреждения могут также образовываться и при репликации ДНК, а неправильная репарация разрывов может приводить к клеточной гибели, соматическим мутациям и формированию опухолей.

Существует два пути восстановления двухцепочечных разрывов: **гомологичная рекомбинация (Homologous recombination – HR)** и **негомологичное концевое сращивание (Non-homologous end joining – NHEJ)**. В случае репарации путем HR используются гомологичные последовательности ДНК в качестве шаблона для репаративного синтеза, тогда как в случае NHEJ часто происходит простое склеивание концов в местах разрывов.

Репарация разрывов ДНК через NHEJ происходит на протяжении всего клеточного цикла. Хотя NHEJ эффективно сращивает концы в области разрывов, этот путь может приводить к потере генетической информации. В отличие от NHEJ, HR репарация происходит, главным образом, в **позднем S периоде и G2 периоде**, поскольку зависит от присутствия сестринских хроматид, обеспечивающих **шаблон** для репарации. Поскольку восстановление путем HR достигается за счет нового синтеза с использованием в качестве шаблона полноценной гомологичной ДНК, это позволяет клетке восстанавливать ДНК с **высокой точностью**.

На **всех этапах клеточного цикла** устранения повреждений ДНК **строго регулируется** рядом специфических контрольных механизмов и ферментов, ведущее место среди которых занимает **белок p53**.

3. Дополнительная регуляция клеточного цикла белком p53.

Белок p53 («Хранитель генома», «Охранник клеточного цикла») – наиболее мощный и универсальный транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл.

Ген человека, кодирующий белок p53, называется **TP53** и расположен в **хромосоме 17 (17p13.1)**. Белок p53 состоит из **393** аминокислотных остатков и имеет **5 доменов**:

При отсутствии повреждений генетического материала белок p53 находится в неактивном состоянии, а при появлении повреждений ДНК активируется. Результатом активации p53 является остановка клеточного цикла и репликации ДНК; при сильном стрессовом сигнале – запуск апоптоза.

При нормальных условиях в клетке экспрессируются белки **p53** и **Mdm2**. N-концевой домен белка Mdm2 связывается с N-концевым трансактивирующим доменом белка p53. Таким образом, белок Mdm2 **препятствует активизирующему действию** белка p53. В нормальных условиях постоянно образуется **комплекс Mdm2-p53** и осуществляется **протеолиз p53**. Этим объясняется низкая концентрация p53 в клетке в отсутствие стресса.

При повреждении ДНК происходит связывание **белка АТМ** с двуцепочечным разрывом ДНК, что приводит к **активации киназной активности** этого белка. **Киназа АТМ фосфорилирует** белок p53 по остатку **Ser15** (серин). После этого **протеинкиназа** также **фосфорилирует** белок p53 по остаткам **Ser15** и **Ser37**. Данные остатки серина, а также предполагаемые **сайты фосфорилирования Thr18** (треонин) и **Ser20** располагаются в той части белка p53, которая взаимодействует с белком Mdm2. Предполагается, что в **фосфорилированной форме белок p53 не взаимодействует с белком Mdm2**, что **увеличивает период полураспада белка p53** и приводит к его активации. Активированный белок p53 является **специфическим транскрипционным фактором**. Гены, транскрипцию которых стимулирует белок p53, кодируют белки-компоненты **апоптотической программы** и белки, которые **регулируют клеточный цикл**. Среди прочего активированный белок p53 формирует комплексы с неспецифическими транскрипционными факторами: **белком ТВР** (англ. TATA-box binding protein), **белком СВФ** (англ. ССААТ binding factor) и **белком SP-1**, что вызывает репрессию транскрипции. Также белок p53 индуцирует синтез продуктов **генов p21, p15 и p16**, которые **блокируют ферменты CDK**, обеспечивающие смену периодов клеточного цикла.

Таким образом, **переход белка p53 в активное состояние приводит к остановке клеточного цикла** для репарации ДНК. При **тяжелых повреждениях**, не устранимых путем репарации ДНК, p53 запускает программу **апоптоза**.

Апоптоз

С увеличением количества дефектов ДНК и невозможностью их устранения нарастает концентрация активированного белка p53, что ини-

цирует процесс апоптоза. Апоптотическая программа реализуется белком p53 через несколько одновременно идущих процессов:

1) Непосредственная **активация генов каспаз** – специализированных ферментов осуществляющих апоптоз;

2) Взаимодействие белка p53 с **инициатором апоптоза – белком Вах**;

3) **Активация p53-зависимого модулятора апоптоза PUMA (p53 upregulated modulator of apoptosis)**, который блокирует действие ингибитора апоптоза **белка Bcl-2**.

Как правило, апоптоз реализуется по **митохондриальному пути** в результате выхода **набора апоптогенных белков** из межмембранного пространства митохондрий в цитоплазму клетки. Белки-инициаторы апоптоза, прежде всего белок Вах активированный белком p53, **встраиваются в наружную мембрану митохондрий и полимеризуются**. Это вызывает **повышение проницаемости наружной мембраны митохондрий (MOMP от Mitochondrial Outer Membrane Permeabilization)**. При повышении MOMP из межмембранного пространства митохондрий в цитозоль высвобождаются белки, участвующие в апоптозе: **цитохром С; прокаспазы-2, -3 и -9**; «фактор индуцирующий апоптоз» **белок АИФ (Apoptosis Inducing Factor)**. Цитохром С взаимодействует с «активирующим фактором апоптотической протеазы-1» **белком АРАФ-1 (Apoptosis Protease Activating Factor-1)**. Цитохром С и АРАФ-1 в комплексе участвуют в формировании **апоптосомы**. Апоптосома активирует **прокаспазу-9**. **Каспаза-9** связывает и активирует **прокаспазу-3** с образованием **эффektorной каспазы-3**. В результате запускается каспазный каскад, приводящий к деградации ключевых физиологических процессов и структур клетки.

Под действием каспаз гидролизу подвергаются белки ядерной оболочки, разрушается цитоскелет, расщепляются белки, регулирующие клеточную адгезию. В результате действия каспаз происходит распад регуляторных и эфektorных доменов ферментов, участвующих в **репарации ДНК, мРНК-сплайсинга и ДНК-репликации**. Каспазы вызывают **инактивацию белков, блокирующих апоптоз**, в частности **расщепляется «фактор фрагментации ДНК» ингибитор DFF (DNA fragmentation factor)**, что приводит к **активации апоптотической ДНКазы CAD (caspase-activated DNase)** и расщеплению ДНК клетки.

Итогом программируемой клеточной гибели путем апоптоза является **деградация клетки с фрагментацией на отдельные апоптотические тельца**, ограниченные плазматической мембраной. **Фрагменты погибшей клетки** обычно очень быстро, в среднем за 90 минут, **фагоцитируются** макрофагами либо соседними клетками, **минуя развитие воспалительной реакции**.

Оба вида реакций (остановка клеточного цикла для репарации ДНК или апоптоз) защищают организм от репликации и передачи дочерним клеткам генетически поврежденного материала. Наряду с геном p53 выделяют и другие гены, контролирующие клеточный цикл: **Rb (ген ретинобластомы), DCC, APC, WT1, NF1** и др.

Инактивация функции антионкогенов и развитие опухолей

Потеря функции гена p53 (в результате мутации или делеции) приводит к утрате контроля над клеточным циклом: клетки-мутанты продолжают активно пролиферировать, несмотря на повреждения ДНК. Выявлена четкая связь между утратой функции гена p53 и развитием более 50 видов злокачественных опухолей у человека. Так, изменения гена p53 обнаружены в 55-70% случаев рака легкого, в 25-30% – рака молочной железы. Опухоли с потерей функции гена p53 характеризуются наиболее злокачественным течением. В некоторых видах опухолей (в 60% меланом и лейкозов, в 80% глиом) обнаруживаются изменения гена p16; описаны опухоли, связанные с дефектами гена p15. Клетки рака шейки матки часто содержат инактивированные гены Rb и p53. Мутация гена Rb обнаруживается при ретинобластоме, опухолях костей, мочевого пузыря, легкого и молочной железы. Делеция гена DCC характерна для опухолей толстой и прямой кишки. Делеция гена APC – для аденоматозного полипоза толстой кишки.

Вопросы для самоконтроля:

1. Какие белки обеспечивают регуляцию клеточного цикла?
2. Какие фазы выделяют в клеточном цикле?
3. Что такое контрольная точка клеточного цикла? Какие контрольные точки проходит клетка в клеточном цикле?
4. Что такое активация пролиферации?
5. Как происходит регуляция G1 периода?
6. Как происходит регуляция G2 периода?
7. Расскажите особенности регуляции?
8. Что такое двуцепочечные разрывы?
9. Какое значение в клеточном цикле имеет белок p53?
10. Какую функцию имеют каспазы?
11. Что происходит при инактивации антионкогенов?

ЛЕКЦИЯ 3

ИНИЦИАЛИЗАЦИЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК И БАЗОВЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИХ ВОЗНИКНОВЕНИЯ

- 1. Характерные признаки опухолевой клетки*
- 2. Механизмы возникновения характерных свойств неопластических клеток*

1. Характерные признаки опухолевой клетки

Злокачественные новообразования возникают в результате **неограниченной пролиферации клеточного клона**, выходящего за пределы собственной ткани и способного к росту на территориях других тканей. При этом в силу высокой генетической изменчивости и селекции, происходящей под давлением со стороны организма, в популяции клеток такого клона постоянно возникают и отбираются все более и более **автономные и агрессивные субклоны**, что обозначается термином «**опухолевая прогрессия**». В результате довольно длительной эволюции неопластического клона формируется опухоль, способная убить организм. Глубокие исследования позволили выделить **ряд важнейших свойств, приобретение которых предопределяет способность клетки образовывать злокачественную опухоль (рисунок 6)**.

1) Пониженная потребность во внешних сигналах для инициации и поддержания клеточной пролиферации – самодостаточность в пролиферативных сигналах. При культивировании *in vitro* большинство типов нормальных клеток размножается лишь при условии, если питательная среда содержит 10-20 % сыворотки, т.е. при довольно значительном содержании в ней различных ростовых факторов.

Оказалось, что многие типы опухолевых клеток способны размножаться в среде с 1 % и даже 0,1 % сыворотки, т.е. **при содержании ростовых факторов в десятки и сотни раз меньше**, чем необходимо для стимуляции размножения нормальных клеток. Такая пониженная потребность в растворимых ростовых факторах достигается изменениями в системах внутриклеточной сигнализации, которые либо вызывают секрецию необходимых факторов роста самими трансформированными клетками, либо резко увеличивают количество рецепторов для необходимых факторов роста, либо сами запускают реакции, инициация которых связана с наличием ростового фактора.

Другим примером пониженной потребности неопластических клеток во внешних пролиферативных сигналах является их так называемая **независимость от субстрата**. Большинство типов нормальных клеток способны размножаться лишь при условии их прикрепления к определенному внеклеточному матриксу. Например, фибробласты начинают делиться при взаимодействии с фибронектином. В ином случае пролиферативный стимул, исходящий от растворимых ростовых факторов, не вызывает размножение клеток.

Многие типы опухолевых клеток **способны пролиферировать, не прикрепляясь к субстрату**, например, в полужидкой среде.



Рисунок 6 – Важнейшие свойства неопластической клетки

2) *Пониженная чувствительность к ростингибирующим сигналам.* В организме существует множество антипролиферативных сигналов, поддерживающих определенное число клеток в каждой из тканей. Такие сигналы генерируются как секретируемыми растворимыми факторами (цитокинами), так и взаимодействиями клеток с внеклеточным матриксом и друг с другом.

Нормальные клетки размножаются до тех пор, пока **не возникнет плотный монослой и не установятся межклеточные контакты**. В отличие от этого трансформированные клетки при возникновении межклеточных контактов не останавливают свою пролиферацию, а продолжают делиться, **наползая друг на друга и образовывая очаги многослойного роста**.

Наряду с этим опухолевые клетки, как правило, **значительно менее чувствительны** к действию ростингибирующих цитокинов, факторов специфического и неспецифического противоопухолевого иммунитета, а кроме того, не останавливают свою пролиферацию при ДНК-повреждающих воздействиях или неблагоприятных условиях.

3) *Отсутствие репликативного старения – «приобретение бессмертия (иммортализация)».* Существует механизм, ограничивающий число делений большинства типов зрелых клеток человека. Так, в культурах человеческих фибробластов *in vitro* примерно после 50-60 делений (число Хейфлика) наблюдается **необратимая остановка размножения клеток и их постепенная гибель.**

Между тем, чтобы образовать из одной клетки-родоначальницы сначала опухоль, а затем и метастазы, в условиях жесткого давления со стороны организма, когда многие опухолевые клетки погибают, может потребоваться большее число делений. В опухолевых клетках наблюдается **нарушение работы такого «счетно-ограничительного» механизма контроля репликации.**

4) *Ослабление индукции апоптоза в неопластических клетках.* Апоптоз – активный механизм клеточного самоубийства, поддерживающий в организме **определенное число клеток и защищающий от накопления аномальных клеточных вариантов.** Апоптоз вызывается как физиологическими сигналами (связыванием специфических киллерных цитокинов со своими рецепторами), так и различными внутриклеточными повреждениями или неблагоприятными условиями, в частности нарушениями структуры ДНК, нехваткой ростовых факторов, гипоксией.

Уход от апоптоза резко **повышает жизнеспособность** неопластической клетки, делает ее **менее чувствительной** к факторам противоопухолевого иммунитета и терапевтическим воздействиям.

5) *Способность опухолевых клеток стимулировать неоангиогенез* – формирование новых кровеносных и лимфатических сосудов из эндотелиальных клеток предсуществующих окружающих мелких сосудов. Это необходимое условие для дальнейшего роста опухолевого узелка, **достигшего в диаметре 2-4 мм.** В ином случае клетки в центре опухоли, не получая кислорода и питательных веществ, будут погибать.

6) *Изменения морфологии и движения опухолевых клеток.* В основе морфологических нарушений лежат взаимосвязанные между собой изменения цитоскелета, адгезионных взаимодействий клеток друг с другом и с внеклеточным матриксом. Они выражаются в нарушении формирования фокальных контактов и ухудшении прикрепления клеток к внеклеточному матриксу, дезорганизации системы актиновых микрофиламентов, что приводит к **изменениям активности псевдоподий и подвижности клеток.** Необходимо подчеркнуть, что именно эти нарушения вместе с некоторыми другими свойствами, определяют приобретение неопластическими клетками двух свойств, лежащих в основе злокачественного роста: **способность к инвазии**, т.е. проникновению в окружа-

ющие здоровые ткани, и сопряженную с ней **способность к метастазированию** – образованию вторичных очагов опухолевого роста.

7) **Метастазирование** – наиболее опасное проявление опухолевой прогрессии, являющееся основной причиной смерти онкологических больных. Чтобы дать метастаз, клетка должна приобрести ряд свойств: способность проникать в глубину окружающих нормальных тканей, в том числе в кровеносные или лимфатические сосуды, выживать после попадания в сосуды, а затем выходить из них и размножаться в несвойственном для данного типа клеток микроокружении, давая новый очаг опухолевого роста. Таким образом, способность к метастазированию складывается из **комплекса более простых признаков**.

8) **Нарушения клеточной дифференцировки**. Особенно ярко это проявляется в гемобластозах, новообразованиях из кроветворных тканей, при которых их клетки оказываются как бы **замороженными на той или иной стадии созревания**. Следует заметить, что это свойство не является универсальным: во многих типах опухолей наблюдается **сохранение способности к дифференцировке**, причем в отличие от лейкозов созревание клеток не препятствует приобретению злокачественного фенотипа. Примерами этого могут служить плоскоклеточный ороговевающий рак кожи и высокодифференцированные аденокарциномы толстой кишки, происходящие из незрелых клеток, которые сначала несколько раз делятся, а затем дифференцируются. Происхождение из незрелых клеток не противоречит представлению о том, что опухолевые клетки в ходе прогрессии могут претерпевать определенную дедифференцировку, утрачивая в первую очередь те дифференцировочные белки, **отсутствие которых дает клеткам селективные преимущества**.

9) **Генетическая нестабильность неопластических клеток**. Канцерогенез – многоступенчатый процесс накопления мутаций и других генетических изменений, приводящих к нарушениям регуляции размножения и миграции клеток, понижению их чувствительности к **различным ростсупрессирующим сигналам, ослаблению в них индукции апоптоза, блокированию дифференцировки и т.д.** Вероятность возникновения в одной клетке нескольких генетических изменений, создающих совокупность вышеуказанных свойств, резко повышается при нарушениях работы систем, поддерживающих целостность генома. Вследствие этого мутации, ведущие к генетической нестабильности, также являются неотъемлемым этапом опухолевой прогрессии. Генетическая нестабильность неопластических клеток базируется на **уменьшении точности воспроизведения генетического аппарата, нарушениях механизмов репарации ДНК и изменениях регуляции клеточного цикла в по-**

врежденных клетках. Это вместе с уходом от апоптоза, позволяющим генетически измененным клеткам выживать, делает популяции опухолевых клеток изменчивыми, создает основу для постоянного возникновения и отбора все более и более злокачественных вариантов. Таким образом, генетическая нестабильность является двигателем неуклонной опухолевой прогрессии.

2. Механизмы возникновения характерных свойств неопластических клеток

1) Нарушения регуляции клеточного цикла

Нарушения регуляции клеточного цикла лежат в основе таких важнейших свойств неопластической клетки, как **самодостаточность в пролиферативных сигналах** (пониженная потребность во внешних сигналах для инициации и поддержания пролиферации) и **нечувствительность к ростсупрессирующим сигналам**. Кроме того, они в значительной степени определяют **генетическую нестабильность и нарушения дифференцировки** клетки.

«Мотором» клеточного цикла является активация последовательно сменяющих друг друга **циклинзависимых киназ**. Также движение по клеточному циклу инициируется различными внешними стимулами, в первую очередь различными секретлируемыми **цитокинами**, принадлежащими к группе **факторов роста**. Кроме этого, для деления большинства типов нормальных клеток необходимо взаимодействие специфических рецепторов клетки – **интегринов**, с определенными белками внеклеточного матрикса (лекция 2).

Действие большинства ростингибирующих факторов основано на активации **ингибиторов циклинзависимых киназ (СКИ)** семейств Ink4 и Cip/Kip, что приводит к остановке клеточного цикла в контрольных точках. При этом задержка до и во время G2 связана как с активацией **СКИ семейства Cip/Kip**, так и с повышением активности **комплексов циклин В/Cdc2**, а остановка в митозе – с изменениями активности молекул, контролирующих **конденсацию хромосом и разделение сестринских хроматид** (рисунок 7).

Для опухолевых клеток характерны генетические изменения, вызывающие, с одной стороны, перманентную стимуляцию сигнальных путей, **активирующих циклинзависимые киназы cdk4(6) и cdk2**. С другой – **нарушения в путях передачи сигналов, опосредующих активацию остановок в контрольных точках в ответ на ростингибирующие сигналы.**

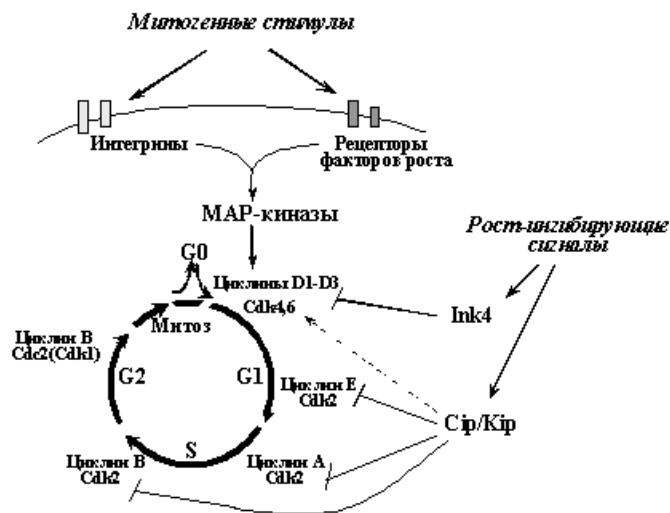


Рисунок 7 – Общая схема регуляции клеточного цикла

Первый тип изменений возникает в основном в результате активирующих мутаций так называемых **протоонкогенов** и приводит к самодостаточности в пролиферативных сигналах, т.е. способности неопластической клетки постоянно генерировать внутри себя сигналы к размножению, в норме исходящие от внешних стимулов.

Инактивация контрольных точек, обеспечивающая нечувствительность к ростингибирующим сигналам и генетическую нестабильность, чаще всего обусловлена дисфункцией **опухолевых супрессоров**, к которым относятся и некоторые из СК1.

С изменениями регуляции клеточного цикла связаны и нарушения дифференцировки неопластических клеток. Реализация большинства дифференцировочных программ требует выхода клетки из митотического цикла в стадию покоя (G0). Перманентная стимуляция размножения клеток и нечувствительность к действию ростингибирующих цитокинов, являющихся одновременно **индукторами дифференцировки**, которые приводят к блокированию или извращению процессов дифференцировки.

2) Изменения морфологии и движения клеток

Сигнальные пути, активируемые связыванием рецепторов ростовых факторов и интегринов со своими лигандами, ответственны за стимуляцию не только размножения, но и **движения клеток**. Поэтому многие из цитокинов являются одновременно и митогенами, и мотогенами (например, EGF, HGF/SF, PDGF). Активация **G-белков семейства Ras и фосфатидилинозит-3-киназы (PI3K)**, находящихся на пересечении сигнальных путей от многих рецепторов, ведет к повышению активности как **МАР-киназ – ключевых регуляторов клеточного цикла**, так и малых **ГТФ-аз семейства Rho (Rho, Rac, cdc42)**, играющих центральную роль в реорганизации цитоскелета и регуляции движения клеток.

Для опухолевых клеток характерны генетические изменения – активирующие мутации рецепторных тирозинкиназ, **протоонкогенов семейства RAS** и др., вызывающие **постоянную стимуляцию** такой сигнализации. В результате возникают клетки с **повышенным пролиферативным потенциалом, характерными изменениями морфологии и увеличенной способностью к миграции**, а, следовательно, и к **инвазивному росту и метастазированию** (рисунок 8). Клетка с такими изменениями, возникшими, например, в результате активации **протоонкогенов семейства RAS**, приобретает также и способность самостоятельно продуцировать и секретировать ряд митогенов/мотогенов, включая **VEGF** (Vascular Endotelial Growth Factor), стимулирующий размножение и направленную миграцию окружающих эндотелиоцитов, т.е. **неоангиогенез**.



Рисунок 8 – Постоянная сигнальная стимуляция, вызванная мутацией в семействе Ras белков

3) Отсутствие репликативного старения (иммортализация)

Известно, что при культивировании *in vitro* человеческие фибробласты примерно после 50 делений перестают размножаться и останавливаются, преимущественно в G1 фазе клеточного цикла. Первая временная остановка клеточного цикла получила название «**ранний кризис**», или **стадия M1**, а вторая остановка и гибель клеток стали определяться термином «**кризис**», или **стадия M2**, репликативного старения. Если какие-то клетки избегают кризиса, то они могут размножаться уже **бесконечно долго**. Это определяется термином «**иммортализация**» клеток, т.е. приобретение **бессмертия**.

В основе счетно-ограничительного механизма, детерминирующего репликативное старение клеток, лежит **прогрессивное укорочение теломер** (концевых участков хромосом) по мере деления клеток. ДНК теломер,

представляющая собой более тысячи повторов гексануклеотида TTAGGG. При каждом акте репликации, т.е. после каждого клеточного деления, теломеры укорачиваются. Согласно **теломерной гипотезе**, прогрессивное укорочение теломер приводит к тому, что они достигают какой-то **критической минимальной длины**, когда сенсорные системы начинают распознавать их как **аномальные структуры ДНК** и индуцировать **остановку клеточного цикла** подобно тому, как это происходит при ДНК-повреждающих воздействиях. Именно это вызывает **фазу M1** репликативного старения («ранний кризис»). При нарушениях в сигнальных системах, детерминирующих остановку клеточного цикла, клетки с укороченными теломерами будут продолжать делиться, пока теломеры **практически не исчезнут и перестанут выполнять свои функции**, т.е. предотвращать рекомбинации и слипание хромосом. Тогда хромосомы потеряют свою целостность и наступит так называемая **«генетическая катастрофа»**, или **стадия M2** репликативного старения (**рисунок 9**).



Рисунок 9 – «Репликативное старение», обусловленное укорочением длины теломер

Отсутствие в опухолевых клетках репликативного старения связано с включением специального механизма. В его основе лежит способность специфического фермента теломеразы достраивать недореплицированные теломерные повторы и поддерживать таким образом их постоянную длину.

Теломераза состоит из нескольких субъединиц, включая РНК-матрицу и TERT (Telomerase Reverse Transcriptase), представляющую со-

бой **обратную транскриптазу**, синтезирующую ДНК повторов гексануклеотида **TTAGGG с РНК-матрицы**. **Включение экспрессии TERT** индуцируется изменением экспрессии определенных онкогенов или опухолевых супрессоров. Так, оно может быть вызвано **активацией онкогена Мус** и **инактивацией опухолевого супрессора p53**. Кроме этого, существенный вклад в иммортализацию неопластических клеток вносят **нарушения работы охранных механизмов**, осуществляющих остановку клеточного цикла при нарушении структуры ДНК, в частности при исчезновении теломерных повторов.

4) Изменения регуляции апоптоза

Апоптоз вызывается различными сигналами, как **физиологическими** – экспрессией специальных киллерных цитокинов, изменениями гормонального статуса; так и **нефизиологическими** – внутриклеточными повреждениями или **неблагоприятными условиями**: нехваткой факторов роста, повреждениями ДНК, гипоксией и т.д.

В регуляции апоптоза выделяют два основных этапа: **фазу индукции** («принятия решения») и **фазу экзекуции** («исполнения приговора»). Последняя осуществляется путем активации **каспаз** – семейства цистеиновых протеиназ, расщепляющих свои субстраты по остаткам аспартамовой кислоты. Расщепление **каспазами 3, 6, 7** (так называемые **эффекторные**, или «**казнящие каспазы**») ряда ключевых субстратов, в частности ингибиторов нуклеаз, ламинов – ядерных цитоскелетных белков и т.д., приводит к фрагментации ДНК и деструкции клетки. Каспазы присутствуют в цитоплазме в виде проэнзимов и активируются до полностью функциональных протеаз путем расщепления проэнзима на большую и малую субъединицы и дальнейшего отщепления от них N-концевых доменов. Затем субъединицы собираются в активные олигомеры. Расщепление прокаспаз могут осуществлять различные протеазы, в том числе и другие каспазы.

Существует два принципиально разных сигнальных пути, приводящих к активации эффекторных каспаз 3, 6, 7. Один из них инициируется связыванием специфических **киллерных лигандов** (Fas-лиганд, TNF-а) со своими рецепторами, так называемыми «**рецепторами смерти**». Во втором пути индукции апоптоза ключевую роль играют митохондрии, поэтому его называют **митохондриальным путем**. Он инициируется главным образом различными повреждающими воздействиями, вызывающими увеличение проницаемости митохондриальной мембраны и выход в цитоплазму ряда митохондриальных белков, в частности **цитохрома С**, который связывается с **белком АРАФ-1** и стимулирует образование его олигомеров. Это в свою очередь вызывает рекрутирование на образовавшийся комплекс молекул **прокаспазы 9**, и формирование **активного комплекса каспазы 9**. На следующем этапе происходит рекрутирование на этот ком-

плекс молекул **прокаспазы 3** и их процессирование до **активных форм**, которые расщепляют ключевые мишени и вызывают **апоптоз** (рисунк 10).

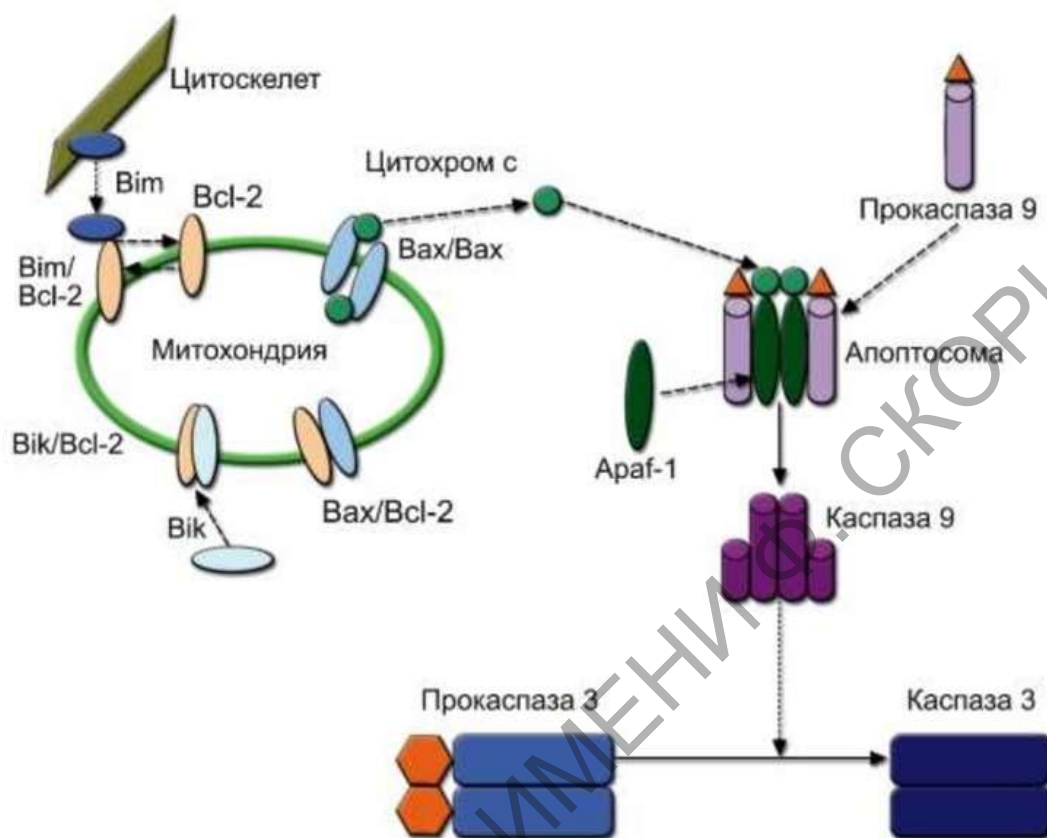


Рисунок 10 – Митохондриальный сигнальный путь апоптоза

Ключевую роль в регуляции проницаемости митохондриальной мембраны для цитохрома С и А1F играют **белки семейства bcl-2**, подразделяющиеся на несколько подсемейств и обладающие либо **проапоптотическими**, либо **антиапоптотическими** активностями. Предполагается, что антиапоптотические белки (**bcl-2, bcl-X**, и др.), локализуясь в мембранах митохондрий, **закрывают каналы**, через которые осуществляется выброс цитохрома С и А1F. Проапоптотические молекулы (**Bax, Bad** и др.) при апоптогенных сигналах перемещаются из цитоплазмы в митохондриальные мембраны, где, взаимодействуя с интегральным белком наружной митохондриальной мембраны VDAC, **стимулируют открытие канала**, через который, в частности, секретруется цитохром С. Кроме того, белки подсемейства Bax образуют гетеромерные комплексы с белками bcl-2, bcl-x, что, возможно, **открывает закрытые до этого каналы**.

Для опухолевых клеток характерны генетические изменения, ведущие к **ослаблению обоих путей индукции апоптоза**. Так, в них закономерно обнаруживаются:

- **потеря экспрессии на поверхности клетки рецептора смерти Fas;**

- **нарушения проведения апоптогенного сигнала к митохондриям** (например, при инактивации опухолевого супрессора p53);
- **ингибирование проницаемости митохондриальной мембраны для цитохрома C и А1F вследствие изменений экспрессии белков семейства bcl-2;**
- **блокирование активации эффекторных каспаз;**
- **резкое уменьшение времени жизни каспаз** ввиду их связывания с белками IAP (Inhibitors of Apoptosis), экспрессия которых повышается в результате активации протоонкогенов RAS, PKB/Akt или инактивации опухолевого супрессора PTEN.

5) Генетическая нестабильность

Генетическая нестабильность — это увеличение вероятности возникновения и закрепления в ряду клеточных поколений разнообразных изменений генома. Значение этого признака для образования злокачественной опухоли связано с тем, что именно генетическая нестабильность вместе с постоянно идущим отбором обеспечивают накопление в одной клетке сразу нескольких мутаций в онкогенах, опухолевых супрессорах и других генах, придающих клетке совокупность **необходимых для образования опухоли свойств**. Генетическая нестабильность популяций опухолевых клеток складывается из **4 основных типов нарушений**:

- **уменьшения точности воспроизведения генетической информации**, а именно – понижения точности репликации ДНК и сегрегации хромосом во время митоза;
- **нарушений в системах репарации повреждений ДНК** или ошибок, возникших при ее репликации;
- **ослабления функции контрольных точек клеточного цикла**, активируемых в ответ на повреждения структуры ДНК или веретена деления в митотической клетке, в результате чего клетка, несмотря на разрывы ДНК или изменения числа хромосом, продолжает делиться и умножать число аномальных потомков;
- **ослабления индукции апоптоза**, вследствие чего делящиеся клетки с генетическими нарушениями не погибают, а выживают.

Понижение точности репликации ДНК в неопластических клетках связано с повышением синтеза и активности в них так называемых низкоточных полимераз, в частности **ДНК-полимеразы-β**, которая в норме используется лишь для быстрой репарации массивных повреждений ДНК (основную роль в воспроизводстве ДНК играет высокоточная ДНК-полимераза-δ). Повышение содержания низкоточных ДНК-полимераз вызвано экспрессией ряда онкогенов, например **BCR/ABL, RAS**.

Нарушения правильной сегрегации хромосом во время митоза могут происходить вследствие **изменения числа и структуры центросом** или центров организации микротрубочек: в опухолевых клетках нередко об-

наруживается больше двух центросом, что ведет к многополярным митозам и возникновению анеуплоидных вариантов с неправильным числом хромосом. К увеличению числа центросом в клетке приводит активация онкогена **RAS** и инактивация опухолевых супрессоров **p53**, **APC** или **BRCA1**.

В целом ключевую роль в возникновении онкогенных свойств, и особенно генетической нестабильности, играют нарушения функции **протоонкогенов и опухолевых супрессоров**. Так, p53, активируясь в ответ на самые разные повреждающие и стрессовые воздействия, взаимодействует с различными мишенями и контролирует апоптоз, продвижение по клеточному циклу, стабильность генома, локомоторные реакции и дифференцировку клеток. Отсюда становится понятной частое фиксирование изменений генов p53 и RAS в самых разных новообразованиях: их мутации позволяют одновременно придать клетке сразу несколько свойств, определяющих опухолевую прогрессию.

Вопросы для самоконтроля:

- 1. Перечислите характерные признаки опухолевой клетки.*
- 2. Расскажите о следующих признаках раковых клеток: самодостаточность, устойчивость к росту и ингибированию.*
- 3. Иммуортализация, ослабление апоптоза, неоангиогенез.*
- 4. Изменение морфологии, движение опухолевых клеток, метастазирование.*
- 5. Нарушение дифференцировки, генетическая нестабильность.*
- 6. Нарушение регуляции клеточного цикла в раковых клетках.*
- 7. Механизм иммуортализации и движения раковых клеток.*
- 8. Механизм нарушения апоптоза.*
- 9. Причины генетической нестабильности раковых клеток.*

1. Онкогены. Идентификация онкогенов
2. Механизмы активации протоонкогенов
3. Онкогены в системе передачи сигналов

В настоящее время доказано, что возникновение, темпы роста опухоли и ее прогрессия **определяются изменениями структурных компонентов генома клетки**. К подобным генетическим структурным компонентам клетки, вовлеченным в канцерогенез (**онкогенным детерминантам**), можно отнести:

а) **протоонкогены** – нормальные клеточные гены, участвующие в ключевых процессах жизнедеятельности клетки: регуляции транскрипции, роста, клеточного цикла, передаче сигнала и т.д. В случае структурных изменений или при повышении уровня экспрессии этих генов нарушается контроль нормального клеточного роста и дифференцировки, что приводит к трансформации клетки. Такие активированные протоонкогены принято называть **онкогенами**;

б) **гены-супрессоры (антионкогены)** – гены, кодирующие ключевые регуляторные белки, потеря которых влечет за собой нарушения контроля пролиферации;

в) **гены-модуляторы** – гены, способствующие распространению опухоли в организме, но не отвечающие за злокачественную трансформацию клетки непосредственно.

1. Онкогены. Идентификация онкогенов

Активный поиск генетических компонентов, ответственных за злокачественную трансформацию клеток, был обоснован рядом основополагающих теоретических положений, сформулированных в 50-60-е годы. К ним относятся **вирусгенетическая теория Зильбера, гипотеза Хюбнера и Тодаро о вирогене и онкогене, провирусная гипотеза Темина, гипотеза о клеточном происхождении вирусных онкогенов** и др.

Онкогены как специфический генетический материал, кодирующие информацию об определенном белковом продукте, впервые были идентифицированы в составе **ретровирусов**.

Геном типичного неонкогенного ретровируса представляет собой молекулу односпиральной РНК, содержащей три гена: ген **gag**, кодирующий структурные белки вирусной частицы; ген **env**, кодирующий белки оболочки вириона, и ген **pol**, несущий информацию о ревертазе. На концах провируса имеются повторяющиеся последовательности – длинный концевой повтор (**LTR**), размер которого варьирует от 300 до 1300 оснований у различных ретровирусов (**рисунок 11 а**). Ряд уникальных свойств ретровирусов (способность существования в форме РНК и ДНК, интегра-

ция в геном клетки, наличие ревертазы, высокая частота рекомбинаций на геномном уровне) сделал их **естественными потенциальными векторами для переноса генетической информации**. Именно такими носителями клеточных генов являются **онкогенные ретровирусы**.

Принципиально возможны два типа включения инородной генетической информации в состав вирусного генома: **присоединение дополнительного участка** к уже имеющимся репликационным вирусным генам (рисунок 11 б, в) и **замещение части вирусного генома фрагментом** (рисунок 11 г) несущим иную функцию. В первом случае ретровирус сохраняет способность самостоятельно реплицироваться, но приобретает новые свойства (**онкогенность**). Во втором случае появление онкогенных свойств у ретровируса сопровождается утратой возможности самостоятельно реплицироваться – **вирус становится дефектным**. Для воспроизведения подобных вирусов необходима параллельная экспрессия вируса-помощника (**дополнительный фактор**), который поставляет продукты трансляции поврежденных генов при сборке вирусных частиц.

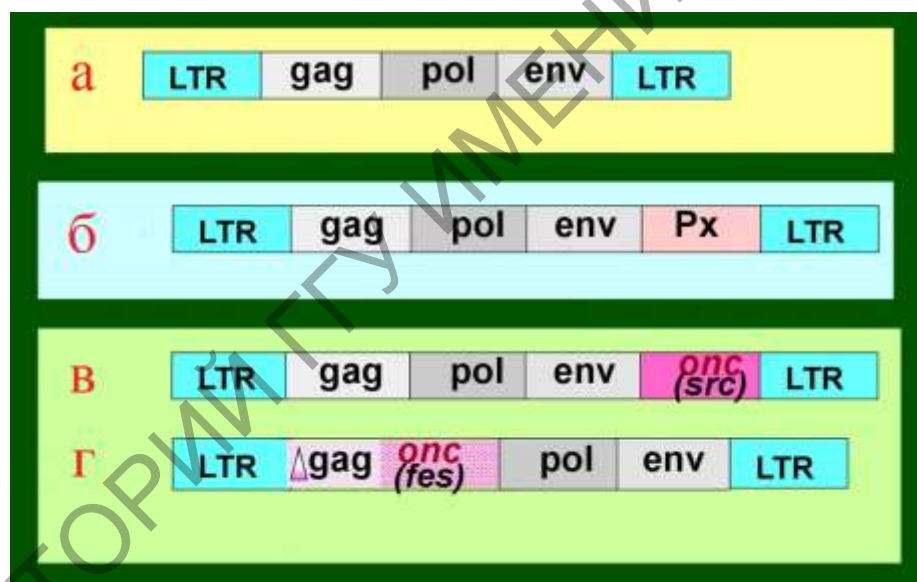


Рисунок 11 – Типы структурной организации генома онкогенных ретровирусов

Опыты по молекулярной гибридизации показали, что все без исключения **вирусные онкогены (v-onc)** имеют свои прототипы: **протоонкогены** (клеточные онкогены – **c-onc**) в геноме различных клеток. Эти данные явились прямым экспериментальным подтверждением ранее высказанной гипотезы о **клеточном происхождении вирусных онкогенов**.

Ассоциация вирусного и клеточного геномов может происходить либо **на уровне ДНК**, т.е. на уровне интеграции, либо **на уровне РНК**, т.е. на посттранскрипционном уровне. В настоящее время механизм включения онкогенов точно не установлен, хотя имеющийся экспериментальный материал позволяет предполагать, что в основном этот процесс реализует-

ся на этапе взаимодействия молекул РНК. Независимо от способа интеграции, результатом является **включение в состав вирусного генома последовательностей клеточных онкогенов без интронов**.

Взаимодействие ретровируса и клеточного протоонкогена не ограничивается только процессом трансдукции последнего. Провирус способен активировать протоонкогены, **не включая клеточный генетический материал в свою структуру**. Факт «внедрения» вирусной ДНК в геном клетки хозяина является **потенциальным мутагенным фактором**. Провирус способен к **прямому повреждению генов**, локализованных в зоне интеграции. Также возможен переход клеточных генов **под контроль** регуляторных элементов интегрированного генома ретровируса – **инсерционный мутагенез**.

Геномы различных ретровирусов могут включаться практически в любую точку ДНК клетки, но для некоторых типов провирусов в структуре клеточного генома обнаружены зоны преимущественной интеграции. В ряде случаев подобные участки **содержат последовательности известных протоонкогенов**.

Основным методическим подходом для идентификации онкогенов, не ассоциированных с геномом ретровирусов, является техника переноса клеточных генов **методом трансфекции** – введение препарата чужеродной ДНК в клетку для изменения ее наследственного потенциала и ее последующего исследования.

В настоящее время известно немногим более **100 различных протоонкогенов**, изменения структуры или гиперэкспрессия которых приводят к продукции онкобелков. Почти все известные онкогены кодируют белки, участвующие в важнейших процессах жизнедеятельности клетки. Считается, что число идентифицированных онкогенов приближается к естественному пределу, определяемому ключевыми точками известных биохимических процессов в клетках.

2. Механизмы активации протоонкогенов

Процесс превращения нормального протоонкогена в онкоген называется **активацией**. Известно 3 основных механизма активации протоонкогенов (**рисунок 12**):

- мутации в первичной структуре протоонкогена;
- амплификация протоонкогена (увеличение числа копий гена в ДНК клетки);
- перестройка генома (хромосом) клетки, которая вызывает усиление экспрессии.

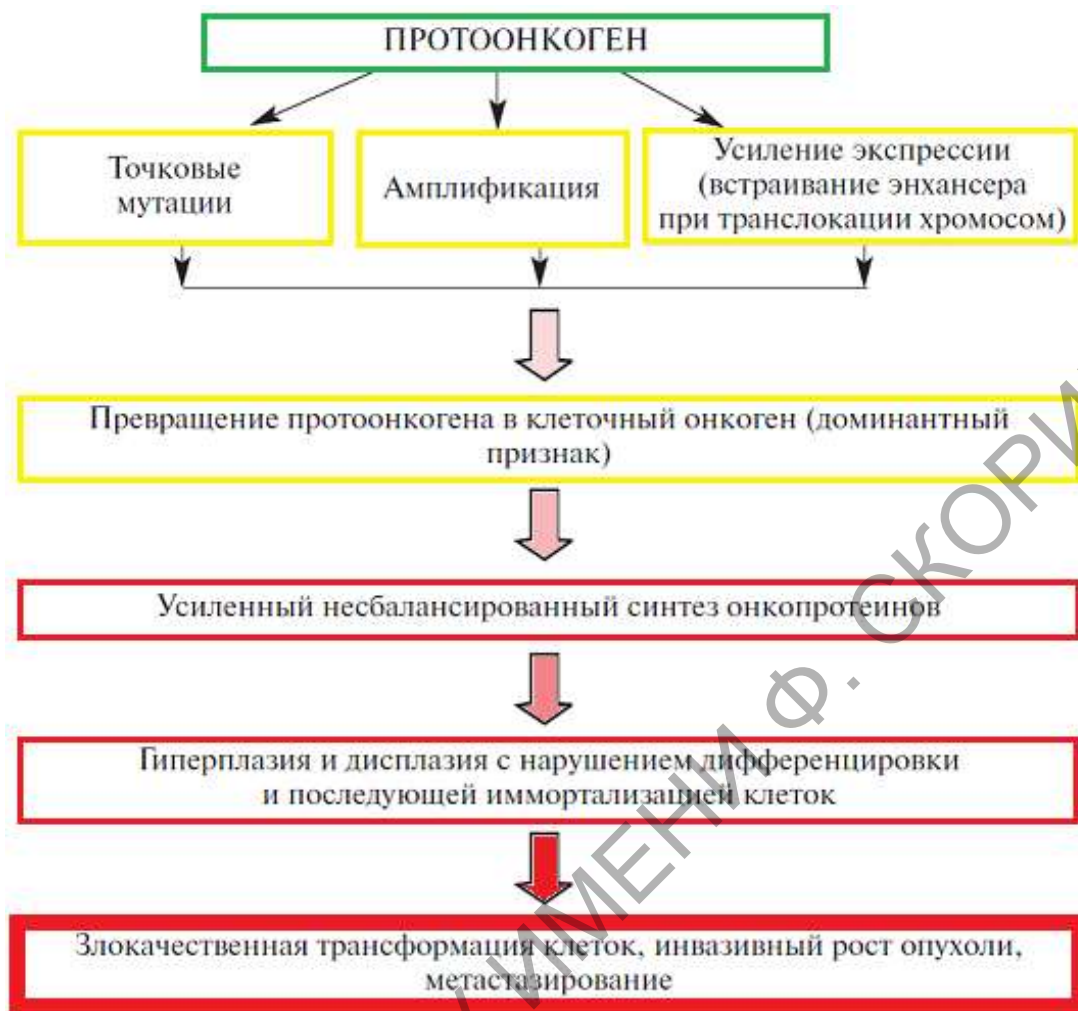


Рисунок 12 – Типы структурной организации генома онкогенных ретровирусов

Мутации. В результате мутаций в структуре гена изменяется **кодируемый белок**, что отражается на его свойствах. Наиболее убедительные данные были получены при сравнительном анализе **генов семейства ras**. У разных представителей этой группы генов мутации затрагивают **12 или 61 кодон**, что выражается в замене в белке ras (p21ras) определенных аминокислот. Подлинный белок p21ras обладает гуанозинтрифосфатазной активностью. Мутации Gly12 или Gln61 приводят к **резкому снижению такой активности**.

Появление в белке p21ras любой аминокислоты (за исключением пролина) вместо глицина в 12-м положении придает ему трансформирующие свойства. В комплексе с ГДФ p21ras является **неактивным**, а при ассоциации с ГТФ онкобелок приобретает **активную** конфигурацию и **стимулирует связывающиеся с ним белки**. В нормальных клетках **баланс** между активной и пассивной формами белка ras строго регулируется. Вследствие онкогенных мутаций белок **остается в комплексе с ГТФ**, сохраняется в **перманентно активной форме**, нарушает нормальное

прохождение сигналов, что в конечном итоге приводит к **трансформации клетки**. Активирующие мутации в протоонкогенах семейства *ras* обнаруживаются в широком спектре опухолей человека.

Амплификация. Основным результатом данного механизма является **аномально высокая продукция кодируемого белка в клетках**. В большинстве случаев в опухолях человека в амплифицированном состоянии встречаются онкогены **семейства MYC**. Максимальное число копий демонстрирует онкоген **NMYC** в случае нейробластом и ретинобластом – **до 200 копий на гаплоидный геном клетки**. В настоящее время нет строгих экспериментальных доказательств того, что именно увеличение числа копий определенных протоонкогенов индуцирует появление опухоли.

Транслокация. Превращение протоонкогена в активированный онкоген может являться следствием различных **структурных перестроек клеточного генома**. Обмен генетического материала осуществляется как между гомологичными, так и между негомологичными хромосомами. Как правило, этот процесс представляет собой **сбалансированный реципрокный механизм** (т.е. взаимный, равноценный обмен фрагментами генома), но возможна и потеря ДНК в одной или обеих точках рекомбинации. В результате подобных событий гены (протоонкогены, в частности) могут претерпевать изменения своей структуры: утрату части генетической информации, образование химерных генов, кодирующих гибридные белки, попадание в зону регуляторных элементов других генов с последующим нарушением нормальной регуляции экспрессии.

Наиболее ярким примером специфической активации онкогенов в результате хромосомной транслокации является образование **филадельфийской хромосомы (Ph1)** при CML-лейкозе. Классическая реципрокная транслокация 9;22 регистрируется в **95 % случаев** данного лейкоза. На молекулярном уровне это выражается в **переносе протоонкогена ABL на хромосому 22 в зону местонахождения гена BCR**. Образуется химерный ген BCR-ABL, который в результате последующей перестройки локализуется в аномальной хромосоме Ph1.

Следует отметить, что перестройки хромосом, вызывающие развитие опухолей, необязательно должны затрагивать лишь протоонкогены. Изменениям могут подвергаться и другие последовательности ДНК, например гены, кодирующие белки-мишени продуктов онкогенов.

3. Онкогены в системе передачи сигналов

В упрощенном виде механизм передачи сигналов в клетке представляет собой **прямое взаимодействие специфических белков в строго**

определенной последовательности (рисунок 13). Ряд ключевых белков может быть задействован в нескольких сигнальных путях. Основными участниками цепей передачи сигналов в клетках являются различные типы киназ, а также адапторные молекулы, которые не обладают ферментативной активностью. Адаптеры активируются специфическими киназами и приобретают способность образовывать комплексы с другими составляющими процесса передачи сигнала. Фактически основными молекулярными принципами, на которых базируется механизм передачи сигналов в клетке, являются специфическая ассоциация белков и их фосфорилирование (или дефосфорилирование). Фосфорилирование белков-мишеней ведет к мгновенному изменению их конфигурации и свойств. Баланс между фосфорилированием и дефосфорилированием определяет передачу внутриклеточных сигналов в норме. Белковые продукты многих протоонкогенов представляют собой важнейшие компоненты проведения и контроля сигналов в клетке.

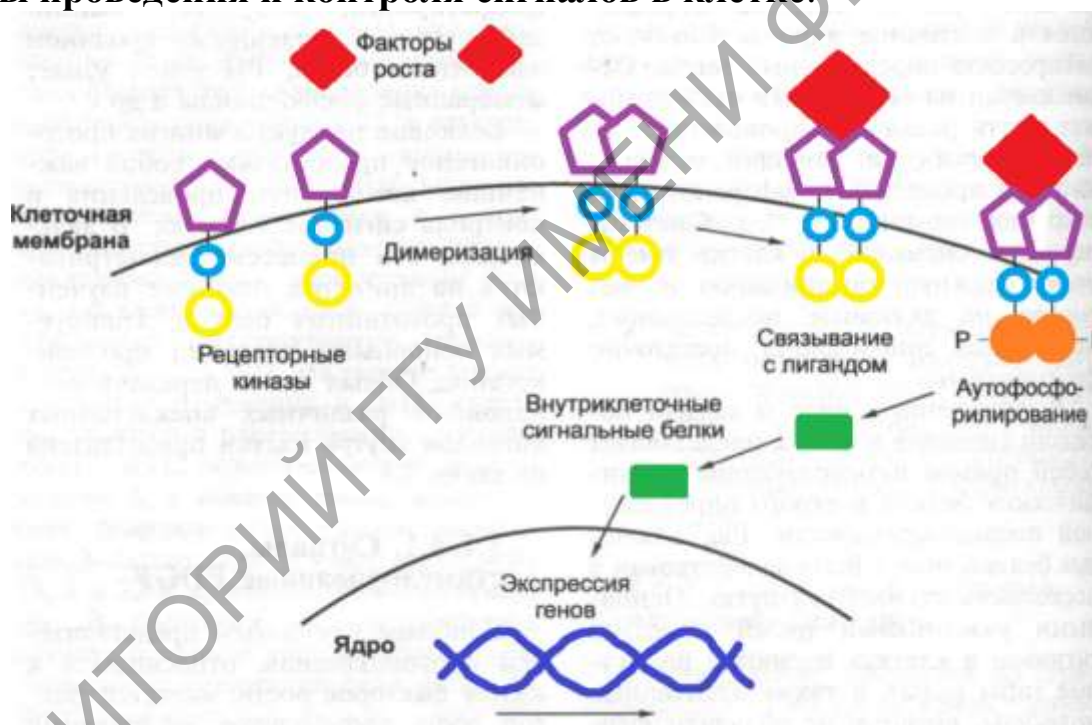


Рисунок 13 – Общая схема передачи сигналов от внеклеточных лигандов внутрь клетки

Сигналы, стимулированные PDGF. Наиболее изученным представителем протоонкогенов, относящихся к классу факторов роста, является фактор роста тромбоцитов – прототип вирусного онкогена *sis* (**PDGF/sis**). Этот фактор стимулирует рост и подвижность клеток соединительной ткани (фибробластов и клеток гладких мышц). PDGF продуцируется главным образом тромбоцитами и является **основным ростовым фактором сыворотки**.

Молекула PDGF представляет собой димерный комплекс ассоциированных дисульфидными связями полипептидных цепей А и В. Как и подавляющее большинство киназных рецепторов, PDGF активируются под действием лигандов **только в виде димерных комплексов**. В составе димерного комплекса происходит взаимное трансфосфорилирование внутриклеточных составляющих молекул рецепторов. Подобное фосфорилирование рецепторов является важным механизмом регуляции киназной активности. Фосфорилированные аминокислоты рецепторов формируют **зоны взаимодействия** с последующими компонентами цепи передачи сигнала.

Выявлено **более 10 различных белков**, способных связываться с фосфорилированными сайтами рецепторов PDGF: фосфоинозитол-3-киназа (PI3K), фосфолипаза C-γ (PLC-γ), киназы семейства src, тирозинные фосфатазы и др. С рецепторами PDGF ассоциируются и определенные адапторные гены: Shc, Nck, Crk и активаторы транскрипции (STAT). Некоторые пути передачи сигнала, индуцированные β-рецептором PDGF и стимулирующие рост клетки и ее миграцию, схематично представлены на **рисунке 14**:

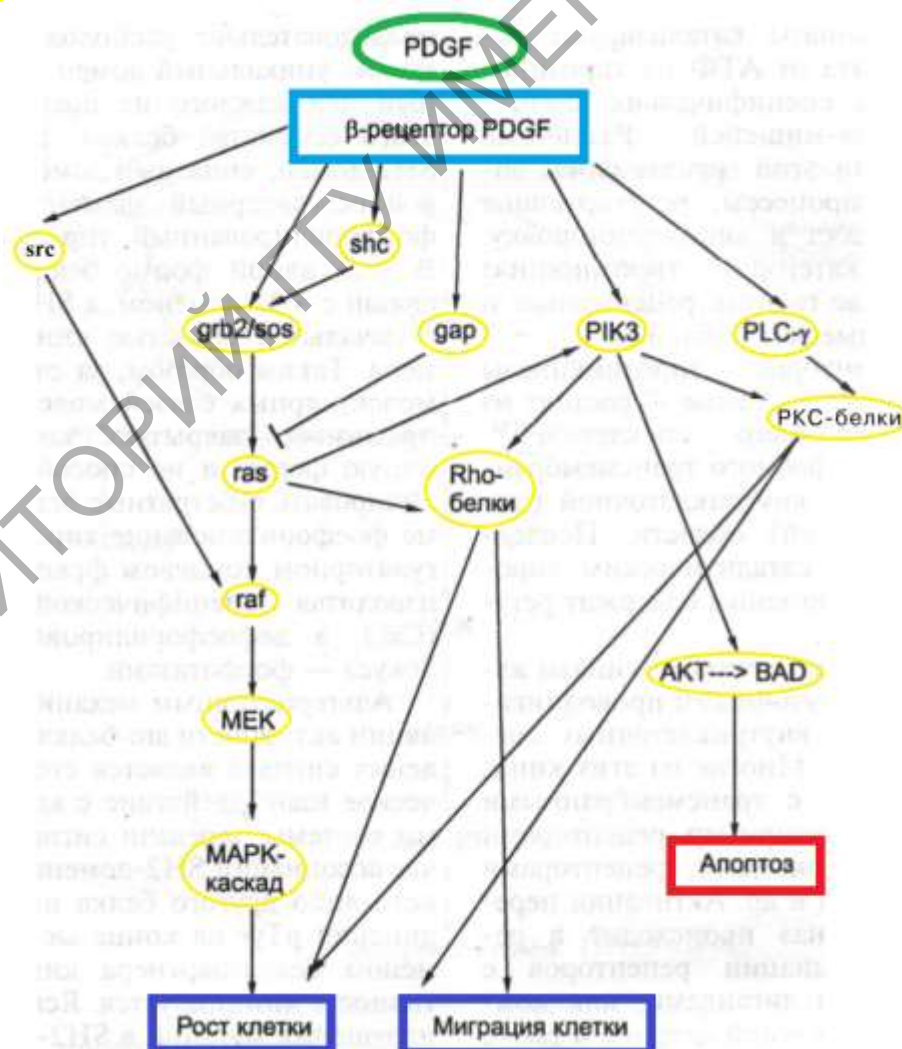


Рисунок 14 – Основные пути передачи сигналов, индуцированных Р-рецептором PDGF

Аномально повышенная активность PDGF или соответствующих рецепторов может приводить к трансформации клетки, что характерно для некоторых типов глиобластом и сарком человека. Злокачественное превращение PDGF и PDGF-рецептора происходит в результате реализации **любого из механизмов активации протоонкогенов**. Имеется информация об активации рецептора PDGF в результате интеграции в зону локализации этого гена провируса HTLV1 при инфекции Т-клеток, т.е. описано уникальное явление **инсерционного мутагенеза** в клетках человека.

Тирозинкиназы в системе передачи сигналов. Тирозинкиназы катализируют **перенос фосфата от АТФ на тирозиновый остаток специфических клеточных белков-мишеней**. Различные представители этой группы киназ вовлечены в процессы, регулирующие клеточный рост и дифференцировку. Активация тирозинкиназ индуцирует каскад различных процессов фосфорилирования. В результате происходит последовательная активизация ряда белков и вторичных проводников сигнала, которые обладают специфическими регуляторными функциями. Эти сигнальные импульсы достигают клеточного ядра и могут индуцировать экспрессию определенных генов.

Как и в случае стимуляции сигнала PDGF, ассоциация лиганда с рецепторными тирозинкиназами индуцирует их **димеризацию либо олигомеризацию**. Эти конформационные изменения ведут к индукции тирозинкиназной активности цитоплазматической области данного белка. Конформационные изменения белка играют решающую роль и в инициации нерецепторных тирозинкиназ.

Молекулярные механизмы регуляции тирозинкиназ можно рассмотреть на примере онкобелка src. Молекула этого белка состоит из последовательно расположенных доменов: **уникальный домен**, специфичный для каждого из представителей этого семейства белков, **SH3-домен**, **SH2-домен**, **киназный домен** и **концевой регуляторный элемент**, несущий фосфорилированный тирозин (**pTyr**). В неактивной форме белка src pTyr связан с SH2-доменом, а SH3-домен – с начальной областью киназного домена. Таким образом, за счет внутримолекулярных связей молекула **белка принимает «закрытую» конформационную форму** и не способна фосфорилировать субстратные белки. В норме фосфорилирование тирозина в регуляторном концевом фрагменте производится специфической киназой (Csk), а дефосфорилирование – фосфатазами. Очевидно, что при мутациях в SH2- и SH3-доменах, а также при утрате концевой Туг активность белка src становится **нерегулируемой**, что может приводить к развитию патологических состояний.

G-белки в передаче внутриклеточных сигналов. Белки этой группы кодируются большим семейством генов и отличаются сходством строения и функций. Внутри семейства G-белков различают **5 крупных подгрупп: Ras, Rho/Rac, Rab, Ran и Rad/Gem.** Все эти группы белков играют ключевую роль в определенных клеточных процессах:

- пролиферация и дифференцировка (Ras, Rho/Rac);
- регуляция структуры цитоскелета (Rho/Rac);
- внутриклеточное движение (Rab);
- транспорт между цитоплазмой и ядром (Ran).

Общим свойством G-белков является их способность **связываться с ГДФ и ГТФ.** В норме эти белки постоянно переходят от неактивной, когда они ассоциируются с ГДФ, к активной форме, когда они вступают в комплекс с ГТФ. Процесс переключения G-белков с ГДФ на ГТФ стимулируется «обменным» фактором – **белок sos.** В этом случае активированный G-белок **способен взаимодействовать со следующими** в определенной цепи передачи сигнала молекулами (эффекторами). Антагонистами «обменного» фактора по своим функциям являются **белки GAP,** которые, катализируя гидролиз ГТФ (превращение в ГДФ) в комплексе с G-белком, переводят его в пассивную форму (рисунок 15). Следует отметить, что активность GAP-белков контролируется фосфорилированием под действием тирозинкиназ различных типов.

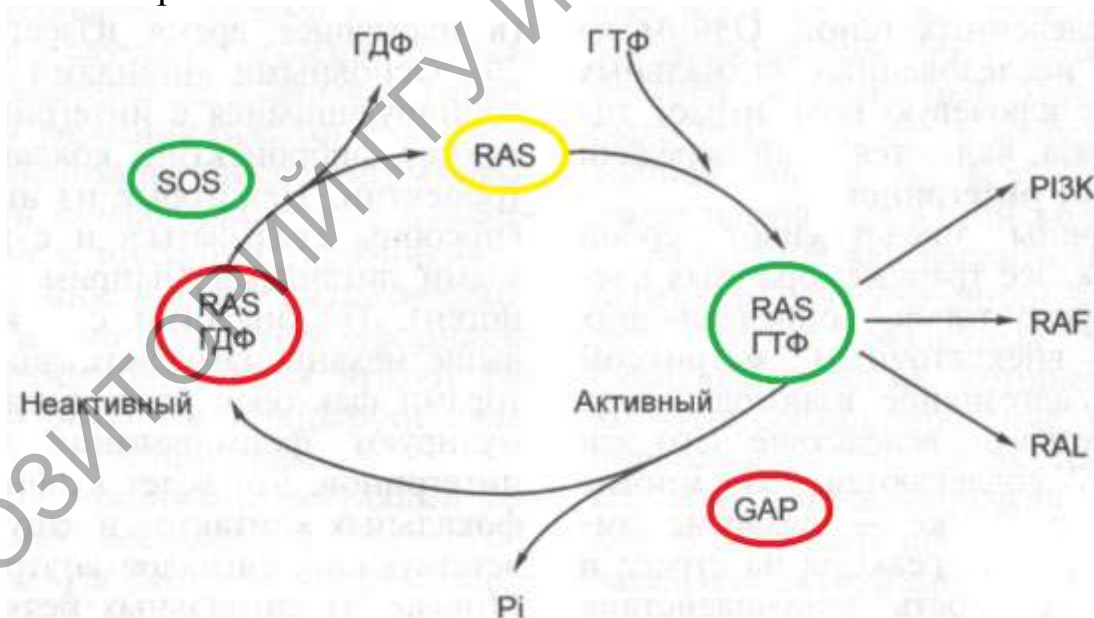


Рисунок 15 – Регуляция активности протоонкогенов семейства Ras

Фактически G-белки, например ras, являются **распределителями различных сигналов в клетке.** Эти белки интегрируют получаемые от «вышестоящих» молекул (компонентов различных сигнальных путей) импульсы и активизируют последующие эффекторные белки, каждый из ко-

торых представляет собой начальное звено следующего этапа определенной цепи передачи сигнала.

Нахождение G-белков на перекрестке различных путей передачи клеточных сигналов определяет их **важную роль** в реализации многих клеточных процессов. Нарушение функций этих белков может привести к **фатальным последствиям** для организма, в частности к **трансформации клетки**. Этим объясняется относительно высокая частота нарушений, например, протоонкогена Ras в различных опухолях. Превращение протоонкогенов *ras* в онкогены происходит в результате действия различных молекулярных механизмов, в первую очередь вследствие мутаций в первичной структуре.

Вопросы для самоконтроля:

- 1. Расскажите об онкогенах и их идентификации.*
- 2. Механизмы активации протоонкогенов: мутация, амплификация, транслокация.*
- 3. Онкогены в системе передачи сигналов. Сигналы, стимулированные PDGF.*
- 4. Тирозинкиназы в системе передачи сигналов.*
- 5. G-белки в передаче внутриклеточных сигналов.*

ЛЕКЦИЯ 5 ОПУХОЛЕВЫЕ СУПРЕССОРЫ pRb p53

1. Опухолевый супрессор pRb
2. p53 – многофункциональный опухолевый супрессор

Ключевую роль в возникновении важнейших свойств неопластической клетки играют нарушения функции опухолевых супрессоров.

Опухолевый супрессор (антионкогены, рецессивные опухолевые гены) – ген, инактивация функции которого ведет к возникновению и/или прогрессии новообразований. Восстановление же экспрессии некоторых из таких генов в опухолевых клетках, наоборот, может **подавить их дальнейшее размножение**. Врожденные мутации даже в одном из аллелей некоторых из опухолевых супрессоров делают вероятным возникновение в молодом возрасте определенных форм новообразований. При мутациях **генов p53** – сарком, лейкозов, опухолей мозга или рака молочной железы. При мутациях **генов BRCA1 и BRCA2** – рака молочной железы и яичников.

1. Опухолевый супрессор pRb

Открытие гена Rb. Идентификация опухолевых супрессоров началась с обнаружения **гена Rb**, врожденные мутации которого вызывают развитие **ретинобластом**. В начале 70-х годов Кнудсон, проводя эпидемиологические исследования, отметил, что около 40 % ретинобластом возникает в младенческом возрасте, причем эти опухоли, как правило, билатеральные (возникают из сетчатки обоих глаз) и часто множественные (в среднем по 3 независимых опухоли на пациента). Если такие пациенты в результате хирургического вмешательства излечивались от ретинобластом, у многих из них в юношеском возрасте развивалась **остеосаркома**, а

в зрелом возрасте – **меланома кожи**. При этом во многих случаях характер заболевания был **наследственным**. Кнудсон сформулировал следующую гипотезу: если дети **наследуют мутантный аллель гена Rb**, то вторая мутация, происходящая уже в ретинобласте, ведет к возникновению опухоли. Дети, у которых ретинобластомы возникают в более позднем возрасте – не наследуют мутантный аллель гена Rb. Вместо этого у них происходят две независимые мутации в одном из ретинобластов, что и приводит к развитию опухоли.

При некоторых наследственных ретинобластомах обнаруживались небольшие делеции участка длинного плеча хромосомы **13 (13q14)**. Было предположено, что ген «предрасположенности к ретинобластоме» (Rb) локализуется именно в этом участке генома. Далее был обнаружен ген, оба аллеля которого инактивированы в клетках как наследственных, так и спорадических ретинобластом. При этом при наследственных формах заболевания все клетки организма имели врожденные мутации этого гена. Таким образом, постулируемые Кнудсоном **две мутации, необходимые для развития ретинобластом, происходят в разных аллелях одного и того же гена Rb**. Инактивация гена Rb была обнаружена не только в ретинобластомах, но и в клетках некоторых других, ненаследственных новообразований: практически во всех случаях мелкоклеточного рака легкого, части случаев (20-40 %) острого лейкоза, остеосаркомы, рака мочевого пузыря, предстательной железы и др. Восстановление экспрессии этого гена в культивируемых *in vitro* клетках ретинобластом и остеосарком приводило к **торможению их роста**. Таким образом, впервые были получены веские доказательства существования генов, **полная инактивация которых приводит к развитию новообразований и продукты которых способны подавить размножение неопластических клеток**.

Функция pRb в клетке и ее нарушения при канцерогенезе. pRb представляет собой фосфобелок, локализующийся в ядре и экспрессирующийся в большинстве типов клеток. Он дефосфорилирован в неделящихся клетках, а также в пролиферирующих клетках, находящихся в начале G1-фазы клеточного цикла. В таком состоянии **pRb образует комплексы с рядом белков, в том числе с белками, вызывающими ремоделирование хроматина (гистоновые деацетилазы HDAC, SWI-SNF), и транскрипционными факторами семейства E2F, регулирующими активность генов, продукты которых необходимы для начала и прохождения S-фазы (циклин E, циклин A дигидрофолатредуктаза ДНК-полимераза и др).** Транскрипция этих генов подавлена, если **E2F связан с комплексами HDAC/pRb/SWI-SNF.**

При митогенных сигналах **pRb в середине G1-фазы фосфорилируется** по определенным аминокислотным остаткам **циклинзависимой киназой циклин D/cdk4(6)**, что вызывает отвязывание от него HDAC. Ком-

плекс pRb/SW I-SN (без HDAC) не блокирует способность E2F активировать ген циклина E, но репрессирует транскрипцию других E2F-реагируемых генов, в частности циклина A. В результате в конце G1-фазы происходит избирательная активация циклинзависимой киназы циклин E/cdk2, которая дополнительно фосфорилирует pRb по другим аминокислотным остаткам. Это вызывает полное высвобождение транскрипционного фактора E2F из комплексов с pRb/SW I-SNF и его активацию, приводящую к повышению экспрессии циклина A и других генов, продукты которых необходимы для синтеза ДНК (рисунок 16).

После завершения S-фазы pRb переходит в дефосфорилированное состояние, в котором он блокирует активность E2F и вход в следующую S-фазу (для ее инициации необходим новый митогенный стимул, активирующий комплексы циклин D/cdk4). Таким образом, модулируя активность E2F и регулируемых им генов, pRb играет ключевую роль в контроле последовательности событий, обеспечивающих переход клетки из G0/G1 в S-фазу и ее успешное завершение.

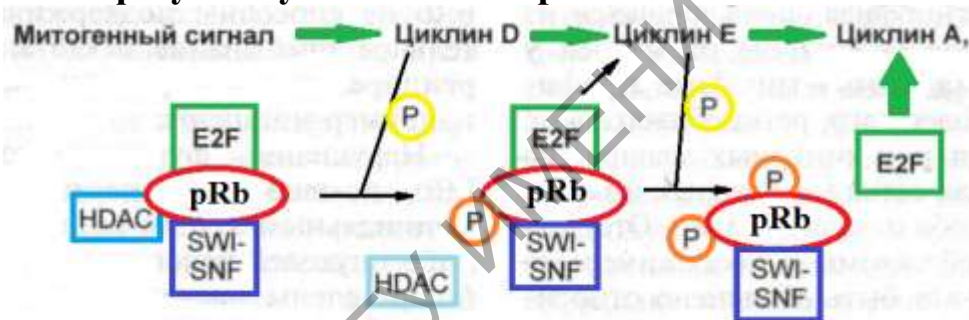


Рисунок 16 – Функционирование pRb нормальной клетке

Значительная часть мутаций гена Rb, обнаруживаемых в различных опухолях, вызывают либо делецию гена, либо сдвиг кодирующей рамки, либо ее преждевременную терминацию, либо нарушения сплайсинга мРНК. Все это приводит или к полной потере экспрессии белкового продукта, или к экспрессии неполноценных и нестабильных белков pRb. При мутациях обоих аллелей гена Rb, транскрипционный фактор E2F находится в перманентно активированном состоянии. Это, во-первых, уменьшает зависимость размножения клеток от ростовых факторов, а во-вторых, отменяет негативную регуляцию клеточной пролиферации при ростиингибирующих сигналах. Все это резко увеличивает вероятность появления постоянно пролиферирующих клонов клеток, в которых будут накапливаться и другие онкогенные мутации, ведущие к злокачественной трансформации.

2. p53 – многофункциональный опухолевый супрессор

Наиболее частым молекулярным изменением в различных новообразованиях человека является инактивация функции белка p53. Более чем в 50 % всех опухолей человека обнаруживаются мутации гена p53. В отличие от других опухолевых супрессоров, для которых характерны мутации, прекращающие синтез белка, подавляющее большинство (более 90 %) мутаций p53 приводят к замене одной из аминокислот в белковой молекуле на другую. Еще одной особенностью мутаций p53 в опухолевых клетках является то, что они в отличие от мутаций других опухолевых супрессоров часто гетерозиготны.

Мутации обнаруживаются в разных участках молекулы p53, но чаще всего в его эволюционно-консервативном ДНК-связывающем домене, причем с наибольшей частотой в кодонах 175, 245, 248, 249, 273 и 282 («горячие точки») (рисунок 17). Терминальные (произошедшие в половой клетке и передающиеся по наследству) мутации в одном из аллелей гена p53 вызывают синдром Ли-Фраумени, заключающийся во врожденном предрасположении к развитию различных новообразований, в первую очередь сарком, рака молочной железы, лимфолейкозов. Нередко синдром Ли-Фраумени характеризуется возникновением первично-множественных опухолей.

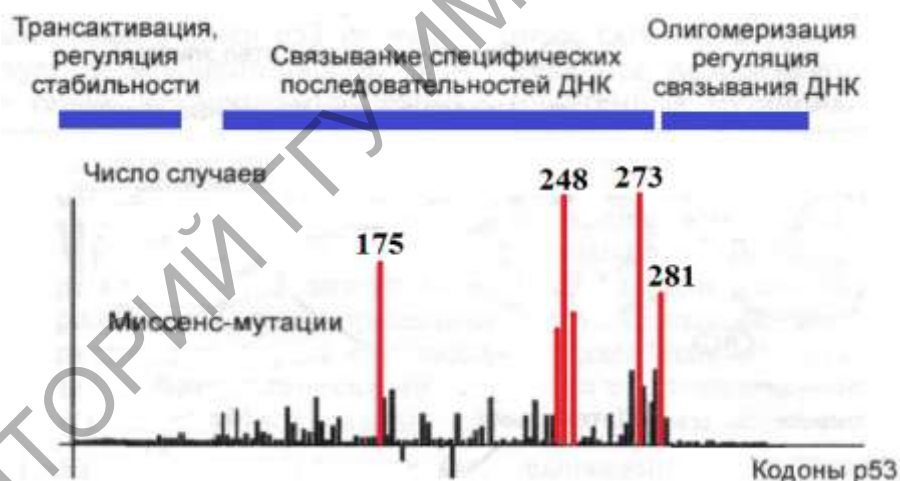


Рисунок 17 – Число случаев с миссенс-мутациями в гене p53 (красным обозначены «горячие точки» с наибольшей вероятностью мутаций)

Структурная организация и биохимические активности белка p53. Продукт гена p53 состоит из 392 аминокислотных остатков. Он образует тетрамерный комплекс, способный регулировать транскрипцию ряда генов, имеющих в своем составе p53-респонсивные элементы. В молекуле p53 картировано несколько функционально-значимых доменов, играющих важную роль в осуществлении или регуляции его активности (рисунок 18).

N-концевой участок (аминокислоты 1-42) представляет собой домен, ответственный за транскрипционную активацию генов-мишеней.

Он обладает способностью связываться с **компонентами базальных факторов транскрипции**. Кроме того, этот домен участвует в **белок-белковых взаимодействиях**, регулирующих **стабильность молекулы p53**. И, наконец, в нем расположено несколько остатков серина и треонина, фосфорилирование которых регулирует **активность p53**.

Центральный домен p53 (аминокислоты 120-290) непосредственно узнает и связывает специфические последовательности ДНК регулируемых генов, так называемые **p53-респонсивные элементы**. Именно в этом ДНК-связывающем домене локализуется большинство точечных мутаций, обнаруживаемых в различных опухолях человека (см. рисунок 17).

Далее идут участки, ответственные за **ядерную локализацию** (аминокислоты 305-323) и **димеризацию / тетрамеризацию** молекул p53 (аминокислоты 323-356). **С-концевой участок p53** (аминокислоты 363-392) представляет собой **ингибиторный домен**. В немодифицированном состоянии он препятствует посадке ДНК-связывающего домена на специфическую последовательность регулируемого гена. Фосфорилирование и ацетилирование его определенных сайтов вызывают изменения конформации белковой молекулы и переход тетрамеров p53 из **неактивного (латентного) состояния в активное**. В результате ДНК-связывающие домены освобождаются от **блокирующего влияния** ингибиторных доменов и приобретают **способность садиться на p53-респонсивные элементы**.

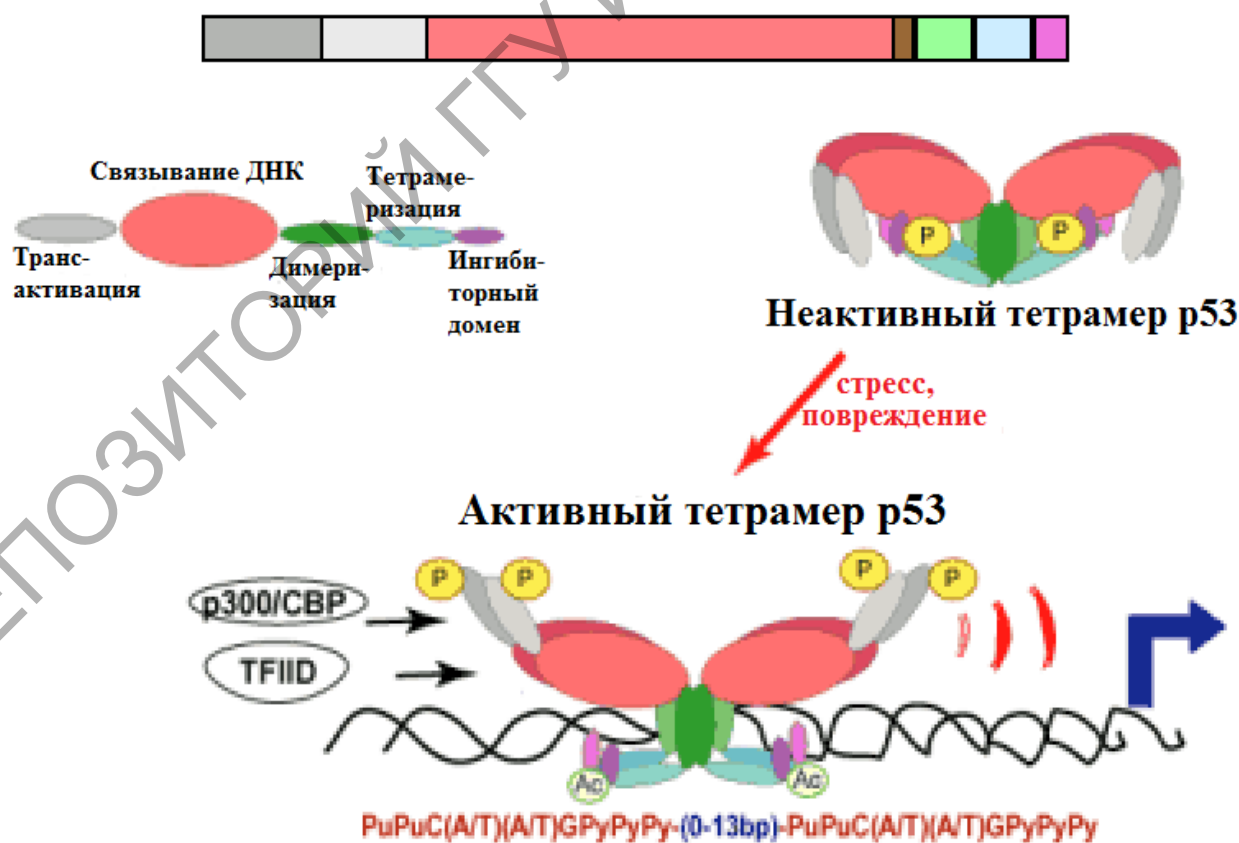


Рисунок 18 – Структурная организация белка p53

Характерные для опухолевых клеток миссенс-мутации приводят к **резкому изменению конформации молекулы белка p53**, что в значительной степени затрагивает все из его функциональных активностей: происходит потеря или ослабление способности связывать и активировать гены с p53-респонсивными элементами, репрессировать другие специфические гены-мишени, ингибировать репликацию ДНК и стимулировать репарацию ДНК.

При этом в связи с тем, что p53 образует тетрамерные комплексы, мутации в одном аллеле гена p53 вызывают **инактивацию и продукта второго, неповрежденного аллеля**. Дело в том, что коэкспрессирующиеся нормальный и мутантный белки p53 образуют **неактивные гетеромерные комплексы**. Таким образом, мутантный белок ингибирует функции нормального белка p53 по **доминантно-негативному механизму**. Именно эта особенность мутантных p53 в значительной мере ответственна за их онкогенный потенциал.

Физиологические функции p53 и их нарушения в неопластических клетках. Молекулы белка p53 могут находиться в различных конформационных состояниях, в которых они обладают разными биохимическими активностями и выполняют разные физиологические функции (**рисунок 19**).



Рисунок 19 – Различные конформационные состояния белка p53

В обычных условиях p53 находится в **латентной форме**, в которой он обладает слабой транскрипционной активностью.

При различных стрессах и внутриклеточных повреждениях происходят **посттрансляционные модификации**, в частности **фосфорилирование и ацетилирование** молекулы p53, определяющие ее переход в **стрессовую конформацию**. Такой p53 значительно более **стабилен и эффек-**

тивно транс-активирует и/или транс-репрессирует специфические гены-мишени, следствием чего является индукция в аномальных клетках либо **остановки клеточного цикла**, либо **апоптоза**. Кроме того, активация p53 ведет к изменению экспрессии генов некоторых секретлируемых факторов, в результате чего могут изменяться **размножение и миграция** не только поврежденной, но и **окружающих клеток**.

Под воздействием мутаций p53 в дополнение к латентной и стрессовой может приобретать и необратимую **мутантную конформацию**.

p53 играет **важную охранную роль**, являясь «стражем генома». Его повседневная функция заключается в **распознавании и исправлении ошибок, возникающих в ходе репликации ДНК**. При массивных повреждениях ДНК, других внутриклеточных нарушениях или угрозе их возникновения происходит переключение функций p53: он вызывает либо **остановку размножения аномальных клеток** (временную, для устранения повреждений, или необратимую), либо **их гибель** (апоптоз). В результате устраняется возможность накопления в организме генетически измененных клеток.

Механизмы активации p53 при стрессах и внутриклеточных повреждениях. Ключевую роль в стабилизации белка p53 и повышении его транскрипционной активности играют изменения взаимодействия p53 с **белком-ингибитором Mdm2**, ген которого является потенциальным онкогеном. Белок Mdm2 связывается с **N-концом молекулы p53** и, обладая активностями E3 убиквитинлигазы, **стимулирует убиквитинизацию** и как результат **протеосомную деградацию белка p53**. Поэтому в норме уровень экспрессии p53 очень невелик, а время его жизни составляет всего около 30 минут.

При внутриклеточных нарушениях, в частности при повреждениях ДНК, происходит **фосфорилирование p53** по сайтам, расположенным в районе связывания с белком Mdm2. Такое фосфорилирование осуществляют специфические **киназы (ATM, ATR и их мишени – чекпойнткиназы CHK1, CHK2)**, которые активируются при прохождении контрольных точек в ответ на разнообразные нарушения структуры ДНК. В результате **блокируется связывание p53 с Mdm2**, что вызывает **стабилизацию молекул p53 и повышение их транскрипционной активности**.

При некоторых других внутриклеточных изменениях, например при экспрессии в клетке активированных **онкогенов RAS**, также наблюдается **снижение взаимодействия p53 и Mdm2**, но происходит оно из-за повышения экспрессии **белка pARF**. Белок pARF обладает способностью **связываться либо с N-концевым участком p53, либо с белком Mdm2**, препятствуя, таким образом, их непосредственному взаимодействию. Интересно, что ген **MDM2** сам является **транскрипционной мишенью активированного p53**. В результате устанавливаются **регуляторная петля**,

стимулирующая деградацию белка p53 после окончания действия факторов, вызывающих активацию p53.

Гены-мишени p53 и их функции. В настоящее время, помимо **Mdm2**, обеспечивающего регуляцию самого p53 по принципу обратной связи, идентифицировано более **100** генов, являющихся мишенями **транскрипционных активностей p53**.

Первую группу составляют гены, продукты которых **регулируют клеточный цикл**. Важнейшим из них является белок **p21Wan/Cip1** – **ингибитор циклинзависимых киназ из семейства Cip/Kip**. Повышение его экспрессии вызывает остановку клеточного цикла в поздней фазе G1, что обуславливается связыванием им комплексов **циклин E/cdk2**, подавлением их способности фосфорилировать **белки семейства pRb** и освобождать **транскрипционные факторы E2F**. Дублирующим механизмом остановки перехода из G1 в S является подавление активированным p53 **транскрипции гена DP1** – транскрипционного фактора, который связывается с **E2F** и образует активный комплекс активирующий синтез продуктов, необходимых для входа в фазу S.

Следующая группа p53-регулируемых генов кодирует белки, **индуцирующие апоптоз**. При этом p53 контролирует синтез компонентов обоих основных путей индукции апоптоза: и **митохондриального**, и стимулируемого «рецепторами смерти». Он регулирует **активность белков семейства Bcl-2**, **репрессировав ген антиапоптотического белка Bcl-2** и **активируя гены проапоптотических белков Bax, Puma и Noxa**. Повышение проницаемости митохондриальной мембраны для цитохрома C и белка AIF достигается и транс-активацией **гена p53A1P1** и **гена PIG3**. Стимуляция апоптоза, запускаемого «рецепторами смерти», достигается транс-активацией генов двух из таких рецепторов – **Fas** и **Killer/DR5**.

Третьей группой генов-мишеней p53 являются гены, продукты которых регулируют **морфологию и/или миграцию клеток**. Так, p53 транс-активирует гены обоих представителей семейства рассеивающих факторов – **HGF / SF** и **HGF1 / MSP**, а также ген одного из членов семейства **эпидермальных факторов роста HB-EGF**. Продукты всех этих генов являются одновременно и митогенами, и мотогенами.

В особую группу генов-мишеней p53 можно выделить гены, **контролирующие ангиогенез**. Ключевую роль в неоангиогенезе играет **VEGF**, экспрессия которого повышается при гипоксии или активации некоторых онкогенов. p53 репрессировав транскрипцию как гена VEGF, так и **гена HIF-1** – транскрипционного фактора, обеспечивающего повышение экспрессии VEGF и его рецепторов в ответ на уменьшение содержания кислорода.

Выявлено еще несколько десятков генов-мишеней p53. Среди них следует отметить **ген каталитической субъединицы теломеразы**

(TERT), который репрессируется p53. По-видимому, p53 принимает участие и в процессах **созревания клеток**, так как некоторые из транс-активируемых им генов кодируют белки той или иной дифференцировки.

Последствия нарушений функции p53. Характерные для опухолевых клеток аномалии p53 **отменяют или ослабляют все важнейшие функции опухолевого супрессора p53.** Делеция обоих аллелей гена p53, т.е. его полная инактивация, вызывает:

- 1) ослабление G1- и G2-чекпойнтов клеточного цикла;
- 2) подавление индукции апоптоза;
- 3) уменьшение эффективности репарации ДНК;
- 4) более эффективную адаптацию к гипоксии и стимуляцию неоангиогенеза;
- 5) ослабление контроля за длиной теломер;
- 6) ингибирование дифференцировки и другие характерные свойства неопластической клетки.

Особо следует отметить возникновение в клетках с инактивированным p53 **сильной генетической нестабильности**, являющейся мотором дальнейшей опухолевой прогрессии. Потеря функциональной активности p53 значительно **увеличивает темп появления размножающихся клеток** с самыми разными генетическими аномалиями – **измененным числом и перестройками хромосом, генными мутациями, амплификацией отдельных участков генома.**

Сходные последствия наблюдаются и при самых частых в новообразованиях человека аномалиях p53 – **миссенс-мутациях**, ведущих к синтезу неактивного белка, обладающего доминантно-негативным эффектом в отношении продукта неповрежденного аллеля.

Приобретая способность **транс-активировать онкоген MYC**, мутантный p53 вызывает **более сильные нарушения** регуляции клеточного цикла, чем те, которые наблюдаются при делениях гена p53. Новые активности мутантных белков p53 ответственны также за дополнительное **ослабление индукции апоптоза и развитие устойчивости к действию химиопрепаратов.** В основе подавления апоптоза лежит несколько механизмов: транс-активация мутантным p53 **гена антиапоптотического белка Bcl1** (член семейства bcl-2), способность мутантных p53 **связывать и инактивировать гомолог p53** и т.д. Возникновение устойчивости к определенным противоопухолевым цитостатикам может быть связано со способностью некоторых мутантных p53 **повышать транскрипцию гена MDR1** и гена **дУТФазы**, продукт которого **блокирует действие 5-фторурацила** и ряда других антиметаболитов.

Все это объясняет такую частую встречаемость мутаций p53 в самых разных новообразованиях – они **позволяют за один шаг преодолеть сразу несколько этапов опухолевой прогрессии.** Причем мутации p53 мо-

гут являться как **инициальным событием** или **детерминировать начальные этапы канцерогенеза**, так и **возникать и отбираться уже в ходе роста опухоли**, обеспечивая приобретение новых агрессивных свойств и устойчивости к терапии.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что такое опухолевые супрессоры? Расскажите об открытии опухолевого супрессора pRb. 2. Расскажите о функциях pRb в клетке и их нарушениях при канцерогенезе. 3. Расскажите о структурной организации и биохимической активности белка p53. 4. Физиологические функции p53 и их нарушения в неопластических клетках. 5. Механизмы активации p53 при стрессах и внутриклеточных повреждениях. 6. Гены-мишени p53 и их функции. 7. Последствия нарушений функции p53.

**ЛЕКЦИЯ 6
МУТАТОРНЫЕ ГЕНЫ**

1. Компоненты систем проведения сигналов от поврежденной ДНК к различным эффекторам

2. *BRCA1 и BRCA2*
3. *Компоненты систем репарации неспаренных оснований ДНК*
4. *Компоненты системы эксцизионной репарации ДНК и пигментная ксеродерма*

Нарушения функций опухолевых супрессоров, контролирующих апоптоз и/или клеточный цикл (**p53, pRb** и др.), отменяют запрет на пролиферацию клеток с различными аномалиями, что **увеличивает вероятность появления онкогенных клеточных клонов**. Эту группу принято называть «**стражи**». Наряду с этим идентифицирован ряд компонентов специализированных систем распознавания и репарации повреждений ДНК, дисфункция которых также вызывает **генетическую нестабильность, предопределяющую развитие новообразований**. Они получили название «**смотрители**».

В целом мутаторными называют гены, нарушение функции которых тем или иным способом **увеличивает темп возникновения мутаций и/или других генетических изменений**. Инактивация таких генов столь сильно увеличивает вероятность появления различных онкогенных мутаций, что **образование опухоли становится лишь делом времени**.

1. Компоненты систем проведения сигналов от поврежденной ДНК к различным эффекторам (ATM, ATR, NBS1, CHK1, CHK2)

Ключевую роль в интеграции сигналов от поврежденной ДНК и их дальнейшей передаче к разнообразным эффекторам играют специфические **протеинкиназы ATM** (Ataxia-Telangiectasia Mutated), **ATR** (ATM Related), **NBS1, CHK1 и CHK2** (чекпойнткиназы 1, 2) (**рисунок 20**).

Белок ATM, имеющий структурное сходство с фосфатидилинозит-3-киназой (PI3K), накапливается в местах повреждений и приобретает киназную активность, **связывая фосфорилированные белки хроматина** (H2AX и др.) и **белки-сенсоры нарушений структуры ДНК**. При этом ATM активируется в ответ на возникновение **двунитевых разрывов ДНК**, тогда как другие **нарушения структуры ДНК** (например, **сшивки оснований или повреждения алкилирующими соединениями**) не активируют ATM. В этих случаях наблюдается функциональная активация гомолога ATM, белка **ATR**. Активированные формы ATM и ATR **фосфорилируют ряд своих мишеней**, в частности **p53, Mre11, NBS1, CHK1, CHK2 и BRCA1**.

Для **фосфорилирования CHK2** необходимо предварительное фосфорилирование белков **комплекса Mre11/NBS1/Rad50**, который, локализуясь в местах повреждений, рекрутирует к ним различные молекулы, в том числе **CHK2, BRCA1, E2F и PCNA**. **Привлечение PCNA** вызывает переключение с репликативного синтеза ДНК на репарационный и **оста-**

новку клеточного цикла в S-фазе. К блокированию входа и продвижения по S-фазе ведет и подавление функции E2F. Фосфорилированные чекпойнткиназы CHK1/2 в свою очередь фосфорилируют и инактивируют белки семейства Cdc25, что вызывает подавление активности регулируемых ими циклинзависимых киназ и быструю остановку клеточного цикла в G1 (если Cdc25A не активирует cdk2) или в G2 (когда Cdc25C не активирует Cdc2). Кроме того, CHK1 и CHK2 амплифицируют сигналы к p53 и BRCA1, что способствует длительной задержке в G1 или G2, и активизирует системы репарации ДНК (см. рисунок 20).

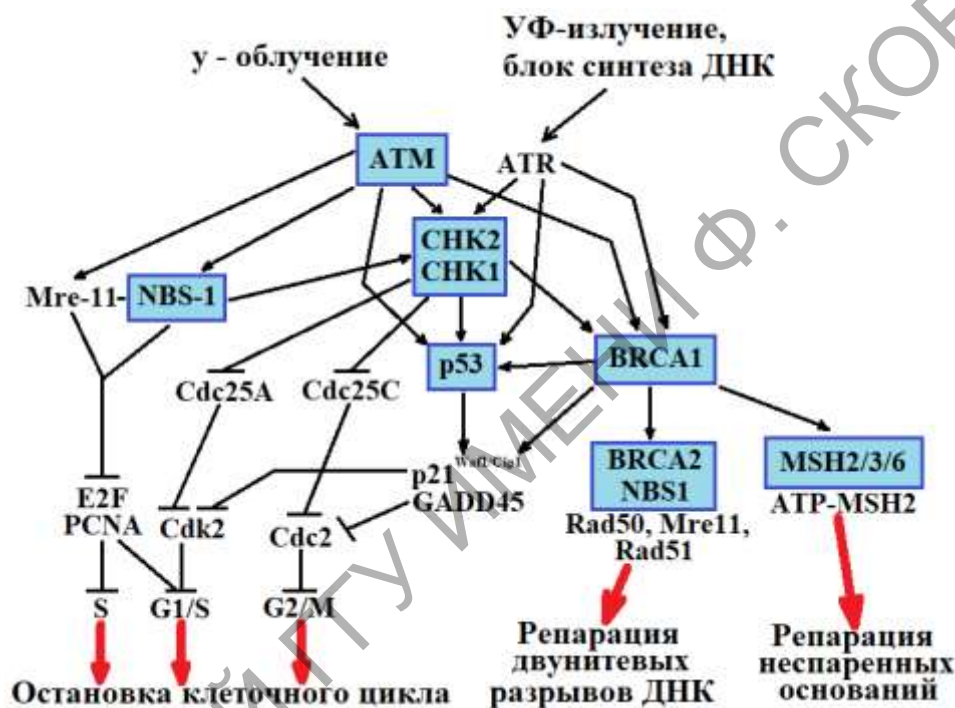


Рисунок 20 – Сигнальные пути, регулирующие реакции клетки на повреждение ДНК

Терминальные инактивирующие мутации обоих аллелей гена АТМ вызывают нейродегенерацию, иммунодефицит и **повышенный риск возникновения новообразований**. В молодом возрасте возможно развитие **лимфоидных опухолей из Т- или В-клеток** (лимфосаркомы, лимфогранулематоз, различные формы лейкозов), а также **рак молочной железы**. Соматические гомозиготные мутации гена АТМ характерны и для некоторых форм **ненаследственных лимфолейкозов** (Т-клеточного пролимфоцитарного лейкоза, В-клеточного хронического лимфолейкоза и др.).

Сходные последствия наблюдаются и при инаktivации одной из важнейших мишеней АТМ – белка NBS1. Терминальные гомозиготные мутации гена NBS1 вызывают ниймегенский синдром, характеризующийся иммунодефицитом, генетической нестабильностью и **повышенной предрасположенностью к развитию лимфоидных новообразований**.

Соматические мутации гена NBS1 выявляются в 10-20 % случаев наследственных форм острого лимфобластного лейкоза.

Соматические мутации гена ATR нередко обнаруживают в клетках некоторых опухолей, в частности **рака желудка**.

Увеличение риска развития новообразований наблюдается и при врожденных мутациях **чекпойнткиназы CHK2**. У части пациентов с клиническими проявлениями синдрома Ли-Фраумени, но не имеющих мутаций p53, выявляют **терминальные гетерозиготные мутации гена CHK2**. Этот факт свидетельствует о **ключевой роли нарушений сигнального пути CHK2-p53**, контролирующего реакции клетки на повреждения ДНК, в возникновении сильной предрасположенности к развитию самых разных новообразований. Соматические инактивирующие мутации **чекпойнткиназ CHK2 и CHK1** обнаруживаются в части случаев наиболее распространенных опухолей: **рака легкого, толстой кишки, молочной железы, матки** и др.

2. BRCA1 и BRCA2

BRCA – группа **генов-супрессоров** опухоли человека, которые отвечают за **восстановление ДНК** и определяют **восприимчивость к раку молочной железы**. Ген **BRCA1** данного семейства располагается на длинном плече 17-й хромосомы в локусе 17q21 и включает 24 экзона, 22 из них кодируют соответствующий белок **BRCA1** из 1863 аминокислот. Ген **BRCA2** базируется на длинном плече 13-й хромосомы в позиции 13q12.3, включает 26 экзонов и кодирует белок из 2329 аминокислот. Значительную часть структурных нарушений **BRCA** относят к **точечным, небольшим делециям/инсерциям** (выпадение/вставка одного или нескольких нуклеотидов). Большинство вариантов приводит к **сдвигу рамки считывания матричной РНК** и синтезу **укороченного нефункционального белка**. Частые мутационные перестройки объединяют термином **hotspot**. Наиболее распространенным вариантом мутаций гена **BRCA1** является **5382insC** — добавление (инсерция) одного нуклеотида — цитозина — в позиции 5382 в 20 экзоне. Образуется «преждевременный» **стоп-кодон в позиции 1829**. В итоге синтезируется **укороченный белок BRCA1** с нарушенной функцией. Данная перестройка является причиной значительного (от 68 до 90 %) числа случаев семейного **РМЖ и РЯ**. Также у пациентов с РМЖ и РЯ отмечены частая встречаемость аллелей **BRCA1 4154delA** и **BRCA1 185delAG**. Это делеции (утрата) нуклеотидов: 4154delA — аденина; 185delAG — аденина и гуанина. У носителей врожденных мутаций гена **BRCA1** также выше вероятность развития опухолей **толстой кишки и предстательной железы**. При терминальных мутациях гена **BRCA2** **риск развития опухолей молочной железы несколько ниже**, чем при мутациях **BRCA1**. Отличительными чер-

тами мутаций **BRCA2** являются более частое возникновение рака молочной железы у мужчин и меньший риск развития опухолей яичника у женщин. Для **BRCA2** также характерны варианты, приводящие к сдвигу рамки считывания: **6174delT** — делеция тимина; **886delGT** — делеция двух нуклеотидов (гуанина и тимина).

Гены **BRCA1** и **BRCA2** ведут себя как классические опухолевые супрессоры: для инициации опухолевого роста, помимо врожденной мутации в одном из аллелей, необходима и инактивация второго аллеля, которая происходит уже в соматической клетке. Как правило, мутации в генах **BRCA1** и **BRCA2** ведут к прекращению синтеза полноразмерного белка. Особенностью мутаций генов **BRCA1** и **BRCA2** является то, что они характерны для наследственных форм новообразований и значительно реже обнаруживаются в ненаследственных опухолях той же локализации.

Гены **BRCA1** и **BRCA2** кодируют ядерные фосфобелки, которые за счет разнообразных белок-белковых взаимодействий участвуют в регуляции репарации ДНК и размножения клеток.

Так, белок **BRCA1** (рисунок 21) связывает белки, ответственные за гомологичную рекомбинацию и репарацию двунитевых разрывов ДНК (**Rad50**, **Rad51**, **BRCA2**), компоненты систем репарации неспаренных оснований ДНК (**MSH2**, **MSH6**, **MLH1**, **ATP-MSH2** и др.), транскрипционные факторы (базальные – **HDAC**, **p300/CBP**, **SWI/SNF** и сиквенспецифические – **p53**, **MYC**, **E2F**, **ZBRK1**, **ATF**, рецептор эстрогенов, рецептор андрогенов), а также ряд других белков – **pRb**, **BARD1**, **BAF1**, **Nm23** и т.д. Транскрипционная функция **BRCA1** заключается в его способности репрессировать одни сиквенспецифические факторы транскрипции (**MYC**, **E2F**, рецептор эстрогенов и др.) и активировать другие (**p53** и др.), модулируя активность генов, регулируемых этими факторами.

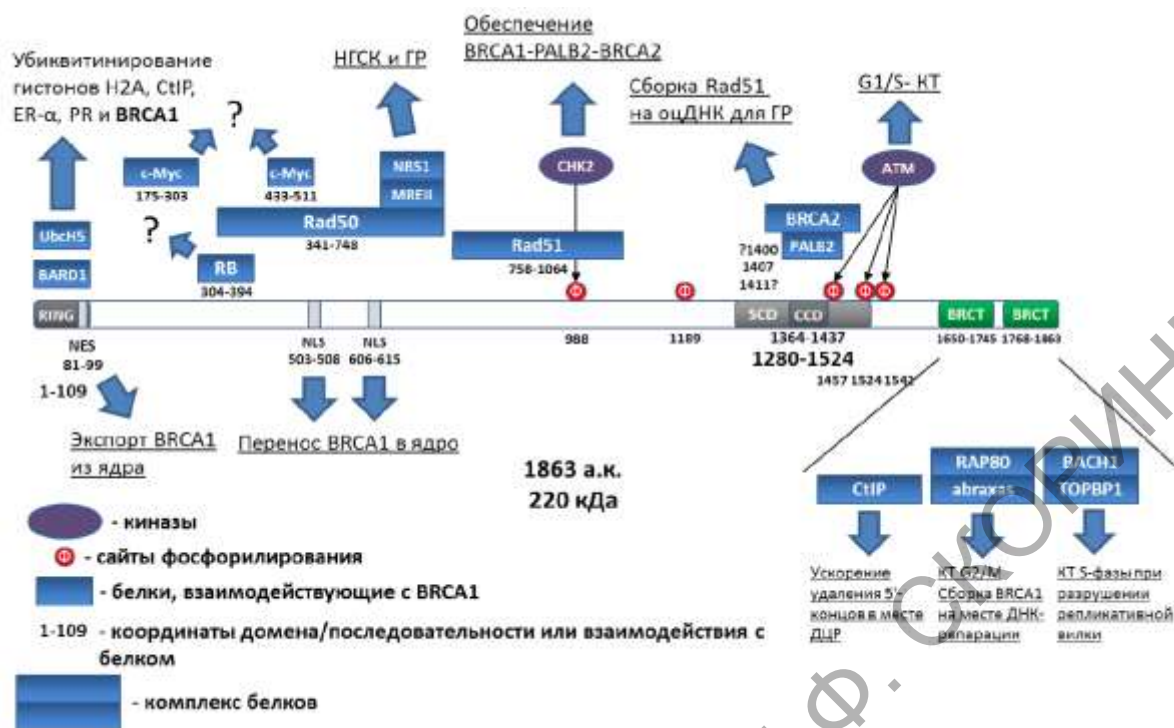


Рисунок 21 – Схема строения и функционирования белка BRCA1

При генотоксических стрессах транскрипционная функция BRCA1 направлена на индукцию остановки клеточного цикла по нескольким механизмам. Так, она обеспечивает усиление активности p53. Также включение дублирующих p53-независимых путей активации некоторых p53-респонсивных генов (p21^{Wan/Cipl}, GADD45), вызывающих задержку соответственно в G1 и G2. Дополнительно подавление активности MYC, E2F и т.д. Одновременно активированный BRCA1, взаимодействуя с белками репарационных систем, стимулирует восстановление нормальной структуры ДНК. Рекрутируя комплексы Rad50/Mre11/NBS1, он стимулирует процессирование концов разорванной ДНК, подготавливая их либо для гомологичной рекомбинации, либо для воссоединения конец в конец – двух основных путей репарации двунитевых разрывов ДНК. Взаимодействуя с комплексом Rad51/BRCA2, он увеличивает эффективность процесса гомологичной рекомбинации ДНК.

Помимо контроля повреждений ДНК и поддержания целостности генома, BRCA1 связывает рецептор эстрогенов и репрессирует его транскрипционную функцию, сдерживая, таким образом, избыточную пролиферацию клеток молочной железы и других эстрогензависимых органов, в частности при половом созревании и беременности.

В клетках с дефектным BRCA1 наблюдается сильная генетическая нестабильность, т.е. повышение частоты возникновения спонтанных или индуцированных генных мутаций, хромосомных транслокаций,

анеуплоидии и т.д. Кроме того, отменяется сдерживание пролиферации эстрогензависимых клеток, что и объясняет возникновение опухолей именно молочной железы и яичника.

Функции белка BRCA2 (рисунок 22) изучены хуже. Как и BRCA1, он обладает репарационной и транскрипционной активностью. Связывая Rad51, BRCA2 увеличивает его способность катализировать рекомбинации ДНК, обеспечивающие репарацию двуниевых разрывов ДНК. Транскрипционная функция BRCA2 связана со способностью рекрутировать P/CAF, ацетилирующие гистоны и ремоделирующие хроматин.

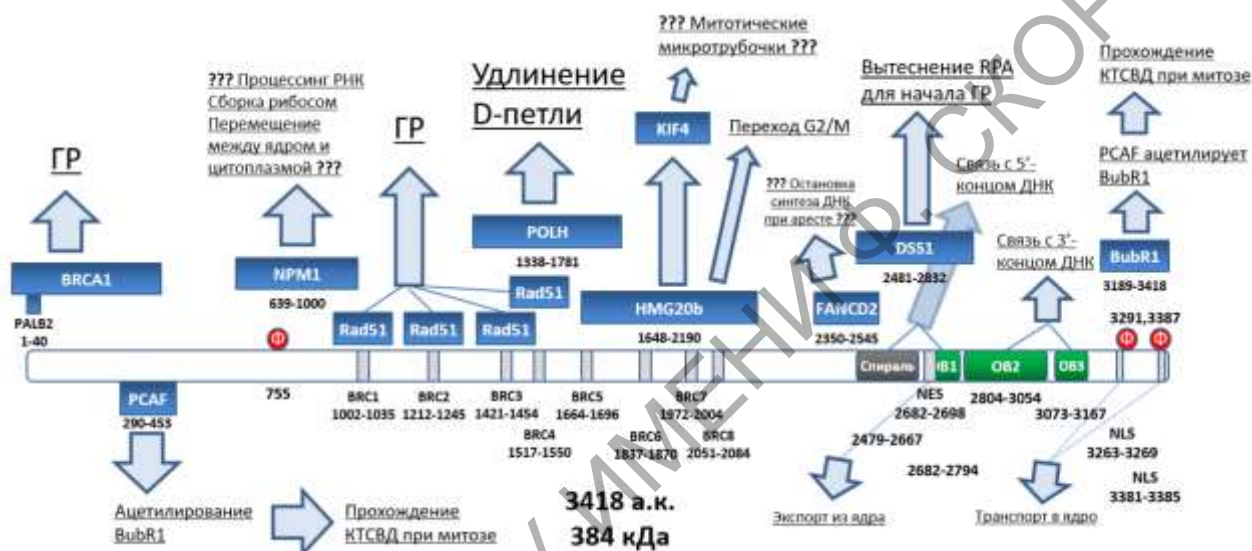


Рисунок 22 – Схема строения и функционирования белка BRCA2

На клеточном уровне инактивация BRCA2 приводит к гиперчувствительности к различным генотоксическим агентам (УФ- и у-облучение, химические мутагены), повышению частоты незарепарированных двуниевых разрывов ДНК и различных перестроек хромосом. Точные механизмы специфического возникновения у пациентов с терминальными мутациями BRCA2 опухолей молочной железы, яичника и предстательной железы пока не установлены.

3. MSH2, MSH6, MLH1 и PMS2 – компоненты систем репарации неспаренных оснований ДНК

Риск развития новообразований значительно повышается и при врожденных дефектах системы репарации неспаренных оснований, исправляющей главным образом ошибки репликации ДНК и неточности репарации двуниевых разрывов. В результате таких ошибок и потери комплементарности нитей ДНК возникают петли, которые распознаются комплексами белков MSH2/MSH6 или MSH2/MSH3. Эти комплексы рекрутируют к местам с нарушенной структурой ДНК комплексы белков

MLH1/PMS2 или **MLH1/MLH3**, которые в свою очередь привлекают экзo- и эндонуклеазы, осуществляющие эксцизию аномального фрагмента ДНК, а также факторы репликации (PCNA, ДНК-полимеразы), обеспечивающие застройку бреши и восстановление нормальной структуры ДНК.

Врожденные гетерозиготные мутации по меньшей мере четырех из компонентов этой системы – **MSH2, MLH1, MSH6 и PMS2** – вызывают синдром Линча (развитие в молодом возрасте опухолей толстой кишки) и/или опухолей яичника.

Возникновение опухолей, при дисфункции **MSH2, MLH1, MSH3** или **PMS2** связано с повышенной вероятностью мутаций в протоонкогенах и опухолевых супрессорах. При мутациях гена **MSH2** или **MLH1** частота точечных мутаций во всех локусах увеличивается на 1-2 порядка. Маркером инактивации любого из генов репарации неспаренных оснований служит легко выявляемая нестабильность микросателлитных последовательностей ДНК. Нарушения функции генов **MSH2, MLH1, MSH3, MSH6** и **PMS2**, приводящие к нестабильности микросателлитов, характерны и для некоторых форм спорадических (ненаследственных) опухолей: они обнаруживаются в **13-15 % опухолей толстой кишки, рака желудка, молочной железы и эндометрия.**

Описаны единичные случаи терминальных мутаций обоих аллелей гена **MLH1**, которые приводили к развитию еще во внутриутробном возрасте лимфосарком, лейкозов и нейрофиброматоза. Это объясняется, видимо, тем, что при полной инактивации системы репарации ошибок репликации ДНК и бурном размножении в эмбриогенезе клеток всех тканей необходимое для образования опухоли количество мутаций успевает накопиться в клетках задолго до рождения, тогда как при гетерозиготных мутациях темп мутирования ниже и накопление мутаций до критического уровня продолжается лишь в интенсивно размножающихся клетках взрослого организма.

4. Компоненты системы эксцизионной репарации ДНК

Система эксцизионной репарации узнает и исправляет сшивки оснований, образующиеся, например, после УФ-облучения или оксидативного стресса. Распознавание тиминовых димеров (сшивок) осуществляется белковым комплексом **XPC-hHR23**, который вызывает рекрутирование к месту повреждения фактора **TFIIH** – сложного белкового комплекса, состоящего из 9 субъединиц и обладающего разными активностями, в том числе хеликазной и транскрипционной. Привлеченный фактор **TFIIH** катализирует раскрытие поврежденного участка ДНК и способствует сборке репарационного комплекса. Затем к дефектному участку последовательно рекрутируются белки **XPG, XPA, комдекс RPA** и белки **XPF-ERCC1**, являющиеся эндонуклеазами. Именно они и

осуществляют **эксцизию поврежденного участка ДНК**, инициируют **застройку бреши** по неповрежденной матрице и **восстановление нормальной структуры ДНК**.

Терминальные гетерозиготные мутации компонентов системы эксцизионной репарации, в частности **генов ХРА, ХРВ, ХРС, ХРD, ХРF, ХРG**, ведут к возникновению **пигментной ксеродермы** – наследственного заболевания, характеризующегося повышенной чувствительностью к ультрафиолетовому облучению и развитием **множественных опухолей кожи** на местах, подвергающихся солнечному облучению.

Вопросы для самоконтроля:

1. Мутаторные гены. Белок АТМ, как основной компонент проведения сигналов от поврежденной ДНК. 2. Другие компоненты проведения сигналов: АТR, NBS1, СHК1, СHК2. 3. Расскажите о генах репарации ДНК BRCA1, BRCA2. 4. Компоненты системы репарации неспаренных оснований ДНК (MSH2, MSH6, MLH1, PMS2) и системы эксцизионной репарации ДНК.

ЛЕКЦИЯ 7

ОНКОГЕНЕЗ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

1. Рак молочной железы: факторы риска, гистологические типы и молекулярная таксономия

2. Молекулярный механизм развития рака молочной железы

3. Симптомы и диагностика

1. Рак молочной железы: факторы риска, молекулярная таксономия

Рак молочной железы является самым распространенным онкологическим заболеванием среди женщин в развитых индустриальных странах. Ежегодная заболеваемость раком молочной железы в мире составляет более 1,3 миллиона случаев. Семейную историю накопления случаев рака молочной железы и опухолей женской репродуктивной системы отмечают 25 % заболевших женщин. Этиопатологическим фактором являются структурные и функциональные перестройки высокопенетрантных генов **BRCA1**, **BRCA2**, **TP53**, **PTEN**, **MLH1**, **MSH2** и генов средней и низкой вероятности проявления – **CHEK2**, **STK11/LKB1**, **CDH1**, **PALB** и др., ассоциированных с развитием рака молочной железы на фоне наследственных онкологических синдромов (рисунок 23).

Синдром	Повлеченный ген и его локализация	Основные клинические проявления
Наследственный РМЖ и/или рак яичников (РЯ)	<i>BRCA1</i> (17q21) <i>BRCA2</i> (13q12.3)	РМЖ, РЯ, рак предстательной железы, рак эндометриальной железы, меланома, рак толстой кишки
Синдром Ли-Фраумени	<i>TP53</i> (17p13.1) <i>CHEK2</i> (22q12.3)	РМЖ, мягкотканые саркомы, остеосаркомы, опухоли головного мозга, лейкемия, рак коры надпочечников
Синдром Линча (наследственный неполипозный рак толстой кишки)	<i>MSH2</i> (2p16.2-p21) <i>MSH3</i> (3q11-q12) <i>MSH6</i> (2p16) <i>MLH1</i> (3p21.3) <i>PMS1</i> (2q31-q33) <i>PMS2</i> (7p22)	Рак толстой кишки, первично-множественные злокачественные опухоли: РМЖ, РЯ, рак тела матки, желудка, тонкой кишки, мочевого пузыря или почечной лоханки, желчных путей; возможно сочетание с опухолью головного мозга (синдром Турко) или множественными аденомами слюнных желез (синдром Торре)
Синдром Луи-Бар	<i>ATM</i> (11q22.3)	Лимфома, миелоидный лейкоцитоз, глиома, поражения кожи, дефицит иммунной системы, глаукома, медуллобластома, РМЖ
Наследственный диффузный рак желудка	<i>CDH1</i> (16q22.1)	Рак желудка, диффузный РМЖ
Синдром Кауасаи	<i>PTEN</i> (10q23.31)	Поражение слизистых оболочек и кожи, множественные гамартомы (чаще в желудочно-кишечном тракте), РМЖ, рак щитовидной железы, опухоли матки и др.
Синдром Фейтца-Егерса	<i>STK11</i> (19p13.3)	Пигментация кожи, слизистой оболочки ротовой полости, множественные гамартомы желудочно-кишечного тракта, РМЖ, герминогенные опухоли
Синдром хромосомной нестабильности	<i>NBS1</i> (8q21)	Микроцефалия, комбинированный первичный иммунодефицит, повышенная чувствительность к радиоактивному излучению, РМЖ
Анемия Фанкони	<i>BRIP1/FANCF</i> (17q23.2) <i>PALB2/FANCL</i> (16p12) <i>FANCA</i> (16q24.3)	Апластическая анемия, аномалии скелета, неврологические расстройства, врожденные пороки сердца, РМЖ

Рисунок 23 – Синдромы, ассоциированные с наследственным раком молочной железы

К факторам риска развития рака молочной железы относят:

- 1) Курение (особенно, если оно начато в юном возрасте).
- 2) Раннее менархе (до 12 лет).
- 3) Поздняя менопауза (после 55 лет).
- 4) Отягощенный семейный анамнез (онкозаболевания у кровных родственников).

- 5) Больные, после лечения рака женских половых органов.
- 6) Ожирение.
- 7) Сахарный диабет.
- 8) Гипертоническая болезнь.
- 9) Злоупотребление алкоголем.
- 10) Употребление экзогенных гормонов – при непрерывном употреблении экзогенных гормонов с целью контрацепции или лечения – более 10 лет.

Молекулярная таксономия рака молочной железы:

В последние годы развивается молекулярная таксономия рака молочной железы, позволившая выделить в рамках данного заболевания **четыре основных молекулярных подтипа**. Эти подтипы отличаются друг от друга **характерными наборами молекулярных маркеров** и фактически представляют собой разные болезни – с различной этиологией, молекулярным патогенезом и прогнозом, требующие специфических терапевтических подходов. Указанные подтипы опухолей различаются, во-первых, тем, какие **цитокератины в них экспрессируются (базальные или люминальные)**, а во-вторых – **наличием или отсутствием амплификации гена HER2** (в настоящее время функционирование гена HER2 в рамках рака молочной железы активно исследуется):

1) **Люминальный подтип А** (30-45 %): эстроген-зависимые малоагрессивные опухоли, избытка экспрессии рецепторов белка HER2 нет, наилучший прогноз.

2) **Люминальный подтип В** (14-18 %): эстроген-зависимые агрессивные опухоли, выражена амплификация онкогена HER2, значительно худший прогноз.

3) **HER2-позитивный подтип** (8-15 %): эстроген-независимые агрессивные опухоли, выражена амплификация онкогена HER2, повышенная вероятность негативного исхода заболевания.

4) **«Triple negative» подтип** (27-39 %): эстроген-независимые агрессивные опухоли, избытка экспрессии рецепторов белка HER2 нет, наихудшие показатели выживаемости.

2. Молекулярный механизм развития рака молочной железы

Ключевую роль в развитии рака молочной железы играет дисфункция одной или нескольких **молекулярных систем**:

1) Система **проведения сигналов от поврежденной ДНК** (прежде всего **СНЕК2**).

2) Система **регуляции и остановки клеточного цикла** (**TP53** и его белок **p53**).

3) Система **контроля репарации ДНК и размножения клеток** (**BRCA1/2**).

Система проведения сигналов от поврежденной ДНК (лекция 6) выполняет одноименную функцию. Наиболее важное значение в контексте рака молочной железы имеет мутация гена **CHK2** и соответствующей киназы. В этом случае существенно ухудшается **эффективная сигнализация о повреждениях ДНК** на протяжении всего клеточного цикла. При повреждениях снижается необходимый уровень фосфорелирования и инактивации **белков семейства Cdc25**, а, соответственно, **не подавляется активность** регулируемых ими **циклинзависимых киназ (Cdk2, Cdc2 и т.д.)**, что **не вызывает остановку клеточного цикла** в случае повреждения ДНК при переходе $G1 \rightarrow S$ и $G2 \rightarrow M$. Также происходит лишь **частичная амплификация сигналов к p53 и BRCA1**, что **не позволяет реализовать длительную задержку клеточного цикла** для полного восстановления повреждений или **принятия адекватного решения об апоптозе клетки**.

Система регуляции и остановки клеточного цикла представлена в частности геном **TP53** и соответствующим белком **p53 (лекция 5)**. Мутации данного гена приводят к **резкому изменению конформации молекулы белка p53**, что вызывает потерю или ослабление его активности. Прежде всего, это **ослабление регуляции клеточного цикла** через ингибиторы **циклинзависимых киназ**, которые в норме связывают комплекс **циклин E/cdk2** и останавливают G1 фазу, а также связывают комплекс **циклин B/cdk1** и останавливают G2 фазу. Это необходимо для **длительной остановки клеточного цикла с целью устранения всех повреждений ДНК**, которой **не происходит**.

Нарушение структуры p53 ведет к **снижению эффективности апоптоза**, причем по обоим путям: через «рецепторы смерти» (отсутствие адекватной регуляции **антиапоптотического белка Bcl-2** и **проапоптотических белков Bax, Puma, Noxa**) и митохондриальным путем (отсутствие активации генов апоптоза **p53A1P1, PIG3, Fas, Killer/DR5** и недостаточная проницаемости митохондриальной мембраны для цитохрома C). **Вследствие чего мутантные клетки не уничтожаются**.

В дополнении к этому происходят патологические изменения в генах, продукты которых регулируют **морфологию и/или миграцию клеток** – **HGF/SF, HGF1/MSP, HB-EGF**, что вызывает аномальные морфологические изменения и стимулирует высокую подвижность клеток.

Система контроля репарации ДНК и размножения клеток (лекция 6). Мутации генов **BRCA1** вызывают снижение **рекомбинации и репарации двунитевых разрывов ДНК (Rad50, Rad51, BRCA2)**, ухудшение репарации **неспаренных оснований ДНК (MSH2, MSH6, MLH1, ATR-MSH2)**. В случае перерождения клеток с мутациями генов **BRCA1** не про-

исходит репрессии сиквенсспецифических факторов транскрипции (MYC, E2F) и отсутствует активация гена p53. Таким образом, слабо реализуется транскрипционная функция BRCA1, направлена на **индукцию останковки клеточного цикла по нескольким механизмам.**

Инактивация BRCA2 приводит к **гиперчувствительности к различным генотоксическим агентам (УФ- и у-облучение, химические мутагены), повышению частоты незарепаированных двунитевых разрывов ДНК и различных перестроек хромосом.**

Наиболее существенная роль в развитии рака молочной железы при мутациях BRCA1, BRCA2 отводится **отсутствию контроля рецепторов эстрогенов и недостаточная репрессия их транскрипционной функции.** В связи с этим не происходит **сдерживания избыточной пролиферации** клеток молочной железы, яичников и других эстрогензависимых органов, в том числе при половом созревании и беременности.

3. Симптомы и диагностика

Рак молочной железы на ранних стадиях (1-й и 2-й) **протекает бессимптомно и не причиняет боли.** Могут иметь место **очень болезненные месячные, боли в молочных железах при мастопатии.** Обычно рак молочной железы обнаруживают до явного появления непосредственных симптомов опухоли – либо на **маммографии**, либо женщина чувствует появление **уплотнения в груди.** Любое новообразование необходимо **пунктировать** для выявления раковых клеток. Наиболее точная диагностика происходит по результатам **трепан-биопсии под контролем УЗИ.** Много случаев диагностики болезни лишь на 3-й и 4-й стадиях, когда опухоль уже видна невооруженным глазом, имеет вид язвы или большой шишки. Может появиться **не исчезающее в течение менструального цикла уплотнение в подмышечной ямке или над ключицей:** эти симптомы свидетельствуют о **поражении лимфоузлов**, то есть метастазах в лимфоузлы, явно выражающихся уже на поздних стадиях. Болевой синдром связан с **прорастанием опухоли в грудную стенку.** Прочие **симптомы поздних (III-IV) стадий:** прозрачные или кровянистые выделения из груди, втяжение соска в связи с прорастанием опухоли в кожу, изменение цвета или структуры кожи груди в связи с прорастанием опухоли в кожу.

Ранней диагностики рака молочной железы способствуют **постоянные плановые посещения врача-маммолога и ежемесячные собственные обследования молочных желез.** Рекомендуется регулярное посещение врача-маммолога – специалиста в области заболеваний молочных желез – **не реже одного раза в 1-2 года.** Всем женщинам старше 20 лет рекомендуется ежемесячно проводить **самостоятельное обследование молочной железы.** Женщинам старше 40-50 лет категорически необходи-

мо каждый год (даже при отсутствии жалоб) проводить маммографические обследования.

Женщинам любого возраста с выявленными заболеваниями молочных желез **показана маммография** с целью дифференциальной диагностики с использованием ультразвуковых, патоморфологических методик, в том числе интервенционной радиологии.

Сигналы тревоги рака молочной железы:

1) **Наличие уплотнений или опухолевидных образований** в одной или обеих молочных железах.

2) **Выделения из соска любого характера**, не связанные с беременностью или лактацией.

3) **Эрозии, корочки, чешуйки, изъязвления** в области соска, ареолы.

4) **Беспричинно возникающая деформация, отек, увеличение или уменьшение размеров** молочной железы.

5) **Увеличение подмышечных или надключичных лимфоузлов.**

Выявление врачом хотя бы одного из указанных «сигналов тревоги» требует **срочного (в молодом возрасте от 1-й до 4-й стадии рака молочной железы может пройти всего несколько месяцев) направления больной к онкологу-маммологу или сразу в онкологический диспансер, где должны быть проведены УЗИ и пункция.** В случае выявления рака назначается либо операция с последующей химиотерапией, либо сначала химиотерапия с последующей операцией. Велик процент **невнимательного (или задерживающего) отношения медицинского персонала на районном уровне к новообразованиям**, в результате чего злокачественная опухоль диагностируется на поздних (3-4) стадиях. От времени обращения до дня УЗИ может пройти месяц, а это **недопустимо.** Не стоит полагаться на то, что опухоль может быть доброкачественной. **Быстрое обследование в медицинском учреждении поможет сохранить жизнь.**

Наследственный рак молочной железы характеризуется **аутосомно-доминантным типом наследования, ранним возрастом возникновения**, передачей как с **материнской**, так и с **отцовской** стороны и **выраженной генотипической и фенотипической гетерогенностью.** В значительной части случаев (**около 30 %**) наследственный рак молочной железы является составляющей так называемого **синдрома рак молочной железы и/или рака яичника**, в **70 % случаев** ассоциированного с мутациями в генах **BRCA**. Распространенность носителей мутаций генов BRCA в общей популяции составляет **от 1:800 до 1:1000.**

Критериями для постановки генетического диагноза наследственного рака молочной железы служат наличие **в семье 2 и более родственников I-II степени родства**, страдающих раком молочной железы и/или раком яичника, **ранний возраст манифестации** заболевания, **двухстороннее**

поражение, первично-множественные опухоли у пациента или его родственников.

Для подтверждения генетического диагноза используются различные методы ДНК-диагностики и их комбинации:

- **полимеразная цепная реакция (ПЦР) с последующим электрофорезом** при мутационном скрининге всего гена с целью выявления структурных перестроек;

- **ПЦР в реальном времени (real-time PCR)**, позволяющая производить количественную оценку копийности гена;

- **мультиплексная ПЦР и гибридизация с олигонуклеотидными биочипами** для тестирования известных частых мутаций.

Наиболее востребованной и значимой на сегодняшний день является ДНК-диагностика генов **BRCA1/2, CHEK2, TP53** с целью выявления **наследственной предрасположенности к раку молочной железы**. Частота мутаций этих генов в общей популяции составляет **3-5 %** для женщин моложе 40 лет и **1,1 %** – в возрасте 50-70 лет. Пенетрантность мутаций не является полной и зависит как от **внутригенных** (тип мутации, местоположение, сочетание с однонуклеотидными полиморфизмами), так и от **экзогенных факторов** (популяционных и внешнесредовых). **Стиль жизни, репродуктивное поведение определяют временные рамки реализации наследственной предрасположенности.**

Вопросы для самоконтроля:

- 1. Расскажите о наследственных онкологических синдромах, связанных с раком молочной железы и вовлеченных в процесс генами.*
- 2. Какие факторы риска способствуют развитию рака молочной железы.*
- 3. Расскажите о молекулярной таксономии рака молочной железы.*
- 4. Перечислите молекулярные механизмы и системы, связанные с раком молочной железы.*
- 5. Расскажите о симптомах рака молочной железы и «сигналах тревоги».*
- 6. Опишите методы диагностики рака молочной железы.*

ЛЕКЦИЯ 8

ОНКОГЕНЕЗ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

- 1. Рак предстательной железы: факторы риска, гистологическая классификация*
- 2. Молекулярный механизм развития рака предстательной железы*
- 3. Симптомы и диагностика*

1. Рак предстательной железы: факторы риска, гистологические типы и молекулярная таксономия

Рак предстательной железы (рак простаты, карцинома простаты, карцинома предстательной железы) – злокачественное новообразование, возникающее из эпителия альвеолярно-клеточных элементов предстательной железы.

Рак предстательной железы – одно из наиболее распространенных злокачественных новообразований у мужчин. Ежегодно в мире выявляется свыше 400000 случаев рака предстательной железы. В ряде стран он занимает в структуре онкологических заболеваний 2-е или 3-е место после рака легких и рака желудка. **Рак предстательной железы является причиной почти 10 % смертей от рака у мужчин и служит одной из главных причин смерти у пожилых мужчин. У мужчин старше 60 лет это – наиболее часто встречающееся злокачественное новообразование.**

К факторам риска развития рака предстательной железы относятся:

1) **Пожилым возрастом** (более 75 % случаев рака простаты диагностируется у мужчин старше 65 лет, а на мужчин моложе 60 лет падает лишь 7 % случаев заболевания).

2) **Связанные с возрастом нарушения гормонального фона.**

3) **Особенности питания** (у мужчин, употребляющих **жирную пищу**, риск возникновения рака простаты **возрастает в 2 раза**, поскольку обилие в пище животных жиров ведет к ухудшению всасывания **витамина А** и, как следствие, **β-каротина – фактора защиты** от возникновения некоторых злокачественных опухолей).

4) **Наследственная предрасположенность** (так, риск заболеть раком предстательной железы повышается в 10 раз у мужчины, трое родственников которого больны данным заболеванием; самый высокий риск заболеть раком предстательной железы имеют афроамериканцы – в три раза выше, чем у европейцев, а у азиатов рак предстательной железы встречается редко).

5) **Факторы внешней среды** (например, облучение ультрафиолетовыми лучами).

6) **Вирусные инфекции** (в частности, гипотеза о вирусе ХМРV из семейства ретровирусов как о факторе риска при заболевании раком простаты).

7) **Вредные условия труда** (работа с кадмием, в резиновой промышленности).

Гистологическая классификация рака предстательной железы:

1) **Недифференцированные:**

- **полиморфноклеточный рак** (характеризуется большим количеством делящихся различных по форме и размерам клеток).

2) **Малодифференцированные:**

- **анапластическая аденокарцинома** (характеризуется изменением внутриклеточных структур, специфической формой и размерами клеток);

- **солидный рак** (при котором клетки располагаются пластами или тяжами, разделенными прослойками соединительной ткани);

- **скиррозный рак** (при котором опухоль становится твердой, фиброзной за счет преобладания соединительнотканной стромы над опухолевыми клетками).

3) **Дифференцированные:**

- **аденокарцинома** (если рак возник из железистого эпителия);

- **плоскоклеточный рак** (если рак возник из плоского эпителия);

- **тубулярный рак** (если рак развился из узких каналов, выстланных кубическим или призматическим эпителием, в просвете которых может находиться секрет);

- **альвеолярный** (возникает из концевых отделов ветвящихся желез).

Около 95 % случаев рака предстательной железы составляют **ацинарные аденокарциномы**; на долю же остальных видов аденокарцином (протоковая, муцинозная, мелкоклеточная, переходно-клеточная) приходится не более 5 %.

Рак предстательной железы **зачастую проходит стадию предрака**, своевременное выявление которого существенно помогает осуществить прогноз и лечение. К предраковым состояниям предстательной железы относятся:

1) **Атипическая гиперплазия** предстательной железы (факультативный предрак предстательной железы, способный переходить в рак предстательной железы при определенных условиях).

2) **Интраэпителиальная неоплазия** предстательной железы (облигатный предрак предстательной железы, предшественник аденокарциномы предстательной железы).

В 60-70 % случаев опухоль при раке простаты возникает в ее **периферической зоне**. В **центральной зоне** опухоль появляется лишь в **5-10 %** случаев, а остальные случаи приходятся на **переходную зону**.

2. Молекулярный механизм развития рака предстательной железы

Причины возникновения рака предстательной железы **многообразны и окончательно невыяснены**. Установлено, что в трансформированных клетках предстательной железы наблюдаются многочисленные **изменения экспрессии генов**, контролирующих пролиферативные процессы. В частности, регистрируется повышенный уровень образования **факторов роста и их рецепторов**, активируются сигнальные каскады, ассоциированные с **андрогеновым рецептором (AR)**. Все эти компоненты стиму-

лируют пролиферацию, миграцию и метастатическую активность трансформированных клеток простаты.

В патогенезе рака предстательной железы основное место отводится **нарушению гормонального баланса**, что является критическим в **изменении активности и количества стероидных рецепторов**, воспринимающих гормональные сигналы. Нерегулируемая активация рецепторов ведет к **нерегулируемой экспрессии многих генов**. Наиболее хорошо изученным геном-мишенью AR является **ген KLK3** – кодирующий белок **простат-специфического антигена (ПСА)**, являющегося сериновой протеазой.

Мониторинг уровня ПСА в качестве маркера активности AR в настоящий момент имеет **ключевую роль для диагностики рака предстательной железы**. Особое место среди генов-мишеней AR занимают гены, ответственные за **рост и дифференцировку конкретной гормонозависимой ткани**. В подавляющем числе опухолей предстательной железы именно **AR ответственен за стимуляцию пролиферации опухолевых клеток** и является **митогенным фактором**, поддерживающим рост опухолей. Так, генами-мишенями для AR являются **ген гидрокси-стероид-дегидрогеназы 17B8**, отвечающий за **регуляцию уровня эстрогенов и андрогенов**; трансмембранного белка семейства **4L6**, регулирующего **рост, развитие и деление клеток**; гены **циклин-зависимых киназ (Cdk1 и Cdk2)**; **ген RMEPA1**, кодирующий **простат-специфичный трансмембранный андроген-индуцируемый белок (TRAIP)**, который участвует в регуляции **клеточного роста**, гены **факторов роста** и многие другие. Таким образом, постоянная активация AR под действием стероидов приводит к активации генов-мишеней, следствием чего является **злокачественное перерождение в гормонозависимых тканях**.

Стероиды являются регуляторами контроля клеточной пролиферации в тканях-мишенях, что, возможно, играет **основополагающую роль в патогенезе многих злокачественных опухолей человека**. Основными мужскими половыми гормонами, относящимися к семейству стероидных гормонов, являются **андрогены**. Биологическая активность андрогенов **реализуется через AR** и представлена цепью последовательных событий, включающих синтез тестостерона. Таким образом, **AR является ключевой молекулой в восприятии гормонального сигнала и передачи его генам-мишеням**. Любое нарушение в данном сигнальном пути может вызвать развитие рака предстательной железы. Поэтому **особую актуальность приобретает исследование структуры и функции AR**.

Активация транскрипции генов-мишеней AR сопровождается взаимодействием рецептора с **коактиваторами**. Данное взаимодействие, как правило, активируется **связыванием лиганда-агониста с рецептором**. Коактиваторы обладают **плейотропным действием на транскрипцию генов** – участвуют в формировании **базального комплекса транскрипции, ре-**

модулировании хроматина и конформационной перестройке самого рецептора. Следовательно, они могут играть важную роль в развитии и прогрессии рака предстательной железы. В присутствии белков коактиваторов **ARA70, SRC-1, SRC-2, SRC-3**, и коинтеграторов **p300** наблюдается активация **AR** при низких концентрациях лиганда. Более того, взаимодействие **AR** с белками-коактиваторами может влиять на сродство рецептора к различным лигандам и активировать его транскрипционную активность. Взаимодействие **ARA70** с **AR** придает последнему способность к активации в присутствии антиандрогенов. Также, белок **ARA70** способствует активации **AR** андрогенами, синтезирующимися в надпочечниках в физиологических концентрациях. Таким образом, повышенная экспрессия коактиваторов может служить пусковым механизмом в канцерогенезе предстательной железы.

Амплификация гена AR – ключевой момент в трансформации опухоли предстательной железы от **гормон-чувствительной к гормон-резистентной формам**. В одной трети опухолей предстательной железы, резистентных к гормональной терапии, наблюдается амплификация гена **AR**, следствием чего является **повышенная чувствительность к андрогенам**, концентрация которых после химической или хирургической кастрации очень мала. В основном амплифицированная форма гена **AR** сохраняет первоначальную структуру. Однако в опухолях с амплифицированным рецептором обнаружено наличие **мутантного p53**. Вероятно, мутация в данном гене, которая приводит к инактивации, может являться причиной амплификации гена **AR**.

Мутации гена AR могут приводить к раку предстательной железы. Известно **более 660 мутаций**, которые влияют на пролиферативные процессы в предстательной железе и приводят к **андроген-нечувствительному синдрому**. Большинство соматических мутаций обнаруживается в **LBD рецептора (49 %)** в районах между **670-678, 701-730 и 874-919-й аминокислотными остатками**. Появление таких мутаций приводит к «неразборчивости» **AR** к лигандам. При этом такие мутации крайне редко встречаются в первичных опухолях, в то же время они достаточно часто встречаются при **кастрат-резистентном раке** (в 30 % случаев). В результате таких мутаций **AR** способен активироваться не только андрогенами, но и **прогестероном, эстрогенами, кортизолом и другими гормонами и их метаболитами**.

Первой описана замена треонина на аланин в **877-й позиции (AR)**, обнаруженная в клеточной линии рака простаты **LNCaP** (андроген-зависимая клеточная линия). Данная мутация изменяет размер, форму и свойства **лиганд-связывающего кармана**. Это приводит к тому, что даже неприродные лиганды связываются с рецептором и активируют его. Таким образом, **мутация AR^{T877A}** приводит к усилению роста опухолевых клеток через абберантную активацию антиандрогенами, которые исполь-

зуются в лечении. Это объясняет андроген-независимый рост опухолей и рассматривается как основной механизм адаптации опухолевых клеток к низким концентрациям андрогенов после гормональной абляции.

Вторая точечная мутация, идентифицированная в клетках рака предстательной железы – это замена Leu на His в 701-м положении. Данная мутация в гене AR часто встречается у пациентов с гормон-рефрактерным раком простаты. Эта T877A же мутация в комбинации с ART877A приводит к снижению чувствительности к андрогенам, но повышает отзывчивость на глюкокортикоиды (кортизон), который циркулирует в достаточно высокой концентрации для активации мутантных рецепторов. Таким образом, при андроген-независимом раке простаты за счет наличия мутаций наблюдается активация рецептора разнообразными лигандами, циркулирующими в крови.

Сплайсированные варианты AR. Известно более 20 сплайсированных вариантов AR. У данных сплайсированных вариантов отсутствует LBD, однако они содержат N-концевой домен с участком AF-1 и DBD, которые и определяют конститутивную активность сплайсированных вариантов AR, необходимую для прогрессии раковых клеток предстательной железы и возникновения резистентности к терапии. Наиболее часто встречающимся вариантом является AR3, который обладает конститутивной транскрипционной активностью, не регулирующийся андрогенами и антиандрогенами. ARv567 – еще один сплайсированный вариант, для которого характерно отсутствие 5, 6, 7-го экзонов. Наличие данного варианта свидетельствует о гормон-резистентности и метастатическом раке простаты. Эта форма усиливает экспрессию нормального рецептора в отсутствие лиганда, действуя как конститутивно активный рецептор. Таким образом, наличие сплайсированных вариантов AR играет значительную роль в формировании кастрат-резистентного рака предстательной железы и прогрессии заболевания.

3. Симптомы и диагностика

Симптомов, характерных только для рака предстательной железы, не существует. Многие симптомы схожи с таковыми при [доброкачественной гиперплазии предстательной железы](#):

1) **Ирритативные симптомы** – частые позывы к мочеиспусканию, ощущение неполного опорожнения мочевого пузыря, спастические или болевые ощущения в промежности.

2) **Обструктивные симптомы** – затруднение при мочеиспускании, наличие прерывистой или тонкой струи мочи, задержка мочи. Увеличение времени мочеиспускания. Необходимость напрягать мышцы [брюшного пресса](#) для полного опорожнения мочевого пузыря.

Однако данные симптомы появляются, как правило, на стадии **метастазов** и связаны с разрастанием опухоли, когда речь идет о запущенных стадиях рака. На начальных же стадиях рак простаты протекает бессимптомно.

Метастазы при раке предстательной железы распространяются как по **кровеносным**, так и по **лимфатическим** путям. Возможны метастазы в **легкие**, **печень**, паховые и подвздошные **лимфатические узлы**, а также в **костную ткань** (преимущественно в кости **таза**). Выявлена эмпирическая закономерность: метастазы в лимфатические узлы не сочетаются с метастазированием в костную ткань.

Специфическая профилактика рака предстательной железы **не разработана**, однако в ряде исследований показана профилактическая роль **ликопина**, **селена**, **витамина Е**. В частности, проведенные в Европе клинические исследования возможностей содержащегося в **томатах** сильного антиоксиданта ликопина показали, что **потребление помидоров почти в 2 раза снижает наследственный риск заболевания раком простаты**.

К основным методам диагностики рака предстательной железы относятся:

- 1) Исследование уровня **простатического специфического антигена (ПСА)** в крови.
- 2) Пальцевое **ректальное** обследование простаты.
- 3) Трансректальная **эхография** (трансректальное **ультразвуковое исследование**) простаты.

Используются также следующие методы диагностики:

- 1) **Ультразвуковое исследование брюшной полости**.
- 2) **Биопсия предстательной железы**, проводимая, как правило, по результатам **ультразвукового исследования** и сопровождающаяся оценкой степени дифференцировки опухоли путем вычисления «**суммы Глисона**». Ранее биопсия являлась главным методом подтверждения диагноза рака простаты.
- 3) **Магнито-резонансная томография**.
- 4) **Радиоизотопные исследования** (препараты: **флуцикловин**).
- 5) **Рентгенологические обследования** (включая **компьютерную томографию**).
- 6) **Исследование образцов мочи** на специфические маркеры опухоли предстательной железы, например **длинные некодирующие РНК** – маркер **PSA3**.

- 7) **Урофлоуметрия**.

Анализ результатов пальцевого ректального обследования предстательной железы и ее ультразвукового исследования должен **исключить наличие других заболеваний**, вызывающих очаговые уплотнения простаты (неспецифический хронический **простатит** с образованием **гранул**

и очагов [фиброза](#), [склероз](#) предстательной железы, [туберкулезное](#) или [актиномикозное](#) поражение простаты, наличие [камней](#) в предстательной железе). Решающим при различении этих состояний является **заключение цитологического или гистологического исследования.**

Вопросы для самоконтроля:

- 1. Какие факторы риска способствуют развитию рака предстательной железы.*
- 2. Опишите гистологическую классификацию рака предстательной железы.*
- 3. Расскажите об общих молекулярных механизмах, связанных с раком предстательной железы.*
- 4. Амплификация и мутация гена AR, его сплайсированные варианты.*
- 5. Симптомы рака предстательной железы.*
- 6. Опишите методы диагностики рака предстательной железы.*

ЛЕКЦИЯ 9 ЦИТОКИНЫ

- 1. Классификация цитокинов и их рецепторов*
- 2. Взаимодействие цитокинов и опухолевых клеток*
- 3. Цитокины в противоопухолевой терапии. Применение цитокинов.*

1. Классификация цитокинов и их рецепторов

Цитокинами первоначально были названы **секретируемые белковые (полипептидные) медиаторы передачи сигналов между клетками, действующие через специфические рецепторы.** К таким сигналам относятся сигналы **активации, пролиферации, дифференцировки, программируемой клеточной смерти** и некоторые другие. Между растворимыми цитокинами, действующими системно и дистально, и некоторыми гормонами – существует сходство, так что некоторые из них, например гормон роста (эритропоэтин), могут быть классифицированы и как гормоны, и как цитокины. Позже, когда механизмы передачи сигналов цитокинов были подробно изучены, стало ясно, что **к цитокинам необходимо отнести и значительное число мембраносвязанных молекул**, которые действуют на рецепторы по тому же механизму, что и растворимые цитокины, но требуют непосредственного контакта между клетками.

Тот факт, что цитокины способны передавать сигналы пролиферации, дифференцировки и апоптоза, сразу позволяет предположить **существенную роль цитокинов**, их рецепторов и внутриклеточных сигнальных механизмов в процессах, связанных с **трансформацией клеток.** Имеются примеры неоплазий, вызванных постоянной активацией или инактивацией конкретных сигнальных цепей.

Классификация цитокинов основана на способе передачи внутриклеточного сигнала, т.е. на структуре не самих цитокинов, а их рецепторов. Согласно классификации, выделяют четыре главных семейства:

1. Рецепторы, которые в своих внутриклеточных участках содержат «встроенные» киназы:

а) тирозиновые (некоторые рецепторы гемопоэтических факторов и других факторов роста),

б) серин-треониновые (семейство трансформирующего фактора роста – бета). Мутантные формы некоторых рецепторов этого типа являются клеточными онкогенами.

2. Рецепторы не содержат «встроенных» киназных доменов, но в ответ на связывание цитокина способны олигомеризоваться и рекрутировать в рецепторный комплекс киназы семейства JAK (состоящего из JAK1-3 и TYK2), которые и запускают внутриклеточный сигнал.

Отличительной особенностью этого класса рецепторов и цитокинов (к ним относится большинство интерлейкинов, интерферонов, гормон роста и некоторые гемопоэтины) является наличие стадии фосфорилирования транскрипционных факторов семейства STAT, которые также привлекаются в рецепторный комплекс в цитоплазме и после фосфорилирования транслоцируются в ядро.

Рецепторы ИЛ-10, действуя через те же JAK-киназы и STAT-белки, что и рецепторы подсемейства ИЛ-2, часто **передают сигнал противоположной полярности** – ИЛ-10 ингибирует транскрипцию тех генов, которые другие цитокины **активируют**, действуя через тот же набор STAT-белков (**рисунок 24**).

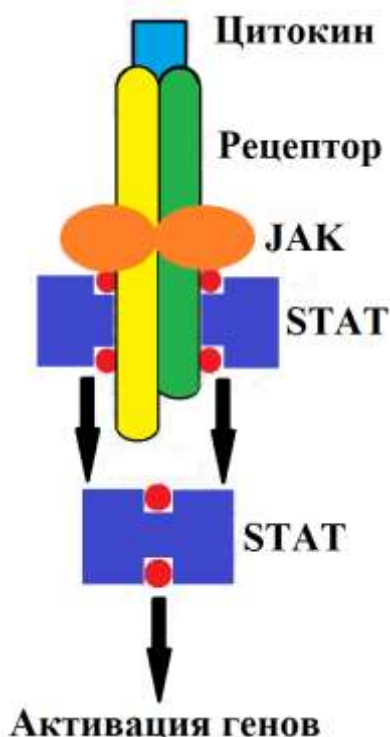


Рисунок 24 – Передача сигнала через никотиновые рецепторы с помощью JAK-киназы и STAT-белков

3. Семейство рецепторов ФНО и семейство рецепторов ИЛ-1P/TOLL. Оба семейства передают сигнал после рекрутирования в рецепторные комплексы адаптерных молекул, которые не имеют киназной активности, но являются промежуточными звеньями для рекрутирования и активации других сигнальных молекул – киназ и каспаз. Особенностью обоих семейств является **активация транскрипционных факторов семейства NF-кВ и/или запуск программированной клеточной смерти.** Многие гены, активируемые при воспалительном ответе за счет действия ФНО, реагируют на активацию транскрипционного фактора NF-кВ. Это не означает, что ФНО может активировать все гены, промоторы которых содержат участок связывания NF-кВ; нужно, чтобы все остальные условия, необходимые для активации, были также выполнены.

Наиболее полно изучена передача сигнала от **рецептора ФНО p55 (TNFRp55) и FAS/Apo-1**, относящихся к категории рецепторов смерти. С помощью нескольких видов адаптерных молекул (**TRAF, TRADD, FADD, RIP** и др.) непосредственно на агрегированных рецепторах собирается **многокомпонентный комплекс**, существенный для передачи сигнала. В этот комплекс, называемый иногда **сигналомой**, входят как **ферменты** (протеинкиназы), так и **субстраты** соответствующих реакций (дополнительные протеинкиназы, или транскрипционные факторы, или их ингибиторы, например IкВ). В результате такой близкой локализации субстратов последовательных реакций достигается быстрая и эффективная передача сигнала, делающая эту группу рецепторов ничуть не менее эффективной, чем те рецепторы, у которых протеинкиназная активность содержится в полипептидной цепи цитоплазматической части рецептора или в молекулах, ассоциированных с рецептором киназ типа JAK. Кроме того, подобная организация сигнальных молекул в единый комплекс **повышает надежность и специфичность передачи сигнала.**

Сходные, но несколько отличные в деталях механизмы использования адаптерных молекул характерны для рецепторов ИЛ-1 и ИЛ-18. Оказалось, что эти два рецептора гомологичны эволюционно очень древнему семейству TOLL (**рисунок 25**).

4. Семейство рецепторов для хемотаксических цитокинов (хемокинов) – самое многочисленное и очень древнее. Рецепторы хемокинов содержат **7 трансмембранных доменов** (гомологичны родопсину) и передают сигнал через **G-белки**. Важным отличительным свойством этого семейства является **наличие нескольких лигандов почти для всех рецепторов и наличие нескольких типов рецепторов на каждом из видов клеток.** Более того, экспрессия не только лигандов, но и рецепторов

регулируется и зависит от функционального статуса клетки. Регулируемая экспрессия хемокинов и их рецепторов играет **центральную роль в воспалительных процессах и при развитии иммунного ответа.**

2. Взаимодействие цитокинов и опухолевых клеток

С точки зрения противоопухолевого иммунитета, **наиболее важными цитокинами** следует считать **факторы роста Т-клеток**, такие как **ИЛ-2**, иммунорегуляторные цитокины, ассоциированные с типом Т-хелперного ответа (**ИФН-γ, ИЛ-4, ИЛ-12, ЛТ, ФНО, ИЛ-10**), а также **Fas-L, CD40** и **гемопоэтические факторы роста.**

Мутации в компонентах каскада передачи сигнала могут приводить к **постоянной активации, вызывающей пролиферацию**, и тем самым эквивалентной по крайней мере одному этапу злокачественной трансформации клеток. Известны онкогенные формы некоторых **рецепторов цитокинов, таких как PDGF и c-Kit.** Онкогенные мутации установлены в **ряде транскрипционных факторов из семейств IRF, STAT, NF-κB.** На уровне самих цитокинов наиболее частая аномалия заключается не в онкогенной мутации, а в **нарушении регуляции экспрессии** (чаще всего транскрипции), которая, в частности, может привести к **аутокринной стимуляции роста.** Тем не менее если цитокин передает сигнал, ингибирующий рост (например, сигнал апоптоза), то **неактивная мутантная форма цитокина может быть ассоциирована со злокачественным ростом.**

Некоторые цитокины, продуцируемые клетками иммунной системы (как гемопоэтическими, развивающимися из костного мозга, так и клетками стромы), **оказывают воздействие на опухолевые клетки**, в том числе действуя как **факторы роста.** Злокачественные клетки и сами способны **производить цитокины, и экспрессировать соответствующие рецепторы**, так что в некоторых случаях в результате aberrантной экспрессии одного из этих двух компонентов могут возникать **аутокринные или паракринные механизмы стимуляции роста опухолей.**

Кроме того, цитокины, продуцируемые опухолевыми клетками, способны **блокировать иммунный ответ как на уровне лимфоцитов** (например, через ТТФ-бета), так и **на уровне антигенпрезентирующих клеток** (например, через ИЛ-10).

Идея о том, что иммунная система постоянно следит за клетками собственного организма и уничтожает спонтанно возникающие опухолеродные клетки, была высказана очень давно. **Специфический компонент** такого надзора связан с **Т-клетками**, распознающими опухолевые антигены, в тех случаях, когда эти антигены презентуются. Если **опухолевые клетки теряют способность к презентации** (за счет потери экспрессии молекул МНС или нарушений в механизмах процессинга антигенов – двух

наиболее распространенных механизмов ускользания от надзора), то остается шанс, что они будут **распознаны и уничтожены НК-клетками**. Некоторые цитокины (**ФНО и ИФН-гамма**) являлись естественными кандидатами на роль в **неспецифическом компоненте противоопухолевого надзора**.

Недавние эксперименты с нокаутными мышами указали на **центральную роль в иммунологическом надзоре ИФН-гамма**. Во-первых, мыши, в которых инактивация ИФН-гамма сочеталась с инактивацией p53, **погибали от спонтанных опухолей гораздо быстрее**. Во-вторых, у мышей с инактивацией разных компонентов цепи передачи сигнала (ИФН-гамма, его рецептора или транскрипционного фактора STAT-1) **индуцированные и спонтанные опухоли возникали гораздо раньше и чаще**, чем у контрольных мышей. Такое же явление наблюдалось у мышей с **инактивацией генов rag**. Результаты исследований означают, что **ИФН-гамма является центральным регулятором противоопухолевого надзора**, а саму функцию надзора осуществляют **лимфоциты**. Другое важное наблюдение, сделанное в ходе этих исследований, состоит в том, что спонтанные опухоли, возникающие в иммунодефицитных мышах, **гораздо более иммуногенны**, чем опухоли, возникшие у контрольных мышей. При трансплантации опухолей иммунодефицитных мышей реципиентам с функционирующей иммунной системой такие опухоли **легко отторгаются**, в то время как значительная часть опухолей мышей дикого типа **сохраняет способность к агрессивному росту**. Эти данные объясняются явлением иммунного надзора, при котором происходит отбор клонов опухолевых клеток, **не замечаемых иммунной системой**. Опухолевые клетки, развивающиеся у иммунодефицитных мышей, **не испытывают этого селективного давления**.

3. Цитокины в противоопухолевой терапии. Применение цитокинов

Применение иммуномодуляторных цитокинов в клинике может рассматриваться как один из вариантов **неспецифической иммунотерапии**. Доступность таких цитокинов, как ИЛ-2, позволила культивировать линии и клоны Т-клеток, в частности **цитотоксических Т-клеток**, узнающих опухолевые антигены. Другие цитокины, такие как ИЛ-4 и ГМ-КСФ, применяют для получения **дендритных клеток** из клеток костного мозга или крови. И те, и другие виды клеток используют в нескольких протоколах **адаптивной иммунотерапии**, при которых клетки после манипуляций *in vitro* переносят обратно в организм пациента. Кроме того, в протоколах терапии опухолей используют цитокины, способствующие **дифференцировке и активации дендритных клеток**.

При этом оказалось, что в большинстве случаев предклинические испытания цитокинов, проведенные на животных, **не позволяют пра-**

вильно предсказать клинические результаты. Те цитокины, которые имеют выраженное противоопухолевое действие на мышах (даже при однократном системном применении), не дают ожидаемых терапевтических эффектов у пациентов (в нетоксических дозах). Основная проблема, по видимому, кроется в **плейотропности действия** многих цитокинов, в связи с чем при их системном применении затрагиваются не только те компартменты, в которых повышенная концентрация данного цитокина может дать терапевтический эффект, но и те, где **эффект может быть негативным**. Такие негативные эффекты усиливаются вследствие взаимосвязанности биосинтеза многих цитокинов (на уровне экспрессии генов самих цитокинов или их рецепторов), что может приводить к нежелательным последствиям. На уровне организма негативные эффекты цитокинов проявляются в **системной токсичности**, которая была отмечена для большинства цитокинов на первых же стадиях клинических испытаний, что во многих случаях **не позволило достичь терапевтических доз**. Системное (внутривенное) применение цитокинов последней группы сопряжено со значительной токсичностью, широко не используется и **вряд ли будет применяться** в качестве единственного агента, однако некоторые варианты комбинированной терапии с использованием цитокинов по-прежнему проходят клинические испытания. Так, ИЛ-2 в малых дозах является компонентом некоторых схем **иммунотерапии**, в том числе с использованием адаптивного переноса специфических Т-клеток. Комбинация ФНО, ИФН-гамма и химиотерапии успешно применяется для лечения опухолей конечностей при введении препаратов методом перфузии.

Следует иметь в виду, что цитокинотерапия совершенно **не обязательно направлена непосредственно на опухолевые клетки**: во многих случаях противоопухолевый эффект связан с прямым или опосредованным действием на **сосуды, питающие опухоль**.

Нетоксичными и относительно эффективными оказались **интерфероны типа 1** при лечении волосатоклеточного лейкоза, карциномы мочевого пузыря, саркомы Капоши и в меньшей степени рака почки и ряда других онкологических заболеваний. С точки зрения онкологических больных, получивших положительный эффект от цитокинотерапии, лучшими оказались препараты **Г-КСФ и эритропоэтина**. Эти два цитокина не оказывают прямого противоопухолевого действия, и их эффект связан с **восстановлением нормального уровня нейтрофилов и эритроцитов** соответственно в ходе курсов лекарственной терапии. Применение этих цитокинов позволило **повысить агрессивность и эффективность курсов химиотерапии и уменьшить количество нежелательных побочных эффектов**, таких как анемия и нейтропения. Неожиданным побочным эффектом развития цитокинотерапии явилось их применение в **спортивной медицине**, где некоторые препараты цитокинов (например, эритропоэтин) квалифицированы как допинг.

Из цитокинов, имеющих прямой противоопухолевый эффект, перспективным остается и **аналог ФНО TRAIL/AP0-2L**, поскольку сведения о его токсичности в отношении нормальных гепатоцитов не подтвердились. В стадии клинических испытаний находится еще ряд комбинированных протоколов с применением цитокинов.

К другим возможностям применения цитокинов в онкологической клинике относятся более сложные попытки использовать **иммунизацию пациентов собственными опухолевыми клетками**, которые были трансфицированы конструкциями для экспрессии некоторых цитокинов (ИЛ-2, ГМ-КСФ и некоторых других). В этом случае цитокины могут усиливать специфический иммунный ответ.

Вопросы для самоконтроля:

- 1. Расскажите о цитокинах и об их роле в клетке.*
- 2. Перечислите элементы классификации цитокинов. Расскажите о рецепторах со встроенными киназами, рецепторах, рекрутирующих JAK и рецепторах для хемокинов.*
- 3. Расскажите о семействе рецепторов ФНО.*
- 4. Опишите механизм взаимодействия цитокинов и опухолевых клеток.*
- 5. Расскажите о способах применения цитокинов в противоопухолевой терапии.*
- 6. Отрицательные эффекты при использовании цитокинов в противоопухолевой терапии.*

ИНСТРУКТИВНЫЙ АПОПТОЗ – МЕХАНИЗМ АКТИВАЦИИ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ

1. *Общая характеристика «рецепторов смерти»*
2. *Каспазы*
3. *Рецепторы смерти*
4. *Запуск механизма клеточной гибели и защита от него*
5. *Роль инструктивного апоптоза*

1. Общая характеристика «рецепторов смерти»

Способность запускать **самоликвидацию**, или **апоптоз**, является **неотъемлемым свойством клеток высших эукариот**. При этом виде клеточной гибели клетка разрушается вследствие **коллапса внутриклеточных структур, но без разрыва клеточной мембраны**. У клеток млекопитающих существует несколько программ, запускающих клеточную гибель: в ответ на повреждения ДНК, в ответ на отсутствие факторов роста, а также в ответ на активный сигнал смерти, передаваемый секретиремыми или мембраносвязанными цитокинами. Именно последний вид клеточной гибели, называемый **инструктивным апоптозом** и передаваемый так называемыми **рецепторами смерти**.

Первый «рецептор смерти» был охарактеризован в **1989 г.** в двух независимых исследованиях, в ходе которых моноклональные антитела к неизвестной мембраносвязанной молекуле, названной **Аро-1**, или **Fas**, вызывали **программируемую клеточную смерть**. Поскольку ФНО (фактор некроза опухолей) вызывал цитотоксический эффект *in vitro*, а его рецепторы еще не были известны, то первоначально предполагалось, что эффект обусловлен одним из рецепторов ФНО. Однако последующая очистка и клонирование Аро-1/Fas выявили рецептор с молекулярной массой около 45 кДа, который не связывал ни ФНО, ни родственный ему лимфотоксин (ЛТ). Практически одновременно был клонирован **истинный** (первый из двух) **рецептор p55 ФНО**, причем последующий тщательный анализ позволил выявить **гомологичные домены** в цитоплазматических участках p55 и Аро-1/ Fas, мутации в которых **устраняли способность обоих рецепторов вызывать апоптоз** в ответ на ФНО или антитела к Аро-1/Fas. Этот белковый домен, длиной около 80 аминокислотных остатков, был назван «**доменом смерти**».

Дальнейшие исследования и компьютерный анализ установили существование семейства, включающего в себя около **20 генов**, имеющих гомологии с p55 и Аро-1/Fas. Семейство, кодируемое этими генами, называют **суперсемейством рецепторов ФНО**, в то время как p55 и Аро-1/Fas/CD95, а также еще 4 мембранных белка составляют **подсемейство**, которое характеризуется наличием во **внутриклеточной части рецепто-**

ров домена смерти. Эту подгруппу рецепторов и называют **рецепторами смерти.**

Первыми идентифицированными цитокинами, способными вызывать клеточную гибель, опосредованную рецепторами смерти, **оказались ФНО и ЛТ-альфа.** Основная форма ФНО – **секретируемая,** отчасти, поэтому он гораздо лучше изучен.

ФНО – плейотропный цитокин с множеством специфических функций в иммунорегуляции и врожденном иммунитете. Другая форма биологически активного ФНО – **мембраносвязанная** – находится на поверхности клетки-продуцента. В этом случае для передачи сигнала через рецептор нужен **контакт с клеткой-мишенью.** Аналогично суперсемейству рецепторов ФНО, ЛТ и некоторые другие молекулы составляют **суперсемейство ФНО-подобных лигандов,** причем большую их часть представляют собой **мембраносвязанные молекулы.** Одной из молекул этого суперсемейства и оказался природный лиганд (цитокин) для Apo-1/Fas/CD95, который принято называть **FasL** (или Apo-1 L/CD95L). Биологическое значение этого мембраносвязанного цитокина было установлено с помощью мутантной линии мышей, отличающейся врожденным лимфо-пролиферативным нарушением (так называемые **gld мыши**). Аналогичная врожденная аномалия характеризует и **Ipr мышей,** у которых **инактивирован Fas.**

Позднее были выявлены лиганды и для **рецепторов DR4-DR5.** В обоих случаях им оказался **мембраносвязанный цитокин TRAIL/Apo-2L.** Недавно был определен лиганд для **DR3-УНТО-кин TL1A.** Лиганд для DR6 пока не определен. Кроме того, **TRAIL/Apo-2L** может связывать растворимые или мембраносвязанные рецепторы **DcR1** и **DcR1,** не способные передавать сигнал. Аналогичным образом **FasL/Apo-1L** и **TL1A** могут взаимодействовать с **DcR3** без передачи сигнала. Неактивные аналоги рецепторов могут играть роль **антагонистов сигнала клеточной гибели и защищать клетку от апоптоза.**

2. Каспазы

Каспазами называют особое семейство **субъединичных протеаз,** которые характеризуются **присутствием цистеинового остатка в активном центре,** а также тем, что они **расщепляют полипептидную цепь после остатка аспарагиновой кислоты.**

Каспазы синтезируются в виде **неактивных предшественников (зимогенов),** их активация происходит после **саморасщепления предшественника,** в результате чего образуются две **субъединицы активного фермента.** Полный фермент представляет собой **тетрамер** из двух видов субъединиц. Важно, что каскад расщеплений происходит только после то-

го, как молекулы предшественника входят в состав **многокомпонентного белкового комплекса**, который и создает необходимые стерические условия для самоактивации. При апоптозе активированные каспазы **протеолитически расщепляют** ряд существенных структурных компонентов клетки, **инактивируют ряд важных белков** и, наоборот, **активируют дополнительные компоненты апоптозного механизма** (например, специальную нуклеазу, которая приводит к быстрой деградации ядерной ДНК). Важно, что **эффекторная фаза** этого механизма перекрывается или даже совпадает с таковой для второго механизма апоптоза, включающего в себя активацию митохондрий, **высвобождение цитохрома С и активацию каспазы 9**.

Поскольку апоптоз – это эволюционно древний процесс, имеющий место уже у нематоды, то прародителем каспаз высших организмов можно считать **продукт гена ced3 из *C. elegans***, однако у нематоды есть только один механизм апоптоза и отсутствует индуктивный апоптоз, инициируемый рецепторами смерти. Неудивительно поэтому, что у человека и животных охарактеризовано уже **14 каспаз**, причем CED-3 аналогична каспазе 3. Эта каспаза наряду с каспазой 7 непосредственно **расщепляет субстраты апоптоза**, а ее активация является следствием активации дополнительных каспаз, таких как каспазы 8 и 9, иногда называемые **регуляторными или инициаторными каспазами**.

3. Рецепторы смерти

Отличительной чертой механизма передачи сигнала **рецепторами смерти** является использование особого класса **адаптерных молекул – FADD**, которые рекрутируются в рецепторный комплекс за счет гомотипических белок-белковых взаимодействий. Считается, что для передачи сигнала рецепторы семейства ФНО должны образовывать **димеры или тримеры**. Цитоплазматическая часть рецепторов смерти содержит **домены смерти** – структурные блоки, склонные к **гомотипической олигомеризации**, поэтому адаптерные молекулы, содержащие такой домен, и вовлекаются в рецепторный комплекс. Первичные адаптеры помогают рекрутировать в комплекс дополнительные белки, но за счет гомотипических взаимодействий между другими доменами, такими как **DED-домены**.

Наиболее полно изучен механизм передачи сигнала клеточной гибели через **Apo-1/Fas/CD95**. В этом случае рецептор использует всего один тип адаптерных молекул – **FADD**. Второй функциональный домен этой молекулы – **DED** – за счет дополнительных гомотипических взаимодействий непосредственно рекрутирует в рецепторный комплекс предшественник одного из **главных триггеров апоптоза – регуляторную про-каспазу 8**. Самоактивация прокаспазы 8 происходит без каких-либо до-

полнительных ферментативных активностей – лишь вследствие ее вовлечения в высокомолекулярный комплекс и создания **оптимального стерического контекста**. В этом и состоит удивительная простота этого механизма запуска клеточной гибели. На следующих этапах происходит **активация каспаз 3 и 7**, а затем и **субстратов апоптоза**.

Аналогичный механизм действует при активации двух других рецепторов – **DR4 и DR5** (под действием лиганда **TRAIL/Apo-2L**). В этих случаях также используется единственный вид **адаптерного белка FADD**, в результате чего в комплекс вовлекается все та же **прокаспаза 8**.

Сходный, но несколько более сложный механизм установлен для **рецепторов TNFRp55** (активируемый ФНО и ЛТ-альфа) и **DR3** (истинный лиганд для этого рецептора окончательно не выявлен). В обоих случаях первичным адаптером, связывающимся с доменами смерти во внутриклеточной части рецепторов, является **молекула TRADD**, а вторичной адаптерной молекулой, которая вовлекается в комплекс вслед за TRADD, является **FADD** (по-видимому, в олигомерном виде). Затем в этот комплекс привлекается **прокаспаза 8**, хотя происходит ли этот процесс на рецепторе, остается пока неясным.

Такое распределение ролей между адаптерными молекулами внутри всего семейства рецепторов смерти позволяет определить **белок FADD как универсальный адаптер инструктивного апоптоза**, а **каспазу 8 – как универсальный триггер инструктивного апоптоза**.

4. Запуск механизма клеточной гибели и защита от него

Считается, что сборка активного инициаторного комплекса происходит за секунды после агрегации рецепторов под действием лигандов или антител-агонистов. Такой комплекс, называемый **DISC**, включает не только **внутриклеточные домены смерти** соответствующих рецепторов и перечисленные ранее **адаптерные молекулы и прокаспазу 8**, но также целый ряд дополнительных факторов, функциональная роль которых не полностью определена. Поскольку основные компоненты комплекса не ассоциированы с рецептором до его взаимодействия с лигандом, такая быстрая сборка и готовность быстро включить сигнал клеточной гибели предполагают **особую компартиментализацию компонентов комплекса в цитоплазме**. Не исключено, что частично «предсобранный» комплекс адаптерных молекул и прокаспазы 8 находится в **неактивном состоянии** и не может связаться с одиночными молекулами рецептора, однако агрегация рецепторов **создает дополнительные поверхности для гомотипических взаимодействий**, и такой комплекс рекрутируется на агрегированный (тримеризованный) рецептор.

Исключительно быстрое образование **инициаторного комплекса (DISC)** и кажущаяся необратимость дальнейшего каскада реакций, приво-

дящих к расщеплению субстратов апоптоза, среди которых есть ключевые компоненты, обеспечивающие целостность клеточных структур, ставят вопрос о **механизмах контроля апоптоза**. Выяснилось, что несколько этапов в передаче сигнала клеточной гибели могут быть **заблокированы** в результате ассоциации **специализированных белковых ингибиторов с компонентами комплекса**. В совокупности эти ингибиторы предотвращают запуск апоптоза вследствие **случайной агрегации рецепторов**.

В случае **рецептора TNFR1** охарактеризованы **белки SODD**, которые ассоциированы с внутриклеточными доменами смерти неагрегированных рецепторов и, по-видимому, **стерически препятствуют их гомотипической агрегации**. После агрегации внеклеточных доменов рецепторов под действием либо цитокина, либо агонистических антител **белки SODD высвобождаются из комплекса** и открывают возможность для сборки инициаторного комплекса.

Охарактеризован **белок c-FLIP**, который рекрутируется в рецепторный комплекс за счет наличия DED-домена, **занимая позицию прокаспазы 8**. Тем самым **ингибируются самоактивация прокаспазы и формирование активной каспазы 8**, предотвращается запуск апоптоза.

Охарактеризовано **семейство c-IAP/XIAP-белков**, которые **связываются с каспазами и блокируют их процессинг/активацию**. Эти белки способны блокировать как инструктивный апоптоз, так и процессы самоликвидации клеток, запускаемые с участием митохондрий.

5. Роль инструктивного апоптоза

Роль описанных выше компонентов механизма клеточной гибели в контексте целого организма была установлена в трех типах экспериментов. Во-первых, были известны **мутантные линии мышей** с аномалиями, обусловленными генетическими дефектами в генах, кодирующих компоненты инструктивного апоптоза, например **Ipr** и **gld**. Во-вторых, аналогичные наблюдения были сделаны для пациентов с **различными генетическими заболеваниями**, например с врожденным лимфопролиферативным синдромом, связанным с **делецией в гене fas/apol**. И наконец, главную роль сыграли исследования с применением **техники генетического нокаута для мышей**; в этом случае удалось изучить и роль генов, мутации по которым детально.

Fas экспрессируется на поверхности Т-клеток и играет активную роль в **селекции Т-клеток в тимусе**. Fas-L экспрессируется в иммунопривилегированных органах (например, в глазах) и является частью механизма, устраняющего Т-клетки и делающего такие органы **незаметными** для иммунной системы. Вместе с тем Т-клетки могут экспрессировать и лиганд, и рецептор апоптоза, причем считается, что Fas-L может отщепляться и действовать на соседние клетки. Тем не менее, массового само-

убийства Т-клеток не происходит, потому что этот процесс **активно блокируется внутриклеточными ингибиторами** на одной из стадий передачи сигнала.

Интересно, что в некоторых случаях опухолевые клетки **экспрессируют Fas-L** и потенциально могут элиминировать цитолитические Т-клетки, вошедшие с ними в контакт. Общая значимость этого механизма, который может рассматриваться как один из примеров уклонения опухолевых клеток от надзора со стороны иммунной системы, пока однозначно не установлена. Другим механизмом, используемым опухолевыми клетками для блокирования своей гибели, является **экспрессия с-FLIP**, причем в ходе развития опухоли в иммунокомпетентном хозяине происходит отбор опухолевых клеток с повышенным содержанием с-FLIP.

Один из факторов инструктивного апоптоза – **ФНО** – был открыт как цитокин с противоопухолевым действием и в течение долгого времени рассматривался как **перспективный препарат для онкологической клиники**. Информация, приведенная здесь, позволяет понять, почему системное применение ФНО в качестве единственного терапевтического агента не имеет перспективы. Во-первых, **опухолевые клетки не имеют избирательности на уровне экспрессии рецепторов ФНО**: первоначальные сообщения о том, что только линии опухолевых клеток чувствительны к ФНО, следует считать ошибочными. Во-вторых, **рецептор TNFR1**, экспрессирующийся в больших количествах практически на всех клетках, **передает не только сигнал апоптоза, но и активационный сигнал**, связанный с активацией транскрипционных факторов и опосредованный молекулами RIP и TRAF2. Этот активационный сигнал в зависимости от типа и статуса клетки может способствовать активации, пролиферации или дифференцировке, а также защите клетки от апоптоза. Таким образом, **побочные эффекты от системного применения ФНО неизбежны** (в частности, эффекты, связанные с провоспалительной активностью ФНО), а результаты, полученные на нокаутных мышах, позволяют предположить, что **в контексте целого организма ФНО скорее способствует, чем препятствует возникновению некоторых видов опухолей**.

Из индукторов апоптоза достаточно привлекательным остается **рекомбинантный TRAIL/Apo2-L**, поскольку его предклинические испытания (в том числе на обезьянах) **не обнаружили системной токсичности**. Имеются указания на то, что опухолевые клетки экспрессируют гораздо больше рецепторов **DR4-DR5**, чем нормальные клетки. Вместе с тем окончательно не установлен относительный вклад прямого воздействия TRAIL/Apo2-L на опухолевые клетки и влияния на противоопухолевый эффект других видов клеток.

Таким образом, механизмы избирательности действия лигандов инструктивного апоптоза на опухолевые клетки, которые могут определяться статусом других компонентов цепочки передачи сигнала, представляют

большой теоретический и практический интерес и требуют дальнейшего изучения.

Вопросы для самоконтроля:

1. Дайте общую характеристику и охарактеризуйте «рецепторы смерти».
2. Опишите ключевой цитокин ФНО.
3. Расскажите о каспадах.
4. Расскажите о «рецепторах смерти».
5. Охарактеризуйте запуск механизма клеточной гибели и способы защиты от него.
6. Расскажите о роле индуктивного апоптоза, в том числе и в лечении раковых заболеваний.

ЛЕКЦИЯ 11

РОЛЬ ТЕЛОМЕРАЗЫ В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ

1. Открытие теломер и теломеразы
2. Структура теломер
3. Теломеризация клеток
4. Процесс иммортализации клеток человека

1. Теломераза и тонкая структура теломер

Более 100 лет назад, сразу после возникновения методов длительного культивирования клеток, появились работы, авторы которых пытались ответить на вопрос о том, обладают ли клетки многоклеточного организма бесконечным пролиферативным потенциалом. Среди множества работ

можно выделить две, убедительно показавшие, что соматические клетки могут быть практически бессмертными. Каррель и его сотрудники культивировали фибробласты из сердца куриного эмбриона в течение 34 лет. За это время клетки прошли многие тысячи делений, не претерпевая существенных изменений в скорости роста и морфологии. Другая, длительно проводившаяся работа начала XX в. состояла в том, что клетки асцитной опухоли культивировали в перитонеальных полостях крыс в течение многих лет. Расчеты авторов показывают, что все клетки этой асцитной опухоли могли бы заполнить пространство от Солнца до Полярной звезды. Таким образом, с начала XX в. господствовало мнение, что клетки многоклеточных организмов иммортальны, т.е. способны к бесконечно долгой пролиферации.

После появления работ Хейфлика все клеточные культуры можно было разделить на две группы: с ограниченным пролиферативным потенциалом (смертные или мортальные) и иммортальные.

Помимо ограничения пролиферативного потенциала, опыты Хейфлика показали, что в ряде клеток существует некий **счетчик, ограничивающий общее количество делений, отпущенных данной клетке.** После того как в общих чертах стали ясны механизмы синтеза ДНК, появилась гипотеза, предлагающая механизм работы такого счетчика. В 1971 г. А. М. Оловников предложил принцип **маргинотомии** в матричном синтезе полинуклеотидов, который заключается в том, что **ДНК-полимераза не в состоянии полностью реплицировать линейную матрицу, реплика получается всегда короче в начальной ее части. Постепенное укорачивание ДНК (недорепликация) ограничивает пролиферативный потенциал клеток и может служить основой «счетчика» клеточных делений в опытах Хейфлика.**

Гипотеза Оловникова оставалась умозрительной, пока в 1985 г. Грейдер и Блекборн не обнаружили **теломеразу.** Выяснилось, что **концы линейных хромосом простейшего *Tetrahymena* образованы короткой, тандемно повторяющейся последовательностью ДНК, которую синтезирует специальная полимеразы (теломеразы), имеющая постоянно ассоциированную с ней РНК-матрицу.**

Теломеразы являются рибонуклеиновыми ферментами. РНК-компонент теломеразы содержит короткий район (матрицу), комплементарный одному повтору (часто матрица бывает длиннее, чем один повтор) G-богатой цепи теломерной ДНК.

Механизм действия теломераз – это повторное копирование матрицы, включающее этап элонгации, когда дезоксирибонуклеотиды последовательно добавляются к 3'-концу G-богатой цепи теломеры и транслокации фермента на конец новообразованной цепи. В результате действия теломеразы образуется достаточно длинный 3'-конец, по которому затем достраивается комплементарная цепь.

Теломеразы обнаружены в большинстве исследованных видов эукариот, имеющих линейные хромосомы. Оказалось, что теломеры подавляющего большинства эукариотических хромосом образованы монотонно повторяющимися короткими последовательностями ДНК, которые синтезируются при участии теломераз.

2. Структура теломер

Подавляющее большинство изученных на сегодня хромосом имеют **на конце многократно повторяющуюся монотонную последовательность**. Это так называемый **теломерный повтор**. Субъединицей повтора обычно бывает последовательность длиной **от 5 до 8 нуклеотидов**. Непосредственно к теломерной последовательности (в хромосомах человека) примыкают похожие на нее повторы, которые в своем большинстве имеют **однонуклеотидные замены** (по сравнению с теломерным повтором). В субтеломерной области имеются и повторы другого рода (по 61, 29, 37, 63, 75 и т.п.) нуклеотидов. **Субтеломерные повторы** в отличие от теломерного обычно варьируют от хромосомы к хромосоме и бывают **хромосомоспецифичными**.

Хромосомы всех позвоночных оканчиваются последовательностью TTAGGG, повторенной сотни и тысячи раз.

У многих видов теломерные последовательности встречаются не только на концах хромосом, но могут быть расположены и **во внутренних областях хромосомы**. Хотя обычно внутренние теломерные повторы локализованы в **перицентромерных областях**, в некоторых случаях они локализуются в областях **ядрышкового организатора** или около него. Происхождение и функции внутренних повторов не ясны. Наиболее распространено мнение, что их появление связано с хромосомными перестройками и поэтому отражает эволюцию кариотипа.

Особый интерес в структуре теломер представляет их самая **дистальная часть**. Двойная спираль ДНК не доходит до самого конца, 5'-цепь обрывается и остается одноцепочечный G-богатый участок. Это свойственно **всем теломерам**, содержащим теломерные повторы, начиная от простейших и до человека. Длина одноцепочечного 3'-конца варьирует от 10-16 нуклеотидов у простейших до нескольких сотен нуклеотидов у человека. Стоит отметить, что свободный 3'-конец имеется как в клетках с функционирующей теломеразой, так и без нее, поэтому его наличие **невозможно объяснить деятельностью теломеразы**.

Наличие одноцепочечного фрагмента на каждой теломере означает, что его формирование идет **путем дегградации 5'-конца**. Совсем недавно показано: длина одноцепочечного участка коррелирует со скоростью недорепликации, что свидетельствует в пользу того, что **деградация 5'-**

конца не вносит заметного вклада в укорачивание теломер. И наконец, показано, что длина 3'-конца может меняться в процессе развития у растений: его длина различна в разных тканях.

Конформация одноцепочечного 3'-конца привлекает внимание исследователей исходя из термодинамических особенностей последовательности, содержащей **повторяющиеся кластеры GGG**. Расчеты показывают, что такая последовательность может легко образовывать **неканонические структуры (триплексы, квадруплексы)**. На основании анализа вероятности появления ковалентных сшивок между нитями ДНК была создана модель **теломерных петель**. По этой модели свободный 3'-конец в комплексе с белками вступает во взаимодействие с двойной спиралью теломерной ДНК и вытесняет одну из цепей (образуется тройной комплекс цепей ДНК). **Вытесненная цепь образует D-loop, а сама теломера при этом образует теломерную петлю (t-loop).**

Одноцепочечная G-богатая теломерная последовательность способна образовывать **внутрицепочечные и межмолекулярные квадруплексы**. До сих пор нет прямых свидетельств существования квадруплексов *in vivo*, однако разнообразные соединения, взаимодействующие с квадруплексами *in vitro*, подавляют теломеразную активность, в том числе и в клетках. Найдено множество белков, специфически взаимодействующих с G- и C- богатыми цепями теломерной ДНК. Обнаружен **фермент гиразы, специфически разрушающий квадруплексы**. Мутации этой гиразы вызывают синдром Блюма, характеризующийся целым спектром изменений, начиная от специфических хромосомных перестроек и заканчивая внешним видом больных. Существование таких белков доказывает, что **ДНК в теломерах может иметь самую необычную конформацию, и эта конформация существенным образом влияет на функционирование всей клетки.**

3. Теломеризация клеток

В 1992 г. была предложена гипотеза **недорепарации теломер** как возможного **источника их укорачивания**. Суть гипотезы в том, что повреждения, возникающие близко к концу хромосомы, **хуже репарируются**.

Показано, что в условиях гипероксии диплоидные фибробласты человека теряют около 500 последовательностей нуклеотидов теломерного повтора за деление, что не может быть объяснено недорепликацией.

Таким образом, можно утверждать, что **определенная часть случаев пролиферативного старения клеток в культуре не связана с недорепликацией теломер.**

Можно считать установленным, что **репрессия теломеразы ответственна за старение клеток человека в культуре (предел Хейфлика**

около 50 делений). В процессе пролиферации в опытах Хейфлика клетки значительно изменяются как морфологически, так и биохимически. Получены данные, свидетельствующие о том, что похожие изменения клеток происходят *in vivo*, поэтому старение клеток в культуре можно рассматривать как процесс **дифференцировки**. В этом случае репрессия теломеразы – это механизм развития, при котором информация о пройденных клеточных циклах записывается на ДНК.

Регуляция теломеразы человека, видимо, **определяется ее белковой частью**, но не РНК-компонентом; у мышей скорее всего имеет место обратная закономерность.

Поскольку **примерно 85 % опухолей человека обладают теломеразной активностью**, можно утверждать, что **реактивация теломеразы участвует в онкогенезе**. Следовательно, **увеличение надежности репрессии теломеразы должно резко уменьшать вероятность развития опухоли**. Можно предположить, что **особенности регуляции теломеразы у человека связаны с тем, что репрессия теломеразы является защитой от опухолей**.

Эпидемиологическая статистика позволила рассчитать, что в среднем для **превращения нормальной клетки в опухолевую требуется от 3 до 7 независимых случайных событий**. Значит, при развитии опухоли происходит несколько этапов клонирования. Процесс развития опухоли в среднем включает от 3 до 7 мутаций.

Если принять, что на одну мутацию приходится 20 генераций, то для образования опухоли требуется около 80 генераций. Если считать, что в среднем частота мутаций 1 на 10^6 клеток, то каждое такое событие потребует примерно 20 генераций ($2^{20} \sim 10^6$). Значит, для образования опухоли потребуется в среднем от 60 до 140 генераций. Как видно, **ограничения в 50 удвоений вполне достаточно для остановки роста большинства опухолей на еще не диагностируемых стадиях**. Кроме того, мнение о том, что клетка организма способна в среднем на 50 делений, сомнительно, поскольку к такому количеству делений способна только малая доля клеток.

В конце 1997 г. удалось реконструировать теломеразную активность в лизате клеток. Оказалось, что для этого достаточно присутствия двух компонентов: **каталитического компонента теломеразы (TERT) и РНК-компонента (TERC)**. Следующим шагом было введение TERT в клетки человека. Введенная теломераза обладает способностью **поддерживать длину теломер** – пролиферация клеток перестает угасать со временем и, по всей видимости, клетки становятся иммортальными.

В результате теломеризации клетки не приобретают никаких признаков злокачественной трансформации, а кариотип клеток остается стабильным, как в культурах диплоидных фибробластов человека.

4. Процесс иммортализации клеток человека

Для объяснения процессов иммортализации клеток человека была предложена **M1-M2 гипотеза**.

Согласно этой гипотезе, для **иммортализации клеткам необходимо преодолеть два различных механизма, ограничивающих пролиферацию**. Первый механизм (M1) включается, когда длина теломер достигает некоего минимума. Именно M1 ответствен за старение клеток в культуре (**предел Хейфлика**).

Белки различных опухолевых ДНК-содержащих вирусов способны увеличивать пролиферативный потенциал клеток человека и тем самым обходить (отменять) M1. Этими свойствами обладают T-антиген SV40, антигены E6/E7 вируса папилломы человека типа 16, антигены E1a/E1b аденовируса типа 5.

Различными способами показано, что в реализации M1 участвуют **белки p53 и pRb или pRb-подобная активность**. В эпителиальных клетках человека M1 менее надежен, чем в фибробластах – в его реализации не участвует pRb. Пролиферативный блок при M1 опосредуется факторами типа p21, которые подавляют активность комплексов циклин/cdK.

Обход (отмена) M1 позволяет клеткам пролиферировать дополнительное время (для фибробластов человека – около 30-40 удвоений популяции), пока второй механизм (M2) не вызовет **состояние кризиса**. Кризис характеризуется **процессом пролиферации, сопровождающимся массовой гибелью клеток**. При этом размер популяции какое-то время может быть стабильным. С низкой вероятностью после кризиса могут возникнуть иммортальные клетки. Полагают, что **кризис вызывается чрезмерным укорачиванием теломер, приводящим к их физическому исчезновению**. В большинстве случаев единственным путем выхода из кризиса является **реактивация теломеразы**.

В нормальных нетрансформированных фибробластах человека спонтанная реактивация теломеразы (иммортализация) настолько редка, что ее невозможно воспроизвести в эксперименте. Столь низкая вероятность указывает на то, что, скорее всего **реактивация теломеразы требует как минимум двух мутационных событий**.

Возможной причиной увеличения вероятности реактивации теломеразы при чрезмерном укорачивании теломер является **резкое увеличение генетической нестабильности хромосом с короткими теломерами**.

Можно предположить, что в большинстве случаев первым шагом при канцерогенезе являются **не реактивация теломеразы, но другие события, позволяющие клетке получить селективное преимущество в росте и отменить механизмы старения**.

При этом около 5 % опухолей человека имеют независимый от теломеразы механизм поддержания длины теломер. Этот механизм называют **альтернативным (ALT)**. Полагают, что основу ALT составляют **гомологичная рекомбинация и генная конверсия**. В клетках, обладающих ALT, часто обнаруживают специализированные образования, которые называют **PML-тельцами**. В состав этих телец входят куски теломерной ДНК, специфически связывающиеся с теломерным повтором белки (обычно TRF1 и TRF2) и белки, связанные с рекомбинацией и репликацией.

Клетки, имеющие ALT, характеризуются **очень гетерогенными теломерами**. Длина теломер может превышать 50000 последовательностей нуклеотидов. При этом в клетке могут находиться и относительно короткие теломеры. Искусственное введение гена теломеразы в клетки с ALT приводит к **одновременному функционированию в них двух механизмов поддержания теломер**.

Одним из возможных механизмов поддержания длины теломер может быть **рекомбинация теломер с эписомами**, содержащими теломерный повтор. В случае заражения лимфоидных клеток человека вирусом Эпштейна-Барр наблюдают **персистенцию большого числа мини-хромосом, содержащих теломерный повтор**. Пролиферативный потенциал клеток при этом возрастает до **150 удвоений популяции**, что в обычных условиях воспринимается экспериментатором как **иммортализация**.

Вопросы для самоконтроля:

- 1. Расскажите об открытии теломер и развития исследований в этой области.*
- 2. Расскажите о теломерных повторах.*
- 3. Расскажите о тонкой структуре теломер.*
- 4. Опишите особенности теломеризации клеток.*
- 5. Расскажите о двух гипотезах иммортализации клеток.*
- 6. Опишите особенности и механизм иммортализации клеток.*

ЛЕКЦИЯ 12

ТЕЛОМЕРЕЗА, ТЕЛОМЕРЫ И ЛЕЧЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ

- 1. Значение теломеразы в диагностики опухолей*
- 2. Подавление теломеразы как метод лечения опухолей*
- 3. Воздействия на опухоль, опосредованные теломеразой и теломерами*
- 4. Воздействие на экспрессию генов теломеразы*

1. Значение теломеразы в диагностики опухолей

Прежде всего следует отметить, что наличие теломеразной активности может являться **важным диагностическим признаком**. Из 100 исследованных опухолей **6 не содержали теломеразной активности, 73 обладали низкой активностью, 21 – высокой**. Большинство опухолей с высокой теломеразной активностью имели **дополнительные генетические изменения**, которые отсутствовали в случаях со средней активностью.

Доля опухолей, обладающих теломеразной активностью, зависит от типа клеток. Например, теломеразной активностью обладают около 10 % анапластических астроцитов, 75 % глиобластом и 100 % олигодендроглиом, 93 % форм рака молочной железы, 80 % – рака легких. При мелко-клеточном раке легкого почти в 100 % случаев обнаруживается высокая теломеразная активность. Корреляция теломеразной активности со злокачественностью показана также при раке желудка и толстой кишки, раке

печени, опухолях предстательной железы, почек и кожи. Слабая теломеразная активность обнаружена при хроническом гепатите и циррозе печени.

Огромные усилия, потраченные на изучение теломеразной активности как раннего маркера опухолей, свидетельствуют, что **теломеразная активность не может являться самостоятельным признаком для диагностики ранних стадий канцерогенеза.**

В зависимости от происхождения опухоли теломеразная активность имеет **различное диагностическое значение.** Если для одних типов опухолей уровень теломеразной активности является показателем длительной эволюции опухолевых клеток и, следовательно, связан с плохим прогнозом, для других опухолей это не так.

При диагностике опухолей следует учитывать и тот факт, что теломеразная активность тесно связана с **уровнем пролиферативной активности клеток.** При переходе в пролиферативный покой теломеразная активность **падает.** Это накладывает ограничения на значение теломеразной активности как способа мониторинга за развитием опухоли в процессе лечения.

Отсутствие активности или слабая теломеразная активность являются **хорошими диагностическими признаками.** Вероятно, часть случаев спонтанного исчезновения опухолей связана с отсутствием в них теломеразной активности.

2. Подавление теломеразы как метод лечения опухолей

Как мы уже указывали выше, без активации теломеразы большинство опухолей не могло бы достигать стадий, опасных для здоровья. Можно поэтому полагать, что **подавление теломеразной активности,** начатое вовремя, могло бы помочь большинству онкологических больных.

Рассмотрим возможные последствия терапии рака ингибиторами теломеразы. Препараты, помимо опухоли, **должны влиять на половые и стволовые клетки.** У женщин такой препарат **не может повредить половым клеткам,** поскольку их пролиферация заканчивается в эмбриогенезе. У мужчин препарат **должен влиять на сперматогенез,** однако криоконсервация спермы поможет решить эту проблему. Последствия воздействия ингибиторов теломеразы на **стволовые клетки трудно прогнозировать.** С одной стороны, клетки с имеющейся теломеразой **способны восстанавливать свои теломеры** после отмены ингибиторов теломеразы. С другой стороны, известно, что стволовые клетки хотя и обладают теломеразной активностью, однако эта активность **компенсирует укорачивание теломер не полностью.** Деление стволовых клеток – относительно редкое событие, поэтому ограниченное во времени лечение **не должно серьезно сказаться на стволовых клетках.**

Можно ожидать, что лечение ингибиторами теломеразы вызовет уменьшение пролиферативного потенциала стволовых клеток, что может выразиться в их преждевременном старении.

В опухолевых клетках человека обычно **отсутствуют (не работают)** механизмы нормального пролиферативного старения. Действие ингибитора теломеразы вызовет укорачивание теломер, которое не будет индуцировать остановки пролиферации клеток.

Чрезвычайное укорачивание теломер приведет к потере теломерами функции защиты от теломерных слияний. Это вызовет множественные изменения кариотипа, что будет способствовать быстрому появлению устойчивых к предложенному методу лечения клеток.

Подавляющая масса клеток потеряет теломеры полностью (на отдельных хромосомах), что повлечет их гибель. В зависимости от устойчивости клеток к апоптозу будут наблюдаться различные **сочетания апоптоза и некроза**. Повышение генетической изменчивости клеток будет способствовать появлению как **резистентных к препарату клеток**, так и клеток, способных к **длительному переживанию в состоянии пролиферативного покоя**. Все это должно ограничить применение ингибиторов теломеразы.

Другим серьезным недостатком антителомеразной терапии является **относительно большой латентный период** от момента начала лечения до наступления эффекта. Постоянная экспрессия антисмысловой конструкции против РНК компонента теломеразы приводит к гибели клетки HeLa примерно через 25 удвоений популяции. Такая же процедура, проведенная с клетками злокачественной глиомы, приводит к частичной дифференцировке или апоптозу через 30 удвоений популяции.

3. Воздействия на опухоль, опосредованные теломеразой и теломерами

При функционировании теломеразы в клетке фрагменты теломеразной обратной транскриптазы экспонируются на клеточной поверхности и могут служить **мишенью иммунного ответа**. Выделен ряд пептидов, которые **связываются с антигенами главного комплекса гистосовместимости 1-го класса (HLA-A2.1)**, представленными на поверхности значительной доли Т- лимфоцитов. В модельных системах наблюдали значительное цитотоксическое действие. Эффективность и специфичность подобной процедуры пока не ясны.

Поскольку теломераза относится к обратным транскриптазам и характеризуется малой разборчивостью к субстратам (сравнительно с другими клеточными полимеразам), возможно применение различных модифицированных нуклеозидов с целью **терминировать теломеразный синтез**. Наиболее известны попытки подавить функцию теломеразы с по-

мощью **азидотимидина**. Еще предстоит выяснить, насколько эффективной может оказаться такая терапия. Основной проблемой является **токсичность нуклеозидов**, связанная с воздействием на митохондриальную полимеразу.

Олигонуклеотидные стратегии являются самыми **специфичными и малотоксичными**. Основная проблема – **доставка олигонуклеотидов в клетки**. Введение в клетки гена, кодирующего антисмысловую последовательность к РНК компоненту теломеразы, приводит к **подавлению теломеразной активности и к апоптозу большинства клеток**. Недостаток – **невозможность введения гена во все опухолевые клетки**.

Введение в клетки олигонуклеотидов, комплементарных матрице РНК компонента теломеразы, ведет к **подавлению теломеразной активности, укорачиванию теломер и апоптозу**. Применяют олигонуклеотиды с фосфоротиоатными связями, пептидные нуклеиновые кислоты, 2'-О-метил-РНК и 2'-метоксиэтокси-РНК. Эти соединения характеризуются повышенной устойчивостью к нуклеазам и повышенной специфичностью за счет повышения температуры плавления дуплексов. Для введения препаратов используют различные методы трансфекции и пероральное введение.

Специфическое разрушение РНК компонента теломеразы – олигодезоксирибонуклеотид с присоединенной к нему 2'-5' олигоаденилатной группой. После узнавания олигонуклеотидом своей мишени 2'-5'-олигоаденилат активирует эндогенные эндорибонуклеазы РНКазу L и РНКазу H, которые **атакуют однонитевую РНК мишень**.

Олигонуклеотид может быть соединен с рибозимом, обладающим **эндорибонуклеазной активностью** (так называемый молоткоголовый рибозим). После присоединения к мишени рибозим **разрушает ее**.

4. Воздействие на экспрессию генов теломеразы

Введение гена **доминантно-негативного мутанта теломеразной обратной транскриптазы** в экспериментах является наиболее эффективным способом **подавления теломеразы**. При введении такого гена его продукт **конкурирует** за РНК компонент теломеразы с нормальным геном. Происходит сборка дефектной теломеразы, что ведет к **подавлению теломеразной активности, укорачиванию теломер и индукции апоптоза**. Недостаток – невозможность введения гена во все опухолевые клетки.

До сих пор не найдено эффективных регуляторов экспрессии компонентов теломеразы и веществ, блокирующих сборку теломеразы. Поиски таких веществ являются, вероятно, самым перспективным направлением.

Воздействие на теломеры способно сделать их **малодоступными для теломеразы**. Препараты, стабилизирующие квадруплексы, обладают

антителомеразным действием, однако такие препараты **очень токсичны**. Возможна специфическая доставка таких препаратов в теломеры с помощью теломеразы. Если препарат, с одной стороны, будет субстратом теломеразы, а с другой – содержать группировку, стабилизирующую квадруплексы (например, порфирин), токсичность таких препаратов резко понизится.

Гипотетически рассматриваются возможности неспецифического повреждения теломер для избирательного подавления опухолевого роста. Поскольку теломеры репарируются хуже, чем любые другие области генома, а **опухолевые клетки в подавляющем большинстве содержат очень короткие теломеры по сравнению с окружающей их нормальной тканью**, то любой окислительный стресс вызовет **более скорую гибель опухолевых клеток**.

Поскольку реактивация теломеразы является наиболее **универсальной характеристикой опухолевых клеток**, измерение уровня теломеразной активности и подавление теломеразы может и должно применяться в **терапии опухолевых заболеваний**.

Подавление функции теломеразы в опухолевых клетках человека ведет к укорачиванию их теломер и **вызывает состояние кризиса, но не старения**. Явление кризиса сопровождается одновременно идущими процессами **гибели клеток и пролиферации**. Многократно возрастает генетическая изменчивость клеток, что вызывает быстрое появление **резистентных форм**. Для изучения действия ингибиторов теломеразы не подходят модели с использованием животных, поскольку у **человека особая регуляция теломеразы**.

Вопросы для самоконтроля:

- 1. Опишите значение теломеразы в диагностике опухолей.*
- 2. Расскажите об общих закономерностях подавления теломеразы как методе лечения опухолей.*
- 3. Расскажите о способах воздействия на опухоль, опосредованные теломеразой и теломерами.*
- 4. Расскажите о воздействии на экспрессию генов теломеразы в контексте лечения раковых заболеваний.*

ЛЕКЦИЯ 13

ЭПИГЕНЕЗ, РОЛЬ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК В КАРЦЕНОГЕНЕЗЕ

- 1. Роль метилирования ДНК в нормальных клетках. Роль деметилирования ДНК в нормальных клетках*
- 2. Нарушения метилирования ДНК при канцерогенезе*
- 3. Механизмы нарушения метилирования при канцерогенезе*

1. Роль метилирования и деметилирования ДНК в нормальных клетках.

Метилирование ДНК – процесс энзиматического присоединения метильной группы к основаниям в составе ДНК.

Не изменяя генетического кода, метилирование вмешивается в ДНК-белковые взаимодействия в хроматине, благодаря чему принимает участие в структурной и функциональной организации генома. Оно вовлечено в такие фундаментальные процессы жизнедеятельности клетки, как **регуляция экспрессии генов и поддержание целостности генома.** Нарушение метилирования в соматических клетках взрослого организма наблюдается при некоторых заболеваниях человека, в том числе и при злокачественных новообразованиях.

Метилирование не наследуется от родительских гамет, а устанавливается заново в процессе эмбриогенеза. Это многостадийный процесс, в ходе которого в результате волн метилирования и деметилирования, сменяющих друг друга в строго определенные моменты эмбриогенеза, достигается характерный для данного типа клеток **паттерн метилирования ДНК**, который затем **поддерживается неизменным при делении клеток взрослого организма.**

Различают два типа метилирования: метилирование *de novo* и поддерживающее метилирование.

Метилирование *de novo* осуществляется в эмбриогенезе в сайтах, содержащих CpG-динуклеотиды, которые **не метилированы** в обеих комплементарных цепях ДНК. **Поддерживающее** метилирование осуществляется только в тех сайтах вновь синтезированной цепи ДНК, где в родительской цепи уже **содержится CpG-динуклеотид с метилирован-**

ным остатком цитозина. Для клеток взрослого организма характерно только поддерживающее метилирование, что и обеспечивает сохранение относительно неизменным паттерна метилирования ДНК, присущего данному типу клеток, при их делении.

В ходе эволюции CpG-динуклеотиды прогрессивно элиминировались из генома, и сейчас содержание их составляет **от 5 до 10 %** расчетной величины встречаемости у человека и мыши. В геноме существуют короткие (от 500 до 3000 пар нуклеотидов) последовательности, где CpG-динуклеотиды распределены **кластерами**, плотность их близка к расчетной, а **содержание G+C превышает 60 %**. Такие последовательности получили название **CpG-островков**. В остальной части ДНК CpG-динуклеотиды распределены **равномерно и редко**. Большая часть CpG-островков расположена в **5' регуляторных районах генов**, и примерно половина генов человека и мыши имеет **CpG-островки**.

CpG-островки, ассоциированные с регуляторными зонами генов, **не метилированы во всех тканях эмбриона и взрослого организма, в том числе и в гаметах**, независимо от того, экспрессируются в них гены или нет. Это **неотъемлемое свойство CpG-островков – отсутствие метилирования** во всех тканях на всех стадиях развития, по-видимому, способствовало сохранению нормальной частоты встречаемости CpG-динуклеотидов в них благодаря **большей стабильности цитозина** по сравнению с 5-метилцитозином.

В отношении группы тканеспецифичных генов, лишенных CpG-островков, было высказано предположение, согласно которому они подвергаются **метилированию de novo** во время имплантации эмбриона. Затем во время дифференцировки CpG-сайты в их регуляторных зонах **деметилируются только в тех тканях, где они экспрессируются во взрослом организме**.

К числу последовательностей, которые обогащены по содержанию CpG-динуклеотидов, относятся также транспозоны, которые составляют **не менее 25 % генома человека**. Эти паразитические элементы метилированы во всех изученных сайтах генома взрослого организма. Многие транспозоны имеют сильные промоторы, способные поддерживать **эффективную транскрипцию**.

Таким образом, метилирование принимает участие в **регуляции экспрессии генов**, выполняя специфические функции, связанные с **аллельспецифической экспрессией** (импринтинг, инактивация X-хромосомы), подавлением экспрессии транспозонов и, возможно, тканеспецифичных генов, а также в случаях aberrантного метилирования CpG-островков при некоторых болезнях.

Метилирование подавляет экспрессию генов на уровне транскрипции. Существует по крайней мере два механизма, с помощью которых метилирование может препятствовать транскрипции.

Один из них обусловлен **неспособностью некоторых известных факторов транскрипции связываться с их сайтами узнавания, если они метилированы**. Само по себе наличие метилцитозина в ДНК не препятствует продвижению РНК-полимеразы, однако оно изменяет структуру хроматина, делая ее недоступной для формирования комплекса белков, инициирующих транскрипцию. Метилирование CpG-сайтов приводит к формированию **репрессирующего многокомпонентного белкового комплекса, который индуцирует деацетилирование гистонов**. Последнее в свою очередь определяет транскрипционно-неактивную структуру хроматина. Основой для формирования такого комплекса служат **метилцитозинсвязывающие белки**. Наиболее изученный из них **MeCP2** обладает способностью связываться только с метилированными CpG-динуклеотидами, локализуется в ядре в неактивном хроматине в комплексе с гистоновыми деацетилазами. Связываясь с метилированным участком ДНК, **MeCP2** через корепрессор взаимодействует с деацетилазами и **индуцирует подавление транскрипции путем деацетилирования гистонов и модификации структуры хроматина**.

Метилирование цитозинового остатка в ДНК осуществляется **ферментативным путем**. У млекопитающих, включая человека, известны четыре ДНК-(цитозин-5)-метилтрансферазы: **Dnmt1, Dnmt2, Dnmt3a и Dnmt3b**.

Dnmt1 является главным претендентом на роль фермента, осуществляющего **поддерживающее метилирование in vivo**. В делящихся клетках в культуре фермент **локализуется в фокусах репликации ДНК**, его активность возрастает во время синтеза ДНК. В эмбрионах, лишенных генов двух других ферментов (*dnmt3a* и *dnmt3b*), *Dnmt1* не способен осуществлять метилирование *de novo*. *In vitro* этот фермент способен катализировать как **поддерживающее метилирование, так и метилирование de novo**, обладая при этом более высоким сродством к полуметилированной, чем к полностью деметилированной, ДНК-матрице, однако удаление N-концевого домена фермента стимулирует его *de novo*-метилирующую активность. Возможно, что *in vivo* активность и специфичность фермента по отношению к ДНК-матрице регулируются взаимодействиями N-концевого домена с другими белками.

Функции Dnmt2 остаются пока не ясными, так как инактивация этого гена в клетках ES не изменяет ни того, ни другого вида метилирования.

Dnmt3a и Dnmt3b необходимы для метилирования de novo. Они экспрессируются на высоком уровне в эмбрионах и на очень низком уровне в соматических клетках взрослых особей. Инактивация этих генов в ES-клетках или в ранних эмбрионах **блокирует метилирование de novo**, но не влияет на поддерживающее метилирование введенных в клетки экзогенных метилированных последовательностей. По-видимому, эти

ферменты различаются по своим функциям, так как Dnmt3b необходима для метилирования центромерных минорных сателлитных повторов, а Dnmt3a – нет.

Роль деметилирования ДНК в нормальной клетке очень велика. Вскоре после оплодотворения большинство метилированных в гаметах CpG-сайтов подвергается деметилированию. Это деметилированное состояние ДНК сохраняется вплоть до имплантации эмбриона, когда большинство CpG-сайтов заново метилируются, за исключением тех, которые избегают метилирования в составе CpG-островков. Позднее в процессе дифференцировки происходит **локальное деметилирование индивидуальных генов.** В результате этих последовательных событий **70-80 % CpG-сайтов в геноме человека оказываются метилированными,** в том числе сайты, расположенные в многочисленных повторяющихся последовательностях и транспозонах.

Что касается механизма локального деметилирования, то для нескольких тканеспецифичных генов установлено, что этот процесс **контролируется специфическими нуклеотидными последовательностями,** так называемыми **цис-действующими элементами.** Например, в процессе дифференцировки В-лимфоцитов гены иммуноглобулинов **проходят ряд структурных перестроек.** Этот процесс называется **реаранжировкой V(D)J локуса иммуноглобулинов,** которая осуществляется путем **генетической рекомбинации V-, D- и J-фрагментов генов.** На определенной стадии развития В-клеток происходит специфическое деметилирование некоторых участков ДНК в этом локусе, которое контролируется несколькими **цис-действующими элементами,** расположенными в регуляторных зонах генов иммуноглобулинов. Эти элементы **узнаются специфическими транс-действующими белковыми факторами.** Так же как и в случае элемента SP1, принимающего участие в защите CpG-островков от метилирования, один из элементов, направляющих деметилирование, оказался **сайтом связывания транскрипционного фактора NF-κB.** Если искусственно удалить комплекс цис-действующих элементов, которые направляют деметилирование в этом локусе, **деметилирование не происходит, и перестройка оказывается невозможной.** Кроме того, было показано, что сам транскрипционный фактор необходим для процесса деметилирования. Таким образом, возможно, что одни и те же **цис-действующие элементы ДНК и транс-действующие белковые факторы** используются независимо и для транскрипции, и для локального деметилирования.

2. Нарушения метилирования ДНК при канцерогенезе

Ненормальный паттерн метилирования ДНК давно был известен как постоянно присутствующее, но малопонятное изменение в неоплазиях че-

ловека и животных. **Во всех без исключения исследованных неопластических клетках наблюдается дисбаланс метилирования.** Он выражается, с одной стороны, в широко распространенном по геному деметилировании нормально метилированных CpG-сайтов и, с другой – в локальном гиперметилировании CpG-островков ДНК.

Гиперметилирование CpG-островков. Наиболее широко распространенной является **инактивация путем гиперметилирования промоторного района гена ингибитора циклинзависимых киназ p16INK4A.** Функциональная потеря этого гена, участвующего в аресте клеточного цикла, является общей чертой многих типов опухолей. В последнее время во многих опухолях обнаружены **инактивация p16INK4A путем гиперметилирования в обоих аллелях** или сочетание **гиперметилирования одного аллеля с соматической мутацией в другом.** Для некоторых типов опухолей гиперметилирование является главным механизмом инактивации гена p16INK4A (для рака предстательной железы, толстой кишки, мочевого пузыря – **от 60 до 90 % случаев**).

Стало очевидным, что **аберрантное метилирование промоторного района является довольно распространенным механизмом инактивации генов в опухолях.** В общей сложности было исследовано около 100 опухолей и в каждой из них более 1000 случайно отобранных CpG-островков, ассоциация которых с конкретными генами не была известна. По числу гиперметилированных CpG-островков исследованные типы опухолей разделились на две группы с относительно **высокой и низкой частотой метилирования.** Возможно, что не все гиперметилированные CpG-островки из этого числа окажутся ассоциированными с генами, вовлеченными в канцерогенез, и не все приведут к подавлению транскрипции генов, но и в этом случае, очевидно, что **аберрантное метилирование 1-10 % CpG-островков в клетке должно приводить к фенотипической нестабильности.**

Причиной нестабильности микросателлитных повторов, характерной для этих опухолей, в **70-80 % случаев является гиперметилирование промотора гена hMLH1,** необходимого для репарации неспаренных участков ДНК. Кроме того, вновь возникшие метилированные CpG-сайты могут служить основой для образования **точечных мутаций.**

Онкологический аспект проблемы состоит в том, что **гиперметилирование G-C-богатых последовательностей приводит к возрастанию частоты мутаций.** Так, примерно из 300 мутаций гена p53, зарегистрированных в различных опухолях человека, 25-30 % относятся к мутациям описанного типа.

Аберрантное метилирование CpG-островков – это раннее событие в процессе возникновения опухоли. Например, гиперметилирование промоторного района гена **p16INK4A** при плоскоклеточном раке легкого было обнаружено уже в гиперплазиях. В некоторых случаях гипермети-

рование удается обнаружить на более ранних стадиях опухолевой прогрессии, чем потери гетерозиготности. Более того, оказалось, что и в нормальных клетках имеет место локальное гиперметилирование некоторых генов (эстрогеновый рецептор ER, MyoD, IGF2).

3. Механизмы нарушения метилирования при канцерогенезе

Относительно давно было замечено, что трансформированные и опухолевые клетки отличаются от нормальных **повышенным уровнем экспрессии и активности Dnmt1**, наиболее изученной из ДНК-метилтрансфераз. Таким образом, Dnmt1 вовлечена в процесс трансформации, а постоянная экспрессия фермента действительно приводит к **абберрантному метилированию CpG-островков**, но не глобальному, а **избирательному**. Очевидно, что одной несвоевременной экспрессией фермента невозможно объяснить активацию способности к метилированию de novo, которая существенно ограничена у него в нормальных клетках.

В нормальных клетках **активность Dnmt1 увеличивается с началом синтеза ДНК**. В связи с этим можно было предполагать, что активность фермента контролируется внутриклеточными путями, передающими **митогенные сигналы**. Введение в мышинные адренокортикальные опухолевые клетки VI экзогенного негативного регулятора **Ras (Gap)** приводило к существенному снижению уровня мРНК и активности Dnmt1, что сопровождалось **реверсией к нормальному фенотипу**. Введение в полученные таким образом ревертанты экзогенного **H-ras** восстанавливало трансформированный фенотип и **повышало уровень экспрессии мРНК и активности фермента**. В настоящее время на модельных системах разрабатываются способы применения ингибиторов Dnmt1, ограничивающих ее активность, для восстановления нормального фенотипа опухолевых клеток. Роль в канцерогенезе недавно открытых ДНК-метилтрансфераз Dnmt2, Dnmt3a и Dnmt3b остается неясной.

Можно заключить, что абберрантное метилирование – это эпигенетический механизм, который вносит свой вклад в процесс образования опухоли, подавляя экспрессию генов, т.е. создавая фенотипическую нестабильность в опухолевой клетке, а также в ряде случаев – основу для генетической нестабильности.

Гипометилирование ДНК при канцерогенезе. Одним из первых изменений метилирования, обнаруженных в неопластических клетках, было **снижение общего содержания метильных групп в ДНК**, которое наблюдалось, несмотря на присутствие в них гиперметилированных локальных зон. Прямые доказательства связи гипометилирования ДНК с неопластическим процессом были получены в экспериментах на грызунах, в которых с помощью специальных диет добивались истощения донора

метильных групп S-аденозилметионина. Такое истощение приводило к образованию **опухолей печени, которому предшествовало гипометилирование ДНК.**

Для нормальных клеток известно, что искусственно вызванное гипометилирование ДНК увеличивает частоту реаранжировок эндогенных ретровирусов и повторяющихся последовательностей, частоту образования делеций и транслокаций некоторых уникальных генов и является причиной хромосомных аномалий. Для опухолевых клеток пока отсутствуют экспериментальные данные, которые демонстрировали бы, что перечисленные нарушения, всегда присутствующие в них, являются прямым следствием гипометилирования ДНК.

В свете дестабилизирующей роли гипометилирования ДНК в нормальных клетках, однако, можно предполагать, что **гипометилирование вносит свой вклад в создание мутаторного фенотипа и в опухолевой клетке.** Другими словами, являясь эпигенетической модификацией ДНК, гипометилирование, по-видимому, может принимать участие в создании генетической нестабильности опухолевой клетки не только за счет повышения частоты точечных мутаций. Что касается механизма глобального деметилирования ДНК в неопластических клетках, то он остается пока неясным.

Вопросы для самоконтроля:

- 1. Расскажите о процессе метилирования ДНК.*
- 2. Что такое CpG-островки и какую функцию он выполняет.*
- 3. Опишите механизмы метилирования, которые могут препятствовать транскрипции.*
- 4. Расскажите о функционировании основных ДНК-метилтрансфераз.*
- 5. Опишите роль деметилирования ДНК.*
- 6. Расскажите о специфике нарушения метилирования ДНК при канцерогенезе.*
- 7. Какой механизм нарушения метилирования при канцерогенезе.*
- 8. Расскажите о гипометилировании ДНК при канцерогенезе.*

Практические занятия по «Молекулярной биологии раковой клетки» для магистрантов

Практическое занятие 1. Инициация опухолевых клеток

2

Практическое занятие 2. Главные опухолевые супрессоры: pRb, p53

Практическое занятие 3. Специфика онкогенеза рака молочной железы

Практическое занятие 4. Апоптоз как основной механизм программируемой клеточной гибели

Практическое занятие 5. Теломераза и теломеры в лечении опухолей

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 1 ИНИЦИАЦИЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Цель работы: изучить процесс инициации опухолевых клеток и базовые механизмы их возникновения.

Теоретическая часть

1. Канцерогенез / Под ред. Д.Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.: ил.
2. Основы молекулярной биологии клетки / Б. Альберте и др. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2018. – 768 с.
3. ЭУМК Молекулярная биология раковой клетки. Лекция 3.

Практическая часть

Задание 1. В тетради нарисуйте рисунок, на котором обозначен ряд важнейших свойств, приобретение которых предопределяет способность клетки образовывать злокачественную опухоль

Задание 2. В тетради оформите таблицу с основными свойствами, которые предопределяют развитие злокачественных клеток:

№	Свойство	Характеристика
1.	Самодостаточность в пролиферативных сигналах	...
2.
...

Задание 3. Нарисуйте рисунок 7 («Общая схема регуляции клеточного цикла») из ЭУМК «Молекулярная биология раковой клетки». На рисунке красным цветом обозначьте критические элементы, дисфункция которых вызывает нарушения регуляции клеточного цикла. Под рисунком укажите, к каким нарушениям приводит дисфункция отмеченных элементов.

Задание 4. Схематично обозначьте стадии «репликативного старения» и «генетической катастрофы», а также опишите свойство неопластической клетки, которое развивается в случае нарушения этих механизмов.

Задание 5. Нарисуйте рисунок 10 (Митохондриальный сигнальный путь апоптоза) из ЭУМК «Молекулярная биология раковой клетки». На рисунке разным цветом обозначьте митохондриальную и цитоплазматическую часть сигнального пути. Укажите основные элементы и под рисунком кратко охарактеризуйте их.

Контрольные вопросы

1. Перечислите характерные признаки опухолевой клетки.
2. Расскажите о следующих признаках раковых клеток: самодостаточность, устойчивость к ростоингибированию.
3. Иммуортализация, ослабление апоптоза, неоангиогенез.
4. Изменение морфологии, движение опухолевых клеток, метастазирование.
5. Нарушение дифференцировки, генетическая нестабильность.
6. Нарушение регуляции клеточного цикла в раковых клетках.
7. Механизм иммуортализации и движения раковых клеток.
8. Механизм нарушения апоптоза.
9. Причины генетической неустойчивости раковых клеток.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 2

ГЛАВНЫЕ ОПУХОЛЕВЫЕ СУПРЕССОРЫ: pRb, p53

Цель работы: изучить свойства, строение и функции основных опухолевых супрессоров pRb и p53.

Теоретическая часть

1. Канцерогенез / Под ред. Д.Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.: ил.
2. Основы молекулярной биологии клетки / Б. Альбертс и др. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2018. – 768 с.
3. ЭУМК Молекулярная биология раковой клетки. Лекция 5.

Практическая часть

Задание 1. В тетради составьте схему функционирования опухолевого супрессора pRb в нормальной клетки. На схеме разным цветом обозначьте главные элементы: pRb, E2F и т.д., а также их взаимодействие с циклином D, циклином E, A.

Задание 2. Составьте сравнительную таблицу с функциями pRb в нормальной клетке и нарушениями при канцерогенезе.

№	Функция в норме	При канцерогенезе
1
2
...

Задание 3. Кратко опишите структурную организацию белка p53 и нарисуйте рисунок активной формы тетрамера p53.

Задание 4. Нарисуйте различные конформационные состояния белка p53 («стрессовый», «латентный», «мутантный»). Укажите при каких обстоятельствах образуется соответствующая конформация.

Задание 5. В виде таблицы перечислите, к каким последствиям приводит нарушение функций p53.

№	Последствия нарушений функций p53
1	...
2	...
...	...

Контрольные вопросы

1. Что такое опухолевые супрессоры? Расскажите об открытии опухолевого супрессора pRb.
2. Расскажите о функциях pRb в клетке и их нарушениях при канцерогенезе.
3. Расскажите о структурной организации и биохимической активности белка p53.
4. Физиологические функции p53 и их нарушения в неопластических клетках.
5. Механизмы активации p53 при стрессах и внутриклеточных повреждениях.
6. Гены-мишени p53 и их функции.
7. Последствия нарушений функции p53.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРНИНЫ

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 3 СПЕЦИФИКА ОНКОГЕНЕЗА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Цель работы: изучить основы онкогенеза рака молочной железы.

Теоретическая часть

1. Канцерогенез / Под ред. Д.Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.: ил.
2. Наследственный рак молочной железы: генетическая и клиническая гетерогенность, молекулярная диагностика, хирургическая профилактика в группах риска / Л.Н. Любченко [и др.] // Успехи молекулярной онкологии. – М.: ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 2014. – № 2. – С. 16-25.
3. ЭУМК Молекулярная биология раковой клетки. Лекция 7.

Практическая часть

Задание 1. В тетради в виде таблицы перечислите синдромы, ассоциированные с наследственным раком молочной железы, с указанием вовлеченных генов и основных клинических проявлений:

Синдром	Вовлеченный ген	Клинические проявления
Ли-Фраумена	TP53, CHEK2	РМЖ, мягкотканые саркомы, остеосаркомы и т.д.
...
...

Задание 2. Перечислите основные факторы риска развития рака молочной железы. Запишите их в тетрадь.

Задание 3. Составьте схему строения и функционирования белка BRCA1. Укажите разным цветом: киназы, сайты фосфорелирования, взаимодействующие белки, комплексы белков.

Задание 4. Составьте схему строения и функционирования белка BRCA2. Аналогичным образом укажите разным цветом: сайты фосфорелирования, взаимодействующие белки.

Задание 5. Составьте таблицу с указаниями нарушений молекулярных механизмов, приводящих к развитию рака молочной железы:

№	Молекулярная система	Дисфункция элементов и возникающие последствия
1.	Система проведения сигналов от поврежденной ДНК	Мутация гена СНК2 и соответствующей киназы приводит к ухудшению эффективности сигнализации о повреждениях ДНК.
...
...

Задание 6. Запишите в тетради основные «сигналы тревоги», которые могут указывать на развитие рака молочной железы.

Контрольные вопросы

1. Расскажите о наследственных онкологических синдромах, связанных с раком молочной железы и вовлеченных в процесс генами.
2. Какие факторы риска способствуют развитию рака молочной железы.
3. Расскажите о молекулярной таксономии рака молочной железы.
4. Перечислите молекулярные механизмы и системы, связанные с раком молочной железы.
5. Расскажите о симптомах рака молочной железы и «сигналах тревоги».
6. Опишите методы диагностики рака молочной железы.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 4 АПОПТОЗ КАК ОСНОВНОЙ МЕХАНИЗМ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ

Цель работы: изучить апоптоз, как основной механизм программируемой клеточной гибели.

Теоретическая часть

1. Канцерогенез / Под ред. Д.Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.: ил.
2. Основы молекулярной биологии клетки / Б. Альберте и др. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2018. – 768 с.
3. ЭУМК Молекулярная биология раковой клетки. Лекция 10.

Практическая часть

Задание 1. В тетради дайте общую характеристику «рецепторам смерти». Подробно опишите фактор некроза опухоли.

Задание 2. Запишите основные свойства, характеризующие каспазы, а также особенности их строения.

Задание 3. Нарисуйте схему механизма передачи сигналов клеточной гибели через «рецепторы смерти» Apo-I/Fas/CD95.

Задание 4. Составьте таблицу, в которой будут указаны основные свойства эффекторов белков, участвующих в запуске механизма клеточной гибели и защиты от него.

№	Название белка (семейства)	Функция
1	c-FLIP	Ингибирует самоактивацию прокаспазы и формирование активной каспазы 8, предотвращается запуск апоптоза и т.д.
2
...

Контрольные вопросы

1. Дайте общую характеристику и охарактеризуйте «рецепторы смерти».
2. Опишите ключевой цитокин ФНО.
3. Расскажите о каспазах.
4. Расскажите о «рецепторах смерти».
5. Охарактеризуйте запуск механизма клеточной гибели и способы защиты от него.
6. Расскажите о роле инструктивного апоптоза, в том числе и в лечении раковых заболеваний.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРНИНЫ

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА 5 ТЕЛОМЕРАЗА И ТЕЛОМЕРЫ В ЛЕЧЕНИИ ОПУХОЛЕЙ

Цель работы: изучить структуру и свойства теломер, а также роль теломеразы в лечении опухолей.

Теоретическая часть

1. Канцерогенез / Под ред. Д.Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.: ил.
2. Основы молекулярной биологии клетки / Б. Альберте и др. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2018. – 768 с.
3. ЭУМК Молекулярная биология раковой клетки. Лекция 12.

Практическая часть

Задание 1. В тетради опишите структура теломер. Нарисуйте рисунок теломеры и укажите основные структурные элементы.

Задание 2. Опишите и схематично зарисуйте основные этапы теломеризации клеток.

Задание 3. Изобразите в виде схемы как реализуется процесс им-мортализации клеток человека.

Задание 4. Составьте таблицу специфического воздействия на опухоль теломеразы и теломер

№	Воздействующий элемент	Эффект воздействия
1	Теломеразы	Специфическое разрушение РНК раковой клетки
2
...

Задание 5. Запишите отличительные черты воздействия теломеразы на экспрессию генов. Укажите роль теломеразы в лечении опухолей.

Контрольные вопросы

1. Опишите значение теломеразы в диагностики опухолей.
2. Расскажите об общих закономерностях подавления теломеразы как методе лечения опухолей.
3. Расскажите о способах воздействия на опухоль, опосредованные теломеразой и теломерами.
4. Расскажите о воздействии на экспрессию генов теломеразы в контексте лечения раковых заболеваний.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

3.1 Перечень вопросов к зачету

1. Особенности раковых клеток.
2. Основные факторы риска развития злокачественных опухолей.
3. Регуляция клеточного цикла.
4. Характерные признаки опухолевой клетки.
5. Механизмы возникновения характерных свойств неопластических клеток.
6. Онкогены. Идентификация онкогенов.
7. Механизмы активации протоонкогенов.
8. Онкогены в системе передачи сигналов.
9. Опухолевый супрессор pRb.
10. p53 – многофункциональный опухолевый супрессор.
11. Компоненты систем проведения сигналов от поврежденной ДНК к различным эффекторам.
12. BRCA1 и BRCA2.
13. Рак молочной железы: факторы риска, гистологические типы и молекулярная таксономия.
14. Молекулярный механизм развития рака молочной железы.
15. Симптомы и диагностика рака молочной железы.
16. Рак предстательной железы: факторы риска, гистологическая классификация.
17. Молекулярный механизм развития рака предстательной железы.
18. Симптомы и диагностика рака предстательной железы.
19. Классификация цитокинов и их рецепторов.
20. Взаимодействие цитокинов и опухолевых клеток. Цитокины в противоопухолевой терапии.
21. Общая характеристика «рецепторов смерти».
22. Запуск механизма клеточной гибели и защита от него.
23. Роль индуктивного апоптоза.
24. Открытие теломер и теломеразы.
25. Структура теломер, теломеризация клеток.
26. Процесс иммортализации клеток человека.
27. Значение теломеразы в диагностике опухолей.
28. Подавление теломеразы как метод лечения опухолей.
29. Роль метилирования и деметилирования ДНК в нормальных клетках.
30. Нарушения метилирования ДНК при канцерогенезе.

3.2 Критерии оценок по дисциплине

10 баллов (десять):

- систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы, а также по основным вопросам, выходящим за ее пределы;

- точное использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), стилистически грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы;

- безупречное владение инструментарием учебной дисциплины, умение его эффективно использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач;

- выраженная способность самостоятельно и творчески решать сложные проблемы в нестандартной ситуации;

- полное и глубокое усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;

- умение ориентироваться в теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им критическую оценку, использовать научные достижения других дисциплин;

- творческая самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, активное участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий.

9 баллов (девять):

- систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы;

- точное использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), стилистически грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы;

- владение инструментарием учебной дисциплины, умение его эффективно использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач;

- способность самостоятельно и творчески решать сложные проблемы в нестандартной ситуации в рамках учебной программы;

- полное усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;

- умение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им критическую оценку;

- самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях;

- творческое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий.

8 баллов (восемь):

- систематизированные, глубокие и полные знания по всем поставленным вопросам в объеме учебной программы;
- использование научной терминологии, стилистически грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать обоснованные выводы;
- владение инструментарием учебной дисциплины (методами комплексного анализа, техникой информационных технологий), умение его использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач;
- способность самостоятельно решать сложные проблемы в рамках учебной программы;
- усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;
- умение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им критическую оценку с позиций государственной идеологии (по дисциплинам социально-гуманитарного цикла);
- активная самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, систематическое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий.

7 баллов (семь):

- систематизированные, глубокие и полные знания по всем разделам учебной программы;
- использование научной терминологии (в том числе на иностранном языке), лингвистически и логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать обоснованные выводы;
- владение инструментарием учебной дисциплины, умение его использовать в постановке и решении научных и профессиональных задач;
- усвоение основной и дополнительной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;
- умение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им критическую оценку;
- самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий.

6 баллов (шесть):

- достаточно полные и систематизированные знания в объеме учебной программы;
- использование необходимой научной терминологии, стилистически грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать обоснованные выводы;

- владение инструментарием учебной дисциплины, умение его использовать в решении учебных и профессиональных задач;
- способность самостоятельно применять типовые решения в рамках учебной программы;
- усвоение основной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;
- умение ориентироваться в базовых теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им сравнительную оценку;
- активная самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, периодическое участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий.

5 баллов (пять):

- достаточные знания в объеме учебной программы;
- использование научной терминологии, стилистически грамотное, логически правильное изложение ответа на вопросы, умение делать выводы;
- владение инструментарием учебной дисциплины, умение его использовать в решении учебных и профессиональных задач;
- способность самостоятельно применять типовые решения в рамках учебной программы;
- усвоение основной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;
- умение ориентироваться в базовых теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им сравнительную оценку;
- самостоятельная работа на практических, лабораторных занятиях, участие в групповых обсуждениях, высокий уровень культуры исполнения заданий.

4 балла (четыре), ЗАЧТЕНО:

- достаточный объем знаний в рамках образовательного стандарта;
- усвоение основной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;
- использование научной терминологии, стилистическое и логическое изложение ответа на вопросы, умение делать выводы без существенных ошибок;
- владение инструментарием учебной дисциплины, умение его использовать в решении стандартных (типовых) задач;
- умение под руководством преподавателя решать стандартные (типовые) задачи;
- умение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях по изучаемой дисциплине и давать им оценку;
- работа под руководством преподавателя на практических, лабораторных занятиях, допустимый уровень культуры исполнения заданий.

3 балла (три), НЕЗАЧТЕНО:

- недостаточно полный объем знаний в рамках образовательного стандарта;
- знание части основной литературы, рекомендованной учебной программой дисциплины;
- использование научной терминологии, изложение ответа на вопросы с существенными лингвистическими и логическими ошибками;
- слабое владение инструментарием учебной дисциплины некомпетентность в решении стандартных (типовых) задач;
- неумение ориентироваться в основных теориях, концепциях и направлениях изучаемой дисциплины;
- пассивность на практических и лабораторных занятиях, низкий уровень культуры исполнения заданий.

2 балла (два), НЕЗАЧТЕНО:

- фрагментарные знания в рамках образовательного стандарта;
- знания отдельных литературных источников, рекомендованных учебной программой дисциплины;
- неумение использовать научную терминологию дисциплины, наличие в ответе грубых стилистических и логических ошибок;
- пассивность на практических и лабораторных занятиях, низкий уровень культуры исполнения заданий.

1 балл - один, НЕЗАЧТЕНО:

- отсутствие знаний и компетенций в рамках образовательного стандарта или отказ от ответа.

3.3 Тестовые задания по дисциплине «Молекулярная биология раковой клетки»

::001:: На какой стадии происходит экспрессия опухолевого фенотипа:

- ~ инверсии
- ~ инициации
- ~ пролонгации
- ~ терминации
- = промоции

::002:: Структура белка p53 включает все, кроме:

- ~ центральный домен
- ~ N - концевой домен
- ~ C - концевой домен
- = γ - спиральный домен
- ~ линкерный участок

::003:: Какой тип преобладает в регуляции клеточного деления опухолевых клеток?

- ~ эндокринный
- ~ гетерокринный
- = аутокринный
- ~ паракринный
- ~ анокринный

::004:: Каков процент опухолей человека обладают теломеразной активностью:

- ~ 20%
- ~ 30%
- ~ 50%
- = 85%
- ~ 100%

::005:: Типы генов, которые не отвечают за онкогенез:

- ~ протоонкогены
- = нормальные гены
- ~ опухолевые супрессоры
- ~ мутаторные гены
- ~ вирусные онкогены

::006:: Чем не обуславливается пролиферация опухолевых клеток:

- ~активацией онкогенов
- =усилением апоптоза
- ~инактивацией генов-супрессоров
- ~недостаточностью апоптоза
- ~селективным отбором

::007:: Что является основной причиной развития злокачественных опухолей:

- ~ генотип человека
- ~ионизирующее облучение
- =факторы образа жизни и окружающая среда
- ~ травмы
- ~случайные события

::008:: В доброкачественных опухолях дифференцировка клеток:

- =не нарушена
- ~нарушена умеренно
- ~нарушена выраженно
- ~не определяется
- ~всегда нарушена

::009:: Жизненный цикл митотически делящейся клетки подразделяется на следующие периоды, составляющие интерфазу:

- ~S-период, N-период
- =G1-период, S-период, G2-период
- ~С-период, G2-период
- ~N-период, G2-период
- ~G2-период, S-период

::010:: Какие белки являются основными регуляторами клеточного цикла:

- ~онкогены, протоонкогены
- ~инициаторы, пролонгаторы
- ~каспазы
- ~дыхательные ферменты
- =циклины, циклин-зависимые киназы

::011:: Наиболее правильным утверждением является:

- =канцероген – это агент, вызывающий развитие опухоли
- ~канцероген – это только химический агент, вызывающий развитие опухолей
- ~канцероген – это вещество, секретлируемое опухолевыми клетками
- ~канцероген – это онкоген
- ~канцероген – это ген онковируса

::012:: Что не является фактором развития апоптоза изнутри:

- ~потеря связи клетки с опорным субстратом
- ~повреждение
- ~действие ФНО- α
- ~конденсация хроматина
- =вступление клетки в контакт с другой клеткой

::013:: Кто предложил модель клеточного цикла:

- ~Митчелл и МакДоналд
- =Говард и Пелк
- ~Бэр и Зиверт
- ~Эндрю и Стиветсон
- ~Уотсон и Крик

::014:: Радиоактивный йод применяют с целью диагностики опухолей:

- ~поджелудочной железы
- ~ желудка
- =щитовидной железы
- ~прямой кишки
- ~предстательной железы

::015:: Какие биологические особенности не характерны для злокачественных опухолей:

- ~нерегулируемое размножение клеток
- ~утрата «лимита» деления Хэйфлика
- =**экспансивный рост**
- ~утрата контактного торможения
- ~инвазивный рост

::016:: Какое минимальное количество «контрольных точек» выделяют в нормальном клеточном цикле:

~0
~2
=4
~7
~10

::017:: К белкам супрессорам опухолей относятся:

=Rb, p53
~ p27
~ p16
~ p15
~ p21

::018:: Наибольшей канцерогенной активностью обладают:

~ жиры
~ углеводы
~в) витамины группы А и В
=полициклические ароматические углеводороды
~ белки

::019:: Какой важнейший белок называют «Хранитель генома» или «Охранник клеточного цикла»:

~B-CDK1
~cdc2
~BRCA1
~ATM
=p53

::020:: Одним из важнейших инструментов апоптоза является специальное семейство:

=каспазы
~эндонуклеазы
~лигазы
~лиазы
~рестриктазы

::021:: Увеличение степени злокачественности опухоли называют:

~иммортализацией

- ~ промоцией
- = опухолевой прогрессией
- ~ инициацией
- ~ опухолевой трансформацией

::022:: По какому пути наиболее часто реализуется апоптоз:

- ~ ядерный
- ~ цитоплазматический
- ~ плазмалемный
- = митохондриальный
- ~ пластидный

::023:: В индустриальных странах главной причиной увеличения смертности от злокачественных новообразований является:

- = старение населения
- ~ резкое ухудшение экологической обстановки
- ~ увеличение влияния профессиональных вредностей
- ~ изменение климата
- ~ скученность населения

::024:: Маркеры опухолей это:

- ~ протоонкогены
- = белки, синтезируемые в опухолевых клетках
- ~ антионкогены
- ~ онкогены
- ~ онкосупрессоры

::025:: Что означает понятие «пролиферативная самодостаточность клетки»:

- ~ возможность клетки делиться
- = отсутствие необходимости в ростовых факторах
- ~ неконтролируемый рост
- ~ потребность в ростовых факторах
- ~ уменьшение потребления глюкозы

::026:: Укажите правильную последовательность стадий канцерогенеза:

- = инициация, промоция, прогрессия
- ~ промоция, инициация, прогрессия
- ~ прогрессия, инициация, промоция
- ~ инициация, прогрессия, промоция
- ~ промоция, прогрессия, инициация

::027:: Возникновению опухолей способствует:

- = снижение показателей клеточного иммунитета
- ~ состояние иммунитета не влияет на возникновение опухолей
- ~ влияние иммунитета на возникновение опухолей спорно
- ~ усиление деятельности иммунитета
- ~ иммунизация

::028:: Что означает понятие «отсутствие репликативного старения клетки»:

- ~ остановка репликации
- ~ постоянное двойное деление
- ~ существенное замедление деления
- ~ безудержный рост
- =иммортализация

::029:: Наиболее опасное свойство раковых клеток:

- ~ изменение морфологии
- ~ возможность роста
- ~ ловушка питательных веществ
- ~ источник биологически активных веществ
- =метастазирование

::030:: Стадия инициации канцерогенеза заключается:

- ~в качественных изменениях свойств опухолевых клеток в сторону малигнизации
- ~ в появлении более злокачественного клона клеток
- =в трансформации нормальной клетки в опухолевую
- ~ в способности опухолевой клетки к метастазированию
- ~ в активации механизмов антибластомной резистентности организма

::031:: Что такое неоангиогенез:

- = способность формировать кровеносные и лимфатические сосуды
- ~ выделение новых ростовых факторов
- ~ постоянная гиперплазия
- ~ способность к прорастанию и миграции клеток
- ~ переход клеток к апоптозу

::032:: Самой частой злокачественной опухолью у мужчин в нашей стране является:

- = рак легких
- ~ рак желудка
- ~ рак предстательной железы
- ~ рак прямой кишки
- ~ рак кожи

::033:: Критическая молекула-мишень для канцерогенеза:

- = ДНК
- ~ м-РНК
- ~ белковые ростовые факторы
- ~ р-РНК
- ~ т-РНК

::034:: В случае приобретения какого свойства клетки проявляют повышенную способность к формированию псевдоподий и активной инвазии:

- ~ иммортализации
- ~ экспрессивного роста
- ~ неоангиогенеза
- = метастазирования
- ~ ухода от апоптоза

::035:: Что не относится к опухолевой трансформации клетки:

- ~ активация онкогенов
- ~ ингибирование антионкогенов
- ~ множественные нелетальные мутации
- ~ образование онкобелков
- = активация систем репарации ДНК

::036:: Дифференцировка клеток в злокачественных опухолях:

- ~ не нарушается
- = нарушена часто
- ~ нарушена редко
- ~ нарушена всегда
- ~ не может быть выявлена

::037:: Какова основная роль Ras и Raf белкой:

- ~ индукторы апоптоза
- ~ рецепторы нервных клеток
- =ключевые переносчики на пересечении многих сигнальных путей
- ~ структурные элементы хроматина
- ~ компоненты репарации ДНК

::038:: В развитии канцерогенеза выделяют стадии:

- = инициации
- ~ элонгации
- ~ терминации
- ~ регрессии
- ~ локомоции

::039:: Протоонкогены – это:

- = гены пролиферации и дифференцировки клеток
- ~ гены, тормозящие вступление клеток в митоз
- ~ гены, контролирующие биохимические процессы в опухолевой клетке
- ~ гены, ответственные за механизмы антибластомной резистентности
- ~ гены, отвечающие за репарацию поврежденной ДНК

::040:: Многоступенчатый процесс накопления мутаций и других генетических изменений, приводящих к нарушениям регуляции размножения и миграции клеток, понижению их чувствительности к различным ростсупрессирующим сигналам, ослаблению в них индукции апоптоза, блокированию дифференцировки, называют:

- ~ мутациями
- =канцерогенезом
- ~ ангиогенезом
- ~ метастазированием
- ~ обструкцией

::041:: Вторичная профилактика рака предусматривает:

- ~ устранение химических канцерогенов
- ~ профилактику инфицирования онкогенных вирусов
- ~ отказ от курения
- =выявление и лечение предраковых заболеваний
- ~ ограничение передвижения

::042:: Основой действия химического канцерогена является:

- ~ повреждение мембраны клетки
- =ковалентное связывание с ДНК
- ~ активация онковирусов
- ~ изменение обмена веществ
- ~ разрушение мембраны клетки

::43:: Чем чаще всего обусловлена самодостаточность в пролиферативных сигналах:

- =активирующими мутациями протоонкогенов
- ~ увеличенным захватом глюкозы
- ~ дисфункцией опухолевых супрессоров
- ~ ингибированием CDK
- ~ активация апоптоза

::044:: К опухолевой трансформации клетки приводит:

- =превращение протоонкогена в онкоген
- ~ активация антионкогенов
- ~ инактивация генов антиапоптоза
- ~ активация генов апоптоза
- ~ активация протоонкогенов

::045:: Наиболее распространенным канцерогеном в природе является:

- ~ 2-нафтамин
- ~ тяжелые металлы, металлоиды
- ~ радионуклиды
- =бензопирен

~ аммиак

::046:: Чем чаще всего обусловлена нечувствительность к ростингибирующим сигналам:

- ~ активация апоптоза
- ~ ингибированием CDK
- = дисфункцией опухолевых супрессоров
- ~ активирующими мутациями протоонкогенов
- ~ увеличенным захватом глюкозы

::047:: Антионкогены – это:

- ~ фармакопрепараты – конкурентные ингибиторы онкогенов
- = гены, противодействующие онкогенам
- ~ последовательности нуклеотидов ДНК, комплементарные онкогенам
- ~ видоизмененные онкогены
- ~ инактивированные онкогены с помощью иммунной системы

::048:: Активация онкогена возникает вследствие:

- ~ воспаления
- ~ гипогликемии
- = мутации
- ~ некроза
- ~ гипоксии

::049:: Какое семейство белков играет ключевую роль в реорганизации цитоскелета и регуляции движения клеток:

- ~ CDK
- = Rho
- ~ Ras
- ~ BRCA
- ~ p53

::050:: Сигареты с ментолом:

- ~ позволяют снизить риск рака полости рта
- ~ позволяют снизить риск рака легких
- ~ нейтрализуют канцерогены табачной смолы

=создают лишь холодок и уменьшают никотиновый запах
~ позволяют снизить риск рака желудка

::051:: Онкогены – это:

~ гены апоптоза
~ гены, контролирующие обмен веществ
~ неактивные гены роста и дифференцировки клеток
~ гены- супрессоры размножения клеток
=измененные протоонкогены, вышедшие из-под контроля

::052:: Основной фактор, стимулирующий размножение и направленную миграцию эндотелиоцитов и стимулирующий неоангиогенез:

~ p53
~ Rb
~ CDK
= VEGF
~ BRCA

::053:: Что не является проявлением атипизма роста злокачественных опухолей:

~ метастазирование
~ рецидивирование
~ инвазивный рост
=образование блокирующих антител
~ ослабление свойства контактного торможения клеток

::054:: Антионкогены – это:

~ гены, вызывающие нерегулируемое клеточное деление
~ гены, контролирующие обмен веществ
~ неактивные гены роста и дифференцировки клеток
=гены-супрессоры размножения клеток
~ измененные, вышедшие из-под контроля, протоонкогены

::055:: В основе механизма репликативного старения лежит:

~ активация протоонкогенов
~ дисфункцией опухолевых супрессоров
~ активация апоптоза

- ~ накопление мутаций
- =прогрессивное укорочение теломер

::056:: Что не относится к характерным изменениям в системе иммунитета при росте злокачественных опухолей?

- =усиление размножения Т-лимфоцитов киллеров
- ~ образование блокирующих антител
- ~ развитие иммунной толерантности
- ~ иммунодепрессия
- ~ увеличение образования Т-супрессоров

::057:: Онкогенный вирус, ассоциированный с раком шейки матки и полового члена:

- ~ ретровирус HTLV -1
- ~ гепатит В (HBV)
- =папиллома-вирус (HPV)
- ~ вирус Эпштейна-Барра
- ~ вирус гриппа

::058:: Что называют «генетической катастрофой» в контексте репликативного старения:

- ~ переход клетки в G0
- =невозможность дальнейшего деления
- ~ накопление большого количества мутаций
- ~ активация апоптоза
- ~ активное метастазирование

::059:: Вторая стадия канцерогенеза называется:

- =промоцией
- ~ коканцерогенезом
- ~ синканцерогенезом
- ~ инициацией
- ~ проканцерогенезом

::060:: Укажите что не является особенностями злокачественных опухолей:

- ~ рецидивирование

~ низкая степень структурной и функциональной дифференцировки клеток

=ускорение созревания клеток

~ высокая степень опухолевой прогрессии

~ метастазирование

::061:: Как называется фаза апоптоза, в которой принимается решение об апоптозе клетки:

~ начальная

=индукции

~ инверсии

~ экзекуции

~ терминальная

::062:: В общей структуре онкологической заболеваемости населения Республики Беларусь первое место занимает рак:

=легкого

~ желудка

~ молочной железы

~ щитовидной железы

~ рак предстательной железы

::063:: Антитрансформационные механизмы антибластомной резистентности организма заключаются:

~ в ограничении взаимодействия канцерогенов с клетками

=в подавлении превращения нормальной клетки в опухолевую

~ в уничтожении отдельных опухолевых клеток

~ в уничтожении опухоли в целом

~ в активации механизмов специфической иммунологической реактивности

::064:: Как называется фаза апоптоза, в которой происходит непосредственно апоптоз клетки:

~ начальная

~ индукции

~ инверсии

=экзекуции

~ терминальная

::065:: Какие факторы не направлены на уничтожение опухолевых клеток в организме?

- ~ макрофагальный фагоцитоз
- ~ аллогенное ингибирование
- =Т-лимфоциты супрессоры
- ~ Т-лимфоциты киллеры
- ~ НК-киллеры

::066:: В структуре онкологической заболеваемости среди женщин 1-е место занимает рак:

- ~ шейки матки
- ~ тела матки
- ~ яичников
- =молочной железы
- ~ рак легких

::067:: Как называются каспазы, которые осуществляют апоптоз клетки:

- ~ аффлекторные
- ~ инициаторные
- =эффлекторные
- ~ апоптозные
- ~ протолитические

::068:: Какие свойства не обнаруживают онкобелки?

- ~ факторов роста
- ~ рецепторов факторов роста
- ~ мембранных G-белков
- =кейлонов
- ~ передают ростовые сигналы на ДНК

::069:: Какие изменения обмена веществ не характерны для клеток злокачественных опухолей?

- ~ увеличение захвата глюкозы
- =ослабление анаэробного гликолиза
- ~ активация и качественные изменения синтеза белков
- ~ увеличение захвата холестерина и высших жирных кислот
- ~ активация обмена нуклеиновых кислот

::070:: Назовите возможные пути протекания апоптоза:

- ~ митохондриальный, пластидный
- ~ ядерный, цитоплазматический
- ~ «рецепторы смерти», ядерный
- ~ цитоплазматический, рибосомальный
- = «рецепторы смерти», митохондриальный

::071:: Ионизирующие излучения обладают канцерогенным действием:

- = в любых дозах
- ~ в больших дозах
- ~ не обладают канцерогенным действием
- ~ не доказано
- ~ в смертельных дозах

::072:: Что из указанного способствует росту опухолевых клеток?

- ~ молодой возраст организма
- = слабовыраженные антигенные свойства опухолевых клеток
- ~ продукция ФНО организмом
- ~ усиление процессов конечной дифференцировки клеток
- ~ активация естественных киллеров (NK-клеток)

::073:: Увеличение вероятности возникновения и закрепления в ряду клеточных поколений разнообразных изменений генома, называется:

- = генетической нестабильностью
- ~ инициацией апоптоза
- ~ мутацией
- ~ генетической дифференцировкой
- ~ метастазированием

::074:: Что такое онкобелки?

- = белки, стимулирующие опухолевую прогрессию
- ~ белки, блокирующие клеточное дыхание
- ~ белки, угнетающие гликолиз
- ~ белки поверхностного комплекса клеток
- ~ белки регрессии митохондрий

::075:: Определяющая роль в увеличении заболеваемости населения раком легких принадлежит:

- ~ генетическому фактору
- ~ профессиональным вредностям
- = курению
- ~ загрязнению атмосферы
- ~ радиоактивному загрязнению

::076:: Гены, кодирующие ключевые регуляторные белки, потеря которых влечет за собой нарушения контроля пролиферации, называются:

- ~ протоонкогенами
- ~ генами-модуляторами
- ~ мутантными генами
- ~ нормальными генами
- = антионкогенами

::077:: Основным методом скрининга рака молочной железы является:

- = маммография
- ~ пальпация молочной железы
- ~ УЗИ молочных желез
- ~ морфологический
- ~ термография

::078:: Интенсивность гликолиза в опухолевых клетках:

- = увеличивается
- ~ уменьшается
- ~ не изменяется
- ~ изменяется скачкообразно
- ~ полностью прекращается

::079:: На каком типе вирусов впервые был показан механизм преобразования онкогенов:

- ~ ДНК-вирусы
- ~ герпес-вирусы
- = ретровирусы
- ~ адено-вирусы

~ РНК-вирусы

::080:: Рак молочной железы развивается:

- ~ из лимфатических узлов
- ~ из кровеносных сосудов
- ~ из гладкой или поперечнополосатой мускулатуры
- =из железистого эпителия протоков
- ~ из незрелой соединительной ткани

::081:: Для диагностики рака молочной железы наиболее достоверным методом исследования является:

- ~ маммография
- =пункция с последующим цитологическим исследованием пунктата
- ~ термография
- ~ ультразвуковое исследование
- ~ пальпация молочной железы

::082:: Назовите причину активации протоонкогенов, в результате которой происходит изменение гена кодируемого белка:

- ~ обструкция
- ~ экзекуция
- ~ терминация
- =мутация
- ~ амплификация

::083:: Синтез нуклеиновых кислот в опухолевых клетках:

- =увеличивается
- ~ уменьшается
- ~ не изменяется
- ~ скачкообразный
- ~ полностью прекращается

::084:: Для рака молочной железы характерно:

- =зависимость жалоб от фазы менструального цикла
- ~ наличие кожных симптомов
- ~ молодой возраст больных
- ~ выделения из сосков
- ~ чувство тревоги

::085:: Назовите причину активации протоонкогенов, в результате которой происходит аномально высокая продукция кодируемого белка:

- =амплификация
- ~ терминация
- ~ обструкция
- ~ экзекуция
- ~ мутация

::086:: Для рака молочной железы не характерно:

- ~ связь опухоли с окружающими тканями
- ~ плотная консистенция опухоли
- ~ нечеткие границы опухоли
- =резкая болезненность при пальпации
- ~ преклонный возраст

::087:: Заболеваемость раком молочной железы:

- =повышается
- ~ стабилизировалась
- ~ снижается
- ~ четких закономерностей нет
- ~ изменяется в зависимости от широты

::088:: Назовите причину активации протоонкогенов, в результате которой происходит структурная перестройка клеточного генома:

- ~ экзекуция
- ~ терминация
- ~ мутация
- ~ амплификация
- =транслокация

::089:: Какое влияние на эпителий молочной железы оказывает избыточная продукция эстрогенов?

- ~ уменьшает пролиферативные процессы
- ~ не влияет на пролиферативные процессы
- =усиливает пролиферативные процессы, способствует возникновению мастопатии и рака
- ~ на эпителий молочной железы не влияет

~ нет достоверных данных

::090:: Проводить самообследование молочных желез один раз в 2 месяца рекомендуется женщинам, начиная с возраста:

~ 18 лет

=30 лет

~ 40 лет

~ 50 лет

~ 60 лет

::091:: Ген, инактивация функции которого ведет к возникновению и/или прогрессии новообразований, называется:

=опухолевый супрессор

~ протоонкоген

~ активатор апоптоза

~ онкоген

~ ростовой фактор

::092:: Наиболее агрессивной опухолью человека считают:

~ болезнь Ходжкина

=меланому

~ саркоидоз Бека

~ плоскоклеточный рак

::093:: Наиболее эффективным методом лечения предраковых заболеваний кожи является:

~ противовоспалительная терапия

~ физиотерапия

=криодеструкция или хирургическое иссечение

~мазевые повязки

~такое лечение не проводится

::094:: Первым идентифицированным опухолевым супрессором является ген:

~p53

~BRCA1

~CDK

= Rb

~Cut

::095:: «Ранним» симптомом рака щитовидной железы является:

= уплотнение и увеличение железы

~боль при глотании

~дисфагия

~осиплость голоса

~метастазирование

::096:: Впервые доказал в эксперименте роль вирусов в этиологии опухолей:

=Раус

~Ямагива

~Ишикава

~Шабад

~Зильбер

::097:: Назовите важный транскрипционный фактор, который активируется белком pRb:

~CDK

~Ras

=E2F

~IraR

~p53

::098:: Фазу, которая не является частью нормального клеточного цикла называют:

~Фаза M

=Фаза A

~Фаза G1

~Фаза G2

~Фаза S

::099:: К орудиям апоптоза не относятся:

~каспазы

~эндонуклеазы

~совокупность сильных окислителей

~митохондриальные факторы
=релизинг-факторы

::100:: Назовите наиболее важный опухолевый супрессор, мутации в котором с 50% вероятностью (и более) вызывают развитие опухолей у человека:

= p53
~Ras
~Rb
~E2F
~CDK

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

Учреждение образования
«Гомельский государственный университет
имени Франциска Скорины»

УТВЕРЖДАЮ



Профессор по учебной работе
Гомельский Ф. Скорины

И.В. Семченко

Инвентарный №УД-16-2020-156/уч.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ РАКОВОЙ КЛЕТКИ

Учебная программа учреждения высшего образования
по учебной дисциплине для специальности
1-31 80 01 Биология
Профилизация «Функциональная биология»

2020 г.

Учебная программа составлена на основе учебной программы ведущего учреждения образования (Белорусского государственного университета) «Молекулярная биология раковой клетки» для специальности 1-31 80 01 Биология, утв. 29.06.2016, регистрационный № УД-2855/уч. и учебных планов ГГУ имени Ф. Скорины специальности 1-31 80 01 Биология, регистрационные номера G 31-2-01/Д-19 от 09.04.2019 и G 31-2-01/З-19 от 09.04.2020.

СОСТАВИТЕЛИ:

Г.Г. Гончаренко – заведующий кафедрой зоологии, физиологии и генетики учреждения образования «Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины», член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, профессор.

Чеховский А.Л. – старший преподаватель кафедры зоологии, физиологии и генетики учреждения образования «Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины», кандидат биологических наук.

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ:

Кафедрой зоологии, физиологии и генетики ГГУ имени Ф. Скорины (протокол № 9 от 13.04.2020);

Научно-методическим советом ГГУ имени Ф. Скорины (протокол № 6 от 20.05.2020)

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Учебная дисциплина «Молекулярная биология раковой клетки» относится к дисциплинам модуля по выбору магистранта «Молекулярные механизмы наследственных и ненаследственных заболеваний человека» компонента учреждения высшего образования.

Данная дисциплина выступает в качестве одной из научно-прикладных дисциплин, знания по которым необходимы для становления полноценного специалиста, работающего в научных, медицинских и педагогических учреждениях.

В курсе рассматриваются основные особенности раковой клетки, а также факторы риска развития злокачественных опухолей. Подробно приводится генетический контроль и регуляция клеточного цикла в нормальной клетке. Представлены признаки и механизмы возникновения характерных свойств неопластических клеток. Рассмотрена тема онкогенов, опухолевых супрессоров (pRb, p53) и мутаторных генов (BRCA1, BRCA2). Описаны причины и механизм развития рака молочной железы (РМЖ) и простаты. Приведены основные цитокины, участвующие в канцерогенезе. Рассмотрен механизм апоптоза (активация программируемой клеточной гибели). Отдельно показана роль теломеразы в канцерогенезе и ее важное значение в диагностике и лечении опухолей. В заключение приведены особенности эпигенеза и роль метилирования ДНК в развитии рака.

Цель учебной дисциплины – сформировать у студентов представление о принципах инициации и развития злокачественных новообразований, особенностях фенотипа и генотипа клеток опухолей, современных методах молекулярной диагностики.

В задачи учебной дисциплины входит изучение молекулярно-генетических механизмов инициации, развития и лечения злокачественных новообразований человека.

Программа учебной дисциплины составлена с учетом межпредметных связей и программ по смежным учебным дисциплинам («Генетика», «Геномика», «Молекулярная биология» и др.). Преподавание учебной дисциплины «Молекулярная биология раковой клетки» базируется на знаниях, полученных магистрантами при изучении дисциплин «Цитология и гистология», «Биохимия», «Молекулярная биология», «Генная инженерия» и других.

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

знать:

- закономерности реализации контроля за целостностью генетического материала клетки;
- механизмы инициации опухолей ксенобиотиками и эндогенными мутагенами;

- основные принципы репарации повреждений генетического материала клетки;

уметь:

- определять тип повреждающего эффекта при взаимодействии с ДНК клетки эндо- или экзогенных мутагенов;

- использовать знания для определения потенциально опасных соединений, обладающих выраженным канцерогенным эффектом;

владеть:

- терминологическим аппаратом дисциплины;

- полученными знаниями для более глубокого понимания современных научных работ в области молекулярной биологии, онкологии и молекулярной клинической диагностики;

Изучение учебной дисциплины «Молекулярная биология раковой клетки» должно обеспечить формирование у магистрантов компетенций:

СК-7. Быть способным характеризовать механизмы инициации, развития и лечения злокачественных новообразований, молекулярные основы иммуногенетики и лечения иммунных заболеваний человека.

Дисциплина «Молекулярная биология раковой клетки» предусматривает применение следующих методов и технологий обучения:

- *проблемный метод* используется на лекции, в ходе наблюдений, при работе с книгой, при экспериментировании, при этом магистранты закрепляют навыки логического, критического мышления;

- *частично-поисковый метод* применяется при самостоятельной работе магистрантов, беседе, популярной лекции, проектировании, предоставляет магистрантам возможность принять участие в отдельных этапах поиска, приобрести навыки научно-исследовательской работы;

- *исследовательский метод*: магистранты познают принципы и этапы научного исследования, изучают литературу по проблеме, проверяют гипотезы и оценивают полученные результаты;

- *коммуникативные технологии*, основанные на активных формах и методах обучения (дискуссии, диалоги, групповые обсуждения).

Управляемая самостоятельная работа (УСР) магистрантов предполагает изучение теоретического материала на основе списка источников литературы, приведенных в данной программе. УСР протекает в форме делового взаимодействия: с первой недели семестра магистрант получает от преподавателя учебные задания на самостоятельную проработку отдельных тем или их частей, непосредственные указания, рекомендации преподавателя об организации и содержании самостоятельной деятельности. Преподаватель выполняет функцию управления через учет, контроль и коррекцию ошибочных действий.

Работа магистрантов в рамках УСР состоит в проработке обзорного лекционного материала, в изучении по учебникам программного материала и рекомендованных преподавателем литературных источников.

Работа преподавателя состоит в обучении магистрантов способам самостоятельной учебной работы и развитию у них соответствующих умений и навыков, в разработке программ контроля самостоятельной работы магистрантов.

В качестве средств диагностики знаний магистрантов, в том числе и УСР, предусмотрены:

- опрос во время лабораторных занятий;
- письменная контрольная работа;
- подготовка тематических докладов, рефератов, презентаций по индивидуальным темам и др.;
- использование презентаций, тестирующих программ, электронных энциклопедий;
- выполнение практических задач;
- конспектирование учебной литературы.

Материал дисциплины «Молекулярная биология раковой клетки» основывается на ранее полученных магистрантами знаниях по дисциплинам «Генетика», «Геномика», «Молекулярная биология», «Клеточная биология». Изучение данной дисциплины предусмотрено магистрантами 2 курса специальности 1-31 80 01 Биология.

Структура учебной дисциплины

Дисциплина изучается в 3 семестре. Всего на изучение учебной дисциплины «Молекулярная биология раковой клетки» отведено:

- для очной формы получения высшего образования – 90 часов, в том числе 36 аудиторных часов, из них: лекции – 26 часов (в том числе 10 часов УСР), практические занятия – 10 часов.
- для заочной формы получения высшего образования – 90 часов, в том числе 12 аудиторных часов, из них: лекции – 8 часов, практические занятия – 4 часа.

Трудоемкость учебной дисциплины составляет 3 зачетные единицы.

Форма текущей аттестации – зачет в 3 семестре.

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

I. ВВЕДЕНИЕ

Тема 1.1 Введение.

Предмет, цели и задачи учебной дисциплины. Особенности раковых клеток. Основные факторы риска злокачественных опухолей: курение, питание, гормоны, потребление алкоголя, профессиональные канцерогены, загрязнение воздуха, ультрафиолетовое излучение, ионизирующее излучение, инфекционные факторы, наследственность.

Тема 1.2 Генетический контроль клеточного цикла.

Регуляция клеточного цикла. Повреждение ДНК. Дополнительная регуляция клеточного цикла белком p53.

II. ИНИЦИАЦИЯ ОПУХОЛИ

Тема 2.1 Инициация опухолевых клеток и базовые механизмы их возникновения.

Характерные признаки опухолевых клеток: самодостаточность в пролиферативных сигналах, пониженная чувствительность к ростингибирующим сигналам, иммортализация, ослабление индукции апоптоза, неоангиогенез, изменение морфологии и движения, метастазирование, нарушение дифференцировки, генетическая нестабильность. Механизмы возникновения характерных свойств неопластических клеток: нарушение регуляции клеточного цикла, изменение морфологии и движения, возникновение иммортализации, выключение апоптоза, реализация генетической нестабильности.

Тема 2.2 Онкогены.

Идентификация онкогенов. Механизмы активации протоонкогенов: мутации, амплификация протоонкогенов, транслокации. Онкогены в системе передачи сигналов: PDGF, тирозинкиназы, G-белки.

Тема 2.3 Опухолевые супрессоры. pRb. P53.

Открытие супрессора pRb. Функции pRb. Многофункциональный опухолевый супрессор p53. Структурная организация и биохимические активности белка p53. Физиологические функции p53 и их нарушения в неопластических клетках. Механизмы активации p53 при стрессах и внутриклеточных повреждениях. Гены-мишени p53 и их функции. Последствия нарушения функции p53.

Тема 2.4 Мутаторные гены.

Компоненты систем проведения сигналов от поврежденной ДНК к различным эффекторам (ATM, ATR, NBS1, CHK1, CHK2). Гены BRCA1 и BRCA2. Компоненты систем репарации неспаренных оснований ДНК: MSH2, MSH6, MLH1 и PMS2. Компоненты системы эксцизионной репарации ДНК.

III. ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Тема 3.1 Онкогенез рака молочной железы.

Рак молочной железы: факторы риска, гистологические типы и молекулярная таксономия. Молекулярные механизмы развития рака молочной железы. Симптомы и диагностика.

Тема 3.2 Онкогенез рака предстательной железы.

Рак предстательной железы: факторы риска, гистологическая классификация. Молекулярные механизмы развития рака предстательной железы. Симптомы и диагностика.

IV МЕХАНИЗМЫ БОРЬБЫ С НЕОПЛАСТИЧЕСКИМИ КЛЕТКАМИ. МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ

Тема 4.1 Цитокины.

Классификация цитокинов и их рецепторов. Взаимодействие цитокинов и опухолевых клеток. Цитокины и противоопухолевый надзор. Применение цитокинов.

Тема 4.2 Инструктивный апоптоз – механизм активации программируемой клеточной гибели.

Общая характеристика «рецепторов смерти». Каспазы. Рецепторы смерти. Запуск механизма клеточной гибели и защита от него. Роль инструктивного апоптоза.

Тема 4.3 Роль теломеразы в канцерогенезе.

Открытие теломер и теломеразы. Структура теломер. Теломеризация клеток. Процесс иммортализации клеток человека.

Тема 4.4 Теломераза, теломеры и лечение опухолей.

Значение теломеразы в диагностике опухолей. Подавление теломеразы как метод лечения опухолей. Воздействия на опухоль, опосредованные теломеразой и теломерами. Воздействие на экспрессию генов теломеразы.

Тема 4.5 Эпигенез, роль метилирования ДНК в канцерогенезе.

Роль метилирования ДНК в нормальных клетках. Роль деметилирования ДНК в нормальных клетках. Нарушения метилирования ДНК при канцерогенезе. Механизмы нарушения метилирования при канцерогенезе.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА
(дневная форма обучения)

Номер раздела, темы, занятия	Название раздела, темы, занятия; перечень изучаемых вопросов	Количество аудиторных часов		Количество часов УСР	Материальное обеспечение занятия (наглядные, методические пособия и др.)	Литература	Формы контроля знаний
		лекции	практические (семинарские) занятия				
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Введение	4	-	2			
1.1	Введение. 1. Особенности раковых клеток. 2. Основные факторы риска злокачественных опухолей.	2	-	-	Текст лекций	[1-5]	Устный опрос
1.2	Генетический контроль клеточного цикла. 1. Регуляция клеточного цикла. 2. Повреждение ДНК. 3. Дополнительная регуляция клеточного цикла белком p53.		-	2	Текст лекций, интернет источники	[1-5]	Реферативная работа
2	Инициация опухоли	8	4	2			
2.1	Инициация опухолевых клеток и базовые механизмы их возникновения. 1. Характерные признаки опухолевой клетки. 2. Механизмы возникновения характерных свойств неопластических клеток.	2	2	-	Текст лекций	[1-5]	Тестовый контроль
2.2	Онкогены. 1. Онкогены. Идентификация онкогенов. 2. Механизмы активации протоонкогенов. 3. Онкогены в системе передачи сигналов.		-	2	Текст лекций, интернет источники	[1-5]	Реферативная работа

2.3	Опухолевые супрессоры. pRb. p53. 1. Опухолевый супрессор pRb. 2. p53 – многофункциональный опухолевый супрессор.	2	2	-	Текст лекций	[1-5]	Контрольная работа
2.4	Мутаторные гены. 1. Компоненты систем проведения сигналов от поврежденной ДНК к различным эффекторам. 2. BRCA1 и BRCA2. 3. Компоненты систем репарации неспаренных оснований ДНК. 4. Компоненты системы эксцизионной репарации ДНК и пигментная ксеродерма.	2	-		Текст лекций	[1-5]	Устные опрос
3	Особенности развития рака молочной железы и рака предстательной железы	4	4				
3.1	Онкогенез рака молочной железы. 1. Рак молочной железы: факторы риска, гистологические типы и молекулярная таксономия. 2. Молекулярный механизм развития рака молочной железы. 3. Симптомы и диагностика.	2	2	-	Текст лекций	[1-5]	Тестовый контроль
3.2	Онкогенез рака предстательной железы. 1. Рак предстательной железы: факторы риска, гистологическая классификация. 2. Молекулярный механизм развития рака предстательной железы. 3. Симптомы и диагностика.	2	-	-	Текст лекций	[1-5]	Тестовый контроль
4	Механизмы борьбы с неопластическими клетками. Методы лечения опухолей	10	2	6			
4.1	Цитокины. 1. Классификация цитокинов и их рецепторов. 2. Взаимодействие цитокинов и опухолевых клеток. 3. Цитокины в противоопухолевой терапии. Применение цитокинов.		-	2	Текст лекций, интернет источники	[1-5]	Реферативная работа

4.2	Инструктивный апоптоз – механизм активации программируемой клеточной гибели. 1. Общая характеристика «рецепторов смерти». 2. Каспазы. 3. Рецепторы смерти. 4. Запуск механизма клеточной гибели и защита от него. 5. Роль инструктивного апоптоза.	2	2	-	Текст лекций	[1-5]	Контрольная работа
4.3	Роль теломеразы в канцерогенезе. 1. Открытие теломер и теломеразы. 2. Структура теломер. 3. Теломеризация клеток. 4. Процесс immortalization клеток человека.		-	2	Текст лекций, интернет источники	[1-5]	Реферативная работа
4.4	Теломераза, теломеры и лечение опухолей. 1. Значение теломеразы в диагностики опухолей. 2. Подавление теломеразы как метод лечения опухолей. 3. Воздействия на опухоль, опосредованные теломеразой и теломерами. 4. Воздействие на экспрессию генов теломеразы.	2	2	-	Текст лекций	[1-5]	Тестовый контроль
4.5	Эпигенез, роль метилирования ДНК в канцерогенезе. 1. Роль метилирования ДНК в нормальных клетках. Роль деметилирования ДНК в нормальных клетках. 2. Нарушения метилирования ДНК при канцерогенезе. 3. Механизмы нарушения метилирования при канцерогенезе.		-	2	Текст лекций, интернет источники	[1-5]	Реферативная работа
		16	10	10			зачет

Заведующий кафедрой
зоологии, физиологии и генетики, д.б.н., профессор

Г.Г. Гончаренко

Старший преподаватель кафедры
зоологии, физиологии и генетики, к.б.н.

А.Л. Чеховский

УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКАЯ КАРТА
(заочная форма обучения)

Номер раздела, темы, занятия	Название раздела, темы, занятия; перечень изучаемых вопросов	Количество аудиторных часов		Количество часов УСП	Материальное обеспечение занятия (наглядные, методические пособия и др.)	Литература	Формы контроля знаний
		лекции	практические (семинарские) занятия				
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Введение	2	1	-			
1.1	Введение. 1. Особенности раковых клеток. 2. Основные факторы риска злокачественных опухолей.	2	1	-	Текст лекций	[1-5]	Устные опрос
1.2	Генетический контроль клеточного цикла. 1. Регуляция клеточного цикла. 2. Повреждение ДНК. 3. Дополнительная регуляция клеточного цикла белком p53.	Самостоятельное изучение					
2	Инициация опухоли	4	1	-			
2.1	Инициация опухолевых клеток и базовые механизмы их возникновения. 1. Характерные признаки опухолевой клетки. 2. Механизмы возникновения характерных свойств неопластических клеток.	2	1	-	Текст лекций	[1-5]	Тестовый контроль
2.2	Онкогены. 1. Онкогены. Идентификация онкогенов. 2. Механизмы активации протоонкогенов. 3. Онкогены в системе передачи сигналов.	Самостоятельное изучение					

2.3	Опухолевые супрессоры. pRb. p53. 1. Опухолевый супрессор pRb. 2. p53 – многофункциональный опухолевый супрессор.	2	-	-	Текст лекций	[1-5]	Контрольная работа
2.4	Мутаторные гены. 1. Компоненты систем проведения сигналов от поврежденной ДНК к различным эффекторам. 2. BRCA1 и BRCA2. 3. Компоненты систем репарации неспаренных оснований ДНК. 4. Компоненты системы эксцизионной репарации ДНК и пигментная ксеродерма.	Самостоятельное изучение					
3	Особенности развития рака молочной железы и рака предстательной железы	2	1	-			
3.1	Онкогенез рака молочной железы. 1. Рак молочной железы: факторы риска, гистологические типы и молекулярная таксономия. 2. Молекулярный механизм развития рака молочной железы. 3. Симптомы и диагностика.	2	1	-	Текст лекций	[1-5]	Тестовый контроль
3.2	Онкогенез рака предстательной железы. 1. Рак предстательной железы: факторы риска, гистологическая классификация. 2. Молекулярный механизм развития рака предстательной железы. 3. Симптомы и диагностика.	Самостоятельное изучение					
4	Механизмы борьбы с неопластическими клетками. Методы лечения опухолей	-	1	-			
4.1	Цитокины. 1. Классификация цитокинов и их рецепторов. 2. Взаимодействие цитокинов и опухолевых клеток. 3. Цитокины в противоопухолевой терапии. Применение цитокинов.	Самостоятельное изучение					

4.2	Инструктивный апоптоз – механизм активации программируемой клеточной гибели. 1. Общая характеристика «рецепторов смерти». 2. Каспазы. 3. Рецепторы смерти. 4. Запуск механизма клеточной гибели и защита от него. 5. Роль инструктивного апоптоза.	Самостоятельное изучение					
4.3	Роль теломеразы в канцерогенезе. 1. Открытие теломер и теломеразы. 2. Структура теломер. 3. Теломеризация клеток. 4. Процесс immortalization клеток человека.	Самостоятельное изучение					
4.4	Теломераза, теломеры и лечение опухолей. 1. Значение теломеразы в диагностики опухолей. 2. Подавление теломеразы как метод лечения опухолей. 3. Воздействия на опухоль, опосредованные теломеразой и теломерами. 4. Воздействие на экспрессию генов теломеразы.	-	1	-	Текст лекций	[1-5]	Тестовый контроль
4.5	Эпигенез, роль метилирования ДНК в канцерогенезе. 1. Роль метилирования ДНК в нормальных клетках. Роль деметилирования ДНК в нормальных клетках. 2. Нарушения метилирования ДНК при канцерогенезе. 3. Механизмы нарушения метилирования при канцерогенезе.	Самостоятельное изучение					
		8	4	-			зачет

Заведующий кафедрой
зоологии, физиологии и генетики, д.б.н., профессор

Г.Г. Гончаренко

Старший преподаватель кафедры
зоологии, физиологии и генетики, к.б.н.

А. Л. Чеховский

ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Рекомендуемые темы лекций

- Лекция 1. «Введение».
- Лекция 2. «Генетический контроль клеточного цикла».
- Лекция 3. «Инициация опухолевых клеток и базовые механизмы их возникновения».
- Лекция 4. «Онкогены».
- Лекция 5. «Опухолевые супрессоры. pRb. p53».
- Лекция 6. «Мутаторные гены».
- Лекция 7. «Онкогенез рака молочной железы».
- Лекция 8. «Онкогенез рака предстательной железы».
- Лекция 9. «Цитокины».
- Лекция 10. «Инструктивный апоптоз – механизм активации программируемой клеточной гибели».
- Лекция 11. «Роль теломеразы в канцерогенезе».
- Лекция 12. «Теломераза, теломеры и лечение опухолей».
- Лекция 13. «Эпигенез, роль метилирования ДНК в канцерогенезе».

Рекомендуемые темы практических работ

- Практическая работа 1. «Инициация опухолевых клеток».
- Практическая работа 2. «Главные опухолевые супрессоры: pRb, p53».
- Практическая работа 3. «Специфика онкогенеза рака молочной железы».
- Практическая работа 4. «Апоптоз как основной механизм программируемой клеточной гибели».
- Практическая работа 5. «Теломераза и теломеры в лечении опухолей».

Рекомендуемые темы контрольных работ

1. Опухолевые супрессоры. pRb. p53.
2. Апоптоз – активация программируемой клеточной гибели.

Перечень рекомендуемых средств диагностики и методики формирования итоговой оценки

В качестве формы текущей аттестации магистрантов по учебной дисциплине рекомендован зачет.

Для текущего контроля качества усвоения знаний студентами можно рекомендовать использовать следующий диагностический инструментарий:

- тесты – выполнение заданий в тестовой форме;

- устный опрос на практических занятиях;
- отчет – защита отчета о выполнении практической работы.

Примерный перечень заданий для управляемой самостоятельной работы обучающихся (УСР)

Тема 1. **Генетический контроль клеточного цикла.** Регуляция клеточного цикла. Циклины. Циклин-зависимые киназы. Повреждения ДНК. Виды разрывов ДНК. Дополнительная регуляция клеточного цикла белком p53. Роль генетической регуляции клеточного цикла в развитии клетки.

Тема 2. **Онкогены.** Открытие онкогенов. Идентификация онкогенов. Механизмы активации протоонкогенов: мутации, амплификации, перестройки генома. Онкогены в системе передачи сигналов. Основные переносчики сигналов: PDGF, тирозинкиназа, G-белки.

Тема 3. **Цитокины.** Классификация цитокинов и их рецепторов. Взаимодействие цитокинов и опухолевых клеток. Онкогенные формы цитокинов. Цитокины в противоопухолевой терапии. Применение цитокинов.

Тема 4. **Роль теломеразы в канцерогенезе.** Работы Хейфлика по пределу количества деления клеток. Открытие теломер и теломеразы. Структура теломер. Субтеломерные повторы. Теломеризация клеток. Процесс иммортализации клеток человека.

Тема 5. **Эпигенез, роль метилирования ДНК в канцерогенезе.** Роль метилирования ДНК в нормальных клетках. Метилирование de novo. Основные ДНК-метилтрансферазы. Роль деметилирования ДНК в нормальных клетках. Нарушения метилирования ДНК при канцерогенезе. Механизмы нарушения метилирования при канцерогенезе

Описание инновационных подходов к преподаванию учебной дисциплины

При организации образовательного процесса используется

1) **эвристический подход**, который предполагает:

- осуществление магистрантами лично-значимых открытий окружающего мира;
- демонстрацию многообразия решений большинства профессиональных задач и жизненных проблем;
- творческую самореализацию обучающихся в процессе создания образовательных продуктов;
- индивидуализацию обучения через возможность самостоятельно ставить цели, осуществлять рефлекссию собственной образовательной

деятельности (самостоятельное планирование и постановка эксперимента, анализ результатов).

2) **метод учебной дискуссии**, который предполагает участие магистрантов в целенаправленном обмене мнениями, идеями для предъявления и/или согласования существующих позиций по определенной проблеме.

Использование метода обеспечивает появление нового уровня понимания изучаемой темы, применение знаний (теорий, концепций) при решении проблем, определение способов их решения (обсуждение результатов собственных экспериментов и исследовательских работ, отраженных в публикациях последних лет).

3) **методы и приемы развития критического мышления**, которые представляют собой систему, формирующую навыки работы с информацией в процессе чтения и письма; понимания информации как отправного, а не конечного пункта критического мышления (работа с литературой и написание реферата по заданной теме).

4) **метод группового обучения**, который представляет собой форму организации учебно-познавательной деятельности обучающихся, предполагающую функционирование разных типов малых групп, работающих как над общими, так и специфическими учебными заданиями (работа в малых группах при выполнении практических работ).

Методические рекомендации по организации самостоятельной работы обучающихся

При изучении учебной дисциплины рекомендуется использовать следующие формы самостоятельной работы:

- поиск (подбор) и обзор литературы и электронных источников по индивидуально заданной проблеме курса;
- выполнение домашнего задания;
- работы, предусматривающие решение задач и выполнение упражнений, выдаваемых на практических занятиях;
- изучение материала, вынесенного на самостоятельную проработку;
- подготовка к практическим занятиям;
- подготовка к зачету;
- научно-исследовательские работы;
- статистическая обработка данных, полученных во время практических занятий, анализ результатов с привлечением литературных источников;
- подготовка к участию в конференциях и конкурсах.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Перечень основной литературы

1. Канцерогенез / Под ред. Д.Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.: ил.
2. Наследственный рак молочной железы: генетическая и клиническая гетерогенность, молекулярная диагностика, хирургическая профилактика в группах риска / Л.Н. Любченко [и др.] // Успехи молекулярной онкологии. – М.: ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 2014. – № 2. – С. 16-25.
3. Основы молекулярной биологии клетки / Б. Альбертс и др. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2018. – 768 с.
4. Патология опухолевого роста. Канцерогенез: методическое пособие для студентов / Под ред. О.Д. Мишнева, Г.В. Порядина. – М.: РГМУ, 2002. – 41 с.
5. Рак предстательной железы: учебное пособие / В.Н. Павлов [и др.]. – Уфа: ФГБОУ ВО «БГМУ» Минздрава РФ, 2018. – 50 с.

Перечень дополнительной литературы

1. Бокуть, С. Б. Молекулярная биология: молекулярные механизмы хранения, воспроизведения и реализации генетической информации : учебное пособие / С. Б. Бокуть, Н.В.Герасимович, А.А.Милютин. - Минск : Вышэйшая школа, 2005 .- 463 с .
2. Киселев Ф.Л. Молекулярная онкология: от вирусной теории к лечению рака / Ф.Л. Киселев, Е.Н. Имянитов, Н.П. Киселева, Е.С. Левина. – М.: ГЕОС, 2013 – 152 с.
3. Куликов, Е.П. Рак молочной железы: учебное пособие / Е.П. Куликов, Б.М. Варенов. – Рязань: ФПДО, 2002. – 75 с.
4. Gelmann E.P. Molecular Oncology: Causes of Cancer and Targets for Treatment / E.P. Gelmann, Ch.L. Sawyers, F.J. Rauscher. – Cambridge: Cambridge University Press, 2014. – 979 p.
5. Camacho J. Molecular Oncology: Principles and Recent Advances / J. Camacho. – Cambridge: Bentham Science Publishers, 2012. – 237 p.
6. Клетки / под ред. Б. Льюина и др.; пер с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний , 2011. – 951 с.
7. Малиновская, Ю. В. Особенности цитогенетического и молекулярно-генетического статуса опухолей молочной железы женщин из различных регионов Беларуси : автореф.дис. ... кандидата биологических наук : 03.01.01 / Ю. В. Малиновская, Международный государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова. - Минск :

[б.и.], 2014 .

8. Проблемы канцерогенеза : методические рекомендации для студентов по биологическим специальностям вузов / сост.С.М.Ленивко. - Брест : БрГУ, 2007 . – 35 с .

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

ПРОТОКОЛ СОГЛАСОВАНИЯ УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЫ
ПО ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ
С ДРУГИМИ ДИСЦИПЛИНАМИ СПЕЦИАЛЬНОСТИ

1 – 31 80 01 Биология

Название дисциплины, с которой требуется согласование	Название кафедры	Предложения об изменениях в содержании учебной программы по изучаемой учебной дисциплине	Решение, принятое кафедрой, разработавшей учебную программу (с указанием даты и номера протокола)
Цитология и гистология	Кафедра зоологии, физиологии и генетики	Согласовано	Рекомендовать к утверждению учебную программу в представленном варианте протокол № от 2020
Молекулярная биология	Кафедра зоологии, физиологии и генетики	Согласовано	Рекомендовать к утверждению учебную программу в представленном варианте протокол № от 2020
Генетика	Кафедра зоологии, физиологии и генетики	Согласовано	Рекомендовать к утверждению учебную программу в представленном варианте протокол № от 2020

ДОПОЛНЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ К УЧЕБНОЙ ПРОГРАММЕ
ПО ИЗУЧАЕМОЙ УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЕ
на ____ / ____ учебный год

№№ п/п	Дополнения и изменения	Основание

Учебная программа пересмотрена и одобрена на заседании кафедры
(протокол № 3 от 05.10.2020 г.)

Заведующий кафедрой
д.б.н., профессор

_____ Г.Г. Гончаренко

УТВЕРЖДАЮ
Декан биологического факультета
УО «ГГУ им. Ф. Скорины»
д.б.н., профессор

_____ В.С. Аверин

Глоссарий

А

Аденин, А [adenine, А, гр. aden – железа и лат. -in(e) – подобный] – пуриновое азотистое основание, 6-аминопурин. А. содержится во всех живых клетках в составе нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), аденозинфосфорных кислот, циклического АМФ, коферментов (НАД, НАДФ) и др. В ДНК аденин комплементарен тимину (см.) и образует с ним две водородные связи.

Аденозинтрифосфат (АТФ) – рибонуклеозид-5-трифосфат, участвующий в энергетическом цикле клетки в качестве донора фосфатной группы.

Аденома – доброкачественная опухоль молочной, щитовидной и др. желез, а также желез слизистых оболочек, например, желудка.

Аденилациклаза - фермент класса лиаз; катализирует реакцию образования циклического 3', 5'-аденозинмонофосфата (цАМФ) из аденозинтрифосфата (АТФ). А. обнаружена в цитоплазматических мембранах практически во всех типах клеток животных, а также у бактерий. Функционирует в составе встроенного в мембрану белкового комплекса, включающего в числе прочих белков гормональный рецептор, расположенный на внешней стороне клеточной мембраны, и локализованную на внутренней её стороне. А. После взаимодействия определённых гормонов (в т. ч. адреналин, глюкагон, некоторые гормоны гипофиза) с рецептором сигнал поступает к А. Следствием этого является образование цАМФ, который через сложную цепь реакций активирует многие ферменты в клетке (в т. ч. протеинкиназы) путём их фосфорилирования. Таким образом, А., опосредуя действие гормонов, участвует в регуляции важнейших биохимич. процессов: обмен гликогена, синтез белка, катаболизм липидов, образование стероидов, изменение проницаемости мембран. Активность А. ингибируется инсулином и простагландинами.

Аденоканкроид – редкий вид рака желудка, состоящий из атипических клеток железистого и плоского эпителия.

Адьювантный – значит вспомогательный. То есть такой, который помогает, оказывает поддержку.

Алкилирующие вещества – это искусственно созданные (синтетические) вещества. Они используются как цитостатики и тормозят (блокируют) рост раковых клеток. Алкилирующие вещества действуют таким образом: они плотно присоединяются к ДНК клетки и/или к определённым белками в клеточном ядре. И тогда в клетке начинает разрушаться её наследственный материал. Благодаря этому клетки перестают делиться, то есть они больше не растут.

Аллель – это разновидность или одна из форм одного и того же гена, который находится в паре гомологичных (то есть во многом схожих) хромосом. Два аллеля одного гена располагаются в одинаковом участке (локусе) гомологичных хромосом. Один аллель передаётся по наследству от папы, другой - от мамы. То есть каждый из родителей передаёт ребёнку по наследству только один из своих аллелей.

Аллогенная трансплантация стволовых клеток – пересадка больному стволовых клеток донора. Условием для аллогенной трансплантации является максимальная тканевая совместимость донора и больного. Стволовые клетки получают из крови или костного мозга.

Амбулаторно – т.е. медицинское обслуживание без полной госпитализации. В диагностических и лечебных целях пациент не остаётся на ночь в медицинском учреждении, а может в тот же день уходить домой.

Аминокислота – органическое соединение, содержащее аминогруппу ($-NH_2$) и карбоксильную группу ($-COOH$). Известно 20 основных аминокислот входящих в состав белков. Общая формула для аминокислоты: $NH_2-CR-COOH$, где R –это радикал, специфичный для каждой отдельной аминокислоты.

Амплификация (*amplification*) – процесс увеличения (размножения) количества нитей ДНК, числа копий гена (см. Амплификация генов).

Амплификация гена MYCN – это увеличение количества копий онкогена MYCN, то есть такого гена, который вызывает рак. Многократное количество копий этого онкогена можно найти, например, у некоторых пациентов с такими формами рака как нейробластома или медуллобластома. Поэтому амплификация (то есть увеличение) определённого онкогена, например, онкогена MYCN, связано с появлени-

ем и/или дальнейшим ростом некоторых форм рака. Раковые клетки, в которых есть онкоген MYCN являются очень устойчивыми (в медицинской терминологии это называется резистентными) к химиотерапии и лучевой терапии.

Амплификация генов (*gene amplification*) – 1. Увеличение числа копий гена в данной клетке или в пробирке методом ПЦР — полимеразной цепной реакции (см.). 2. Любой процесс, при котором специфическая последовательность ДНК увеличивается непропорционально родительским клеткам. В течение развития некоторые гены амплифицируются в специализированных тканях, напр., рибосомные гены амплифицируются и активно функционируют в течение оогенеза, особенно в ооцитах некоторых амфибий. Гены у дрозофилы, кодирующие белки хорионов, также амплифицируются в овулирующих фолликулярных клетках.

Анамнез – история болезни.

Анаплазия – утрата клеткой ее нормальных характеристик или дифференцировки, которая может быть до такой степени сильной, что невозможно бывает даже установить происхождение клетки. Анаплазия часто встречается у быстро растущих злокачественных опухолей.

Ангиогенез – это процесс образования новых кровеносных сосудов в органе или ткани, в ходе которого первичная сосудистая сеть сокращается до более простой и четкой системы капилляров, артерий и вен. В норме ангиогенез в организме активизируется при регенерации поврежденных тканей, ликвидации очагов воспаления, образовании рубца и т.д. В опухолевых же тканях ангиогенез протекает постоянно и очень интенсивно, что является одной из причин быстрого роста злокачественных опухолей, так как они очень хорошо кровоснабжаются и получают значительные количества питательных веществ, лишая их здоровые ткани организма.

Ангиография – это визуализация кровеносных сосудов. В русло сосуда вводится особый рентгеноконтрастный препарат. Сразу после этого делается серия снимков. Такие снимки называются ангиограммами.

АНРИ (ANDI) – сокращенное название, характеризующее аномальное развитие и инволюцию; применяется для определения доброкаче-

ственных опухолей груди.

Антиген – субстанция, которая попадает из вне; организм распознаёт её как чужую. Она побуждает иммунную систему к формированию антител. Может вызвать в организме аллергическую реакцию.

Антиген онкофетальный – белок, в норме вырабатываемый только тканями плода; иногда его присутствие в организме человека можно обнаружить в случае развития у него некоторых опухолей. Примером такого антигена является карциноэмбриональный антиген, который служит в качестве опухолевого маркера.

Антиген опухолевый – вырабатываемый злокачественными клетками белок. Его наличие в крови может быть установлено путем простого анализа крови; этот анализ используется для диагностики злокачественной меланомы и некоторых других видов опухолей на самой ранней стадии их развития, когда они лучше всего поддаются лечению.

Антиоксидант – вещество, способное нейтрализовать свободные радикалы кислорода. Обладает высокой химической активностью; способно разрушать атомы и химические группы, образующиеся при различных заболеваниях, вследствие воздействия на организм некоторых ядовитых веществ, радиации, никотина, а также ряда других факторов. Человеческий организм обладает своими собственными естественными антиоксидантами, однако врачи проявляют все больший интерес к возможности контроля за ростом клеток и их уничтожением с помощью дополнительных антиоксидантов. Наиболее известными антиоксидантами являются витамин С (аскорбиновая кислота), витамин Е (токоферол) и бета каротин. В настоящее время накапливается все больше фактов, подтверждающих, что эти вещества способны снизить вероятность развития ряда серьезных заболеваний у человека (злокачественные опухоли, атеросклероз).

Антитела – субстанции (белки), которые формирует собственная иммунная система организма как защитную реакцию на попавшие в организм инородные частицы (антигены), прицельно направляя их против проникшего антигена.

Антиэстрогены – вещества, подавляющие биосинтез и секрецию или ослабляющие действия эстрогенов (см.). В клинике используется пре-

парат тамоксифен.

Апоптоз – процесс программированной гибели клетки, которая происходит при нормальном развитии, функционировании и обновлении тканей. Морфологическими признаками апоптоза являются изменения клеточной мембраны ("отшнуровывание" пузырьков, так называемых апоптотических телец), распад клеточного ядра, уплотнение хроматина и фрагментация ДНК. Клетки, подвергшиеся апоптозу, распознаются макрофагами и другими фагоцитирующими клетками и быстро элиминируются. При апоптозе не развивается воспалительный процесс. Отличается от некроза, при котором гибель клетки обусловлена действием внешних факторов (стресс или токсины).

Б

BRCA (англ. breast cancer type susceptibility protein) – группа генов-супрессоров опухоли человека, которые отвечают за восстановление ДНК и определяют восприимчивость к раку молочной железы. Ген BRCA1 данного семейства располагается на длинном плече 17-й хромосомы в локусе 17q21 и включает 24 экзона, 22 из них кодируют соответствующий белок BRCA1. Белок состоит из 1863 аминокислот и включает несколько функциональных участков, основными из которых являются три: RING-домен, расположенный на N-конце, BRCT-домен на C-конце белка, SCD-домен, обеспечивающий процесс фосфорилирования белка BRCA1. Наличие функциональных доменов обуславливает взаимодействие BRCA1 с другими белками, в комплексе с которыми он играет ключевую роль в процессах ДНК-репарации двухцепочечных разрывов по механизму гомологичной рекомбинации. Также белок BRCA1 участвует в прохождении клеткой контрольных точек между G1-S и G2-M1, регуляции транскрипции, перестройке хроматина, входит в холофермент РНК-полимеразы II.

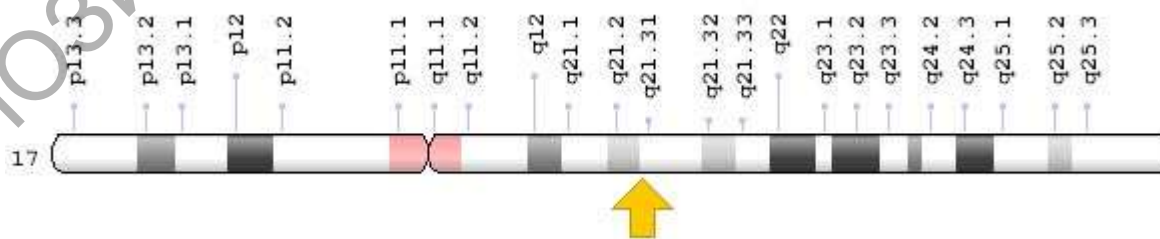


Рисунок 1 - Расположение гена BRCA1.

Ген BRCA2 базируется на длинном плече 13-й хромосомы в позиции 13q12.3, включает 26 экзонов и кодирует белок из 2329 аминокислот. Главной функцией белка BRCA2 является регуляция ядерной

локализации белка-рекомбиназы RAD51. Этот комплекс инициирует процесс гомологичной рекомбинации. Также в его функции входит контроль правильности прохождения фазы митоза клеткой.

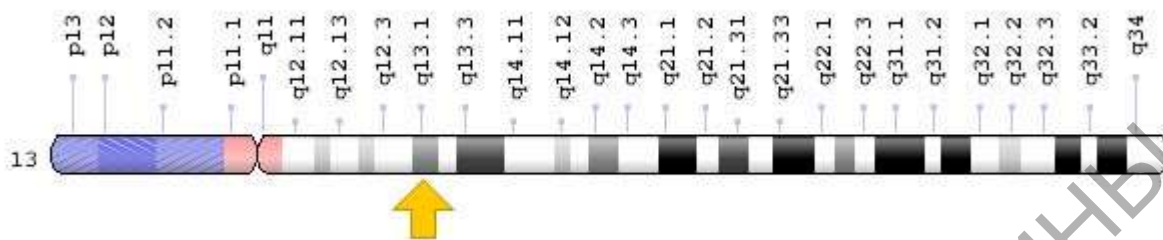


Рисунок 2 - Расположение гена BRCA2.

Значительную часть структурных нарушений BRCA относят к точечным, небольшим делециям/инсерциям (выпадение/вставка одного или нескольких нуклеотидов). Большинство вариантов приводит к сдвигу рамки считывания матричной РНК и синтезу укороченного нефункционального белка. Частые мутационные перестройки объединяют термином hotspot. Наиболее распространенным вариантом является 5382insC — добавление (инсерция) одного нуклеотида — цитозина — в позиции 5382 в 20 экзоне гена BRCA1. Образуется «преждевременный» стоп-кодон в позиции 1829. В итоге синтезируется укороченный белок BRCA1 с нарушенной функцией. Данная перестройка является причиной значительного (от 68 до 90 %) числа случаев семейного РМЖ и РЯ. Также у пациентов с РМЖ и РЯ отмечены частая встречаемость аллелей BRCA1 4154delA и BRCA1 185delAG. Это делеции (утрата) нуклеотидов: 4154delA — аденина; 185delAG — аденина и гуанина. Для BRCA2 также характерны варианты, приводящие к сдвигу рамки считывания: 6174delT — делеция тимина; 886delGT — делеция двух нуклеотидов (гуанина и тимина).

Бензапирен — это полициклический ароматический углеводород, содержащий пять бензольных колец. Обладает высокой химической устойчивостью и свойством биоаккумуляции. Вызывает канцерогенное, мутагенное, эмбриотоксическое и др. воздействия. В природе возникает при лесных пожарах и извержениях вулканов. Является продуктом сжигания различных видов топлива и отходов.

Биополимеры — высокомолекулярные органические соединения, входящие в состав живых организмов (белки, полисахариды, нуклеиновые кислоты).

Биопсия (от латинского "био" — жизнь и "опсия" — смотрю) — это прижизненное взятие тканей из организма и последующее их микро-

скопическое исследование после окраски специальными красителями. Биопсия является одним из самых распространенных, а при ряде онкологических заболеваний и обязательным методом исследования при установлении диагноза.

Брахитерапия (brachytherapy) – рентгенотерапия, при которой источник рентгеновского излучения располагают вблизи опухоли или внутри нее. Этот метод применяется для лечения многих видов опухолей (например, рака молочной железы).

Бронхография – рентгеновское исследование легких после введения в бронхиальное дерево контрастного вещества.

В

Варикозный (cirroid) – данный термин используется для описания растянутой, содержащей большое количество узелков варикозно-расширенной вены, а также для описания одной из разновидностей опухолей черепа (пещеристой аневризмы (cirroid aneurysm)), являющейся артериовенозной аневризмой.

Величина генома (*genome size*) – количество пар оснований (п.о.) ДНК в расчете на гаплоидный геном; иногда (что неверно) понятие В.г. используется для обозначения весового содержания ДНК (в пикограммах на клетку). По последним данным В.г. составляет: у бактерий– $2 \cdot 10^6$ п.о., нематод– $1 \cdot 10^8$ п.о., насекомых– $2,3 \cdot 10^9$ п.о., моллюсков– $1,6 \cdot 10^9$ п.о., рыб– $1,4 \cdot 10^9$ п.о., птиц– $1,2 \cdot 10^9$ п.о., млекопитающих– $2,6 \cdot 10^9$ п.о., человека– $3 \cdot 10^9$ п.о., голосеменных– $1,6 \cdot 10^{10}$ п.о.

Вирусы – формы внеклеточной жизни, которые состоят из ДНК (ДНК-вирусы: аденовирусы, бакуловирусы, геминивирусы и др.) или РНК (РНК-вирусы: бромовирусы, ретровирусы и др.) и белковой оболочки. Вирусы не содержат клеточных органелл и используют для репликации метаболизм клетки хозяина. Клетка хозяина может быть разрушена в процессе репликации, и вирус освобождается из клетки.

Вирхова метастазы – метастазы в лимфатические узлы левой надключичной области. Является признаком запущенности рака желудка или пищевода.

Г

G-белки – белки, локализованные на внутренней поверхности плазматической мембраны, которые соединены с гуанозин три- и дифосфатами (ГТФ и ГДФ). Передают сигналы с внешней стороны мембраны через трансмембранные рецепторы (G-белок сопряженный рецептор) к аденилатциклазе, которая катализирует формирование внутри клетки вторичного переносчика - циклической АМФ.

Гастронома (gastrinoma) – редкая опухоль, производящая чрезмерное количество гормона гастрина, вызывая у человека развитие синдрома Золлингера-Эллисона. Эти опухоли чаще всего образуются в поджелудочной железе; примерно половина их является злокачественными.

Гемангиома – доброкачественная опухоль кровеносных сосудов. Часто образуется на поверхности кожи, напоминая родимое пятно.

Гемостаз – (haimatos – кровь, stasis – остановка) – остановка кровотечения. Естественный гемостаз за счет механизмов свертываемости крови происходит при повреждении небольших кровеносных сосудов. При нарушении свертываемости, а также при повреждении или преднамеренном рассечении средних и крупных кровеносных сосудов, особенно артериальных, самопроизвольная остановка может не наступить.

Ген – основная физическая и функциональная единица наследственности, несущая информацию от одного поколения к другому. Г. представляет собой специфическую последовательность нуклеотидов в ДНК, а у некоторых вирусов — в РНК, детерминирующих или нуклеотидную последовательность транспортных РНК (тДНК), или рибосомных РНК (рДНК), или последовательность аминокислот в белках. Как правило, Г. состоят из кодирующих (экзоны) и не кодирующих (интроны) последовательностей. Интронные последовательности чаще всего встречаются у эукариот. Любой Г., занимает строго определенное место, или локус, в хромосоме и может мутировать в различные аллельные состояния, а также рекомбинировать с гомологичными генами. Действие Г. проявляется в фенотипе. По выполняемым функциям Г. подразделяют на 3 класса: а) структурные Г., которые транскрибируются на ДНК, а затем транслируются на рибосомах в полипептидные цепочки; б) структурные Г., которые транскрибируются в рРНК или тРНК и сами непосредственно используются; в) регуляторные Г., которые не транскрибируются, но служат сайтами узнавания

для ферментов и др. белков при репликации и транскрипции ДНК. Термин введен В. Иогансеном в 1909 г. и нередко заменяется понятиями "наследственный фактор".

Гены-супрессоры (антионкогены) – гены, кодирующие ключевые регуляторные белки, потеря которых влечет за собой нарушения контроля пролиферации.

Гены-модуляторы – гены, способствующие распространению опухоли в организме, но не отвечающие за злокачественную трансформацию клетки непосредственно.

Геном (genom) – совокупность генов, характерных для гаплоидного набора хромосом данного вида организмов. Основным гаплоидный набор хромосом.

Геномная ДНК (geitomic DNA) – 1. Вся хромосомная ДНК организма; 2. Ядерная ДНК в клетках эукариот (см. Дезоксирибонуклеиновая кислота).

Гепатома (hepatoma) – злокачественная опухоль печени, развивающаяся из зрелых клеток печени.

Гетерогенность (heterogeneity) – (в онкологии) наличие клеток внутри опухоли, которые обладают разными свойствами.

Гипертрофия (hypertrophy, hypertrophia) – увеличение размеров какой-либо ткани или органа, связанное с увеличением входящих в ее состав клеток, а не с их усиленным размножением (как во время нормального роста ткани или образования в ней опухоли). Мышцы претерпевают такое изменение в ответ на увеличение их нагрузки.

Гиперхроматизм (hyperchromatism) – свойство ядер некоторых клеток (например, опухолевых) окрашиваться сильнее по сравнению с другими, нормальными клетками.

Гипотеза Б. Хюбнера и Д. Тодаро о вирогене и онкогене (1961 г) – это гипотеза, согласно которой генетическую информацию, необходимую для синтеза онковирусов, содержат все до единой клетки позвоночных. В составе ДНК любой клетки есть вирусная ДНК (вироген), содержащая несколько генов, кодирующих синтез составных ча-

стей вируса, и ген (гены), кодирующий синтез «трансформирующего» белка, вызывающего нарушения внутриклеточных процессов и перерождение клетки. Этот ген (гены) Хьюбнер и Тодаро назвали онкогеном.

Гормонально-зависимые опухоли – злокачественные новообразования, чей рост связан с гормональными нарушениями, в лечении которых гормонотерапия может оказать эффект.

Гормонотерапия – метод лечения. В онкологии гормонотерапия используется чаще всего в лечении рака молочной железы.

Гуанин, Г [guanine, G, исп. *huani* – навоз и лат. *-in(e)* – суффикс, обозначающий «подобный»] – пуриновое основание (2-амино-6-оксипурин), комплементарное цитозину (см. *Цитозин, Ц*) в нуклеиновых кислотах, содержится во всех живых клетках в составе ДНК и РНК, входит в состав гуанозина. Г. – структурный компонент низкомолекулярных коферментов, исходное вещество при биосинтезе птеринов, рибофлавина, фолиевой кислоты. Нуклеотид Г. (гуанозинтрифосфат, ГТФ) участвует в синтезе белка, активации жирных кислот, цикле трикарбоновых кислот, глюконеогенезе.

Д

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) — высокомолекулярный полимер, состоящий из четырех дезоксирибонуклеотидов (А, Т, Ц, Г), аperiodическим чередованием которых кодируется генетическая информация вирусов, бактерий и высших организмов. ДНК может быть однонитчатой (ssДНК), как, напр., у некоторых вирусов, или двунитчатой (dsДНК) у всех высших организмов. У двунитчатой ДНК две комплементарные нити закручены в спираль, одна нить вокруг другой с противоположной ориентацией (антипараллельны, 5' → → → 3' и, наоборот, 3' → → → 5'). Две нити удерживаются вместе водородными связями между комплементарными основаниями (А = Т; Г = Ц). ДНК способна к самоудвоению, что обеспечивает генетическую преемственность между поколениями в процессе размножения. Нарушение последовательностей нуклеотидов в цепи ДНК приводит к наследственным изменениям — мутациям.

Двойное контрастирование – метод рентгенологического исследования органов желудочно-кишечного тракта, заключающийся в одно-

временном введении контрастного вещества и газа.

Деструкция (*destructio*; лат. разрушение) – в патоморфологии разрушение тканевых, клеточных и субклеточных структур.

Дискариоз – аномальное состояние клетки, когда ее ядро имеет ряд признаков, свидетельствующих о раннем этапе перерождения клетки в злокачественную опухоль, в то время как клеточная цитоплазма остается совершенно нормальной. Наблюдается, например, в чешуйчатых и столбчатых эпителиальных клетках мазка, полученного из шейки матки.

Дисхондроплазия – состояние, возникающее в результате неполного окостенения хряща и проявляющееся в образовании многочисленных доброкачественных хрящевых опухолей. Пораженные болезнью кости могут перестать расти и начать деформироваться.

Дифференциация – степень сходства опухолевых клеток с клетками того органа, из которого эта опухоль происходит. Опухоли классифицируются как хорошо, умеренно и плохо дифференцируемые.

ДНК-лигаза – фермент, который катализирует образование фосфодиэфирных связей между соседними нуклеотидами в молекуле ДНК. Связи образуются между C–C, C–S, C–O и C–N за счет энергии сопряженной реакции гидролиза. В технологии рекомбинантной ДНК используются в основном две ДНК-л., выделенные из *E. coli* и *T4*. ДНК-л. соединяет две молекулы ДНК путем лигирования (см.) тупых или липких концов. Впервые была выделена Б. Вейсом и К. Ричардсоном в 1966 г.

ДНК-матрица – последовательности оснований ДНК (РНК), служащие в качестве основы для синтеза комплементарных нитей нуклеиновых кислот (см.).

ДНК-полимеразы (*DNA-polymerases*) – ферменты, участвующие в синтезе ДНК. У *E. coli* были выделены 3 типа ДНК-п.: *pol I*, *pol II* и *pol III*. *Pol III* является основным ферментом, ответственным за репликацию (см.) ДНК в клетке бактерий. Два др. фермента функционируют преимущественно при восстановлении (репарации) ДНК. Эукариоты содержат множество видов ДНК-п., находящихся в разных частях клетки: в ядре, цитоплазме или митохондриях, и выполняют

различные функции, такие, как репликация, репарация и рекомбинация.

Доброкачественный – 1. Используется для описания незлокачественных опухолей, т.е. таких, которые не разрушают ткань, в которой образуются, и не образуют метастаз; 2. Используется для описания любого расстройства или состояния, не приводящего к развитию болезни.

Доклинический период – длительный этап бессимптомного течения новообразования.

Домен – участок полипептидной цепи белка, выполняющий какую-либо его функцию (например, цитоплазматический Д., трансмембранный Д. и т.п.); каждый Д. кодируется участком гена, расположенным между соседними интронами (т.е. одним экзоном), что обуславливает эволюционный консерватизм положения интронов (например, в генах гемоглобина млекопитающих); также Д. – дискретный участок хромосомы, спирализующийся независимо от соседних участков (доменов) или обладающий повышенной чувствительностью к ДНКазе.

Ж

Железа – орган, образованный железистыми эпителиальными клетками, синтезирующими и выделяющими определенные вещества, которые либо используются организмом в процессе его жизнедеятельности, либо удаляются из него. Существуют две основные группы желез: экзокринные железы, продукты секреции которых выделяются через протоки, и эндокринные железы, продукты секреции которых – гормоны – попадают непосредственно в кровеносное русло.

З

Заболеваемость – развитие у человека какого-либо заболевания. Коэффициент заболеваемости характеризуется числом случаев возникновения какого-либо заболевания, которое приходится на некоторую определенную численность населения (обычно он выражается числом случаев возникновения заболевания, приходящимся на 100.000 или на миллион человек (для некоторых заболеваний последнее число может быть и меньше)). Ежегодные сведения о коэффициентах заболеваемо-

сти позволяют судить о распространенности различных заболеваний; по ним можно оценить, какое количество новых случаев болезни было зарегистрировано за прошедший год.

Злокачественный – 1. Данный термин используется для описания опухолей, которые быстро распространяются и разрушают окружающие их ткани, а также могут метастазировать, т.е. поражать другие участки организма, попадая в них через кровеносную и лимфатическую системы. При отсутствии необходимого лечения такие опухоли приводят к быстро прогрессирующему ухудшению состояния здоровья человека и его смерти; 2. Данный термин используется для описания любого заболевания, при котором жизни человека угрожает опасность, если не предпринять никаких мер его лечения (например, злокачественная гипертензия).

И

Иммортализация – превращение нормальных эукариотических клеток с ограниченным временем жизни в культуре в клеточную линию, обладающую способностью к неограниченному размножению; один из этапов злокачественного перерождения клетки (онкогенеза).

Инвазия – распространение рака на соседние нормальные ткани; инвазия является одной из главных характеристик злокачественности опухоли.

Индикатор – вводимое в организм вещество, по продвижению которого можно судить о протекающих в организме обменных процессах. Например, испускающие рентгеновское излучение радиоактивные индикаторы могут быть распознаны на сцинтиграмме или с помощью гаммакамеры; они широко применяются для диагностирования различных заболеваний щитовидной железы; также они используются для выявления у человека опухоли головного мозга.

Инициация – (в онкологии) первая стадия развития раковой опухоли.

Интегрины — это трансмембранные гетеродимерные клеточные рецепторы, взаимодействующие с внеклеточным матриксом и передающие различные межклеточные сигналы. От них зависит форма клетки, её подвижность, они участвуют в регулировке клеточного цикла.

Интерлейкины – группа молекул, входящих в состав цитокинов, которые продуцируются клетками иммунной системы и получили название "гормоны клеток иммунной системы". Необходимы для кооперации клеток иммунной системы в реализации этапов иммунного ответа. В настоящее время описано около 20 видов интерлейкинов

In vitro (лат.), "в пробирке" — биологические процессы, смоделированные при их экспериментальном изучении в условиях изоляции от всего (целого) организма, т. е. "в пробирке", напр., культура ткани, фермент-субстратная реакция и т.д.

In vivo — выращивание живого материала в естественных условиях.

К

Канцерофобия – изменение личности, характеризующееся навязчивым страхом заболеть раком и приводящее к принудительному выполнению некоторых действий (особенно, часто повторяющееся мытье рук, смена одежды, которая соприкасалась с другими людьми, боязнь дышать тем воздухом, которым дышали другие, и даже избегание любых контактов с другими людьми). Самые незначительные симптомы любой болезни такие люди интерпретируют как развитие у них раковой опухоли, что вызывает у них приступы панического страха. Как и в случае других навязчивых страхов, канцерофобия не может быть излечена путем убеждения больного. В некоторых случаях удастся добиться успеха в лечении этого заболевания с помощью различных видов поведенческой терапии.

Канцероген (от лат. *cancer* – рак и греч. genes – рождённый), он же карциноген (от англ. *carcinogen*: греч. *karkinos* – краб и греч. genes – рождённый) – химическое вещество или физическое излучение, которое при попадании в живой организм может привести к развитию злокачественной опухоли. Известными канцерогенами являются ионизирующее излучение и многие химические соединения, содержащиеся, например, в табачном дыме и во многих отходах промышленного производства. Они приводят к повреждению ДНК клеток, которое может сохраняться, если деление клеток произошло до того момента, как это повреждение было устранено. В поврежденных клетках со временем может развиться раковая опухоль. Врожденная предрасположенность к раку также, возможно, играет важную роль в развитии у человека этого заболевания под действием различных канцерогенов.

Канцерогенез – возникновение и развитие злокачественной опухоли из нормальной клетки. Промежуточные стадии канцерогенеза иногда называют предраковой (premalignant) или неинвазивной (preinvasive или noninvasive) формой.

Каспазы (англ. caspases) – протеазы, ферменты имеющие цистеин в активном сайте и разрезающие белки-мишени по аспарагиновой кислоте.

Кахексия – резко выраженное похудание, вызванное, например, недостаточным питанием, туберкулезом, злокачественной опухолью или паразитирующими в организме человека гельминтами.

Киназы – ферменты, катализирующие перемещение фосфатной группы из высокоэнергетического положения (как в АТФ) в другую молекулу.

Классификация TNM – классификация степени распространения злокачественной опухоли в организме, разработанная Американским комитетом по борьбе с раком. Буква T характеризует размер опухоли, N – наличие и степень поражения лимфатических узлов, а M – наличие удаленных от места развития опухоли метастазов.

Клеточное деление — процесс репродукции клеток, в результате которого из исходной материнской клетки образуются новые, дочерние. У многоклеточных организмов клеточное деление лежит в основе роста и развития, а также регенерации тканей и органов; у одноклеточных организмов клеточное деление — по существу процесс размножения самого организма. Благодаря клеточному делению обеспечивается непрерывность существования последовательных поколений клеток и целых организмов.

Клеточный цикл – жизнь клетки с момента ее образования в процессе деления материнской клетки до собственного деления или до гибели. Клеточный цикл эукариот включает период клеточного роста (интерфазу) и период клеточного деления (митоз). Период клеточного роста состоит из нескольких стадий: G1-фазы, или фазы начального роста, во время которой идет синтез мРНК, белков, других клеточных компонентов; S-фазы, во время которой идет репликация ДНК клеточного ядра, также происходит удвоение центриолей (если есть); G2-

фазы, во время которой идет подготовка к митозу. Период клеточного деления включает две стадии: кариокинез (деление клеточного ядра); цитокинез (деление цитоплазмы).

Кодон – последовательность из трех рядом стоящих нуклеотидов в ДНК или РНК, кодирующая определенную аминокислоту либо начало и конец трансляции (см.), т. е. это дискретная единица генетического кода. Всего возможно 64 сочетания нуклеотидов в триплетах – 61 из них кодирует 20 аминокислот, а 3 являются нонсенс-кодонами (см. Стоп-кодон).

Компьютерная томография – метод исследования, при котором, как и при других рентгенологических методах, используются рентгеновские лучи (х-лучи). Однако, в отличие от обычной рентгенографии, КТ позволяет получить снимок определенного поперечного слоя (среза) человеческого тела. При этом организм можно исследовать слоями шагом в 1 мм. А главное, с помощью КТ можно увидеть структуры, которые не видны на обычных рентгенограммах. При КТ лучи попадают на специальную матрицу, передающую информацию в компьютер, который обрабатывает полученные данные о поглощении х-лучей организмом человека и выводит изображение на экран монитора. Таким образом, фиксируются мельчайшие изменения поглощаемости лучей, что, в свою очередь, и позволяет увидеть то, что не видно на обычном рентгеновском снимке. Для усиления «видимости» в организм могут вводиться контрастные вещества, которые, заполняя определенные пространства, упрощают распознавание тех или иных патологических процессов.

Контрольная точка – это стадия в эукариотическом клеточном цикле, на которой клетка анализирует внутренние и внешние сигналы и «решает», стоит ли продвигаться дальше в процессе деления. Существует как минимум четыре контрольных точки клеточного цикла: точка в G1, где проверяется интактность ДНК, перед вхождением в S-фазу; сверочная точка в S-фазе, в которой проверяется правильность репликации ДНК; сверочная точка в G2, в которой проверяются повреждения, пропущенные при прохождении предыдущих сверочных точек, либо полученные на последующих стадиях клеточного цикла. В G2 фазе детектируется полнота репликации ДНК, и клетки, в которых ДНК недореплицирована, не входят в митоз. В контрольной точке сборки веретена деления проверяется, все ли кинетохоры прикреплены к микротрубочкам.

Л

Лейкоз – своеобразные злокачественные поражения кроветворных органов, среди которых выделяют различные варианты (лимфаденоз, миелоз и др.), иногда объединяя их термином «гемобластозы».

Лиганд – небольшая молекула (например, активаторы, субстраты и ингибиторы активности фермента), связанная с белком нековалентными связями; ион или молекула, которая связывает другие химические компоненты, образуя сложный комплекс.

Лимфография – метод введения рентгеноконтрастного вещества в лимфатическую систему для рентгенологического исследования лимфатических сосудов и узлов, расположенных в какой-либо ее части. Лимфография помогает выявить наличие опухолей в лимфатической системе.

Лимфома – злокачественная опухоль лимфатических узлов, включая болезнь Ходжкина. Существует множество видов этих опухолей; прогнозируемая продолжительность жизни человека при некоторых из них составляет лишь несколько месяцев, в то время как при других она может насчитывать несколько лет. У больного обычно наблюдается множественное увеличение лимфатических узлов, общая потеря веса, повышение температуры и сильная потливость. Болезнь может распространиться, поражая несколько групп лимфатических узлов, или может ограничиться лишь каким-либо одним органом, например, миндалиной. Для лечения применяются такие лекарственные вещества, как хлорамбуцил, или сочетание циклофосфида, винкристина и преднизона (иногда к ним добавляется доксорубин и/или блеомицин); однако реакция на эти препараты часто оказывается очень сильной. Для лечения локализованной лимфомы может применяться лучевая терапия, к помощи которой прибегают после проведения больному курса медикаментозной терапии. Состояние пациентов с неходжкинскими лимфомами, которые плохо поддаются лечению с помощью химиотерапии, может быть значительно улучшено с помощью пересадки костного мозга.

М

Магнитно-резонансная томография – магнитно-резонансная томо-

графия (ядерно-магнитная резонансная томография, мрт, ямрт, pmr, mri) – нерентгенологический метод исследования внутренних органов и тканей человека. Здесь не используются х-лучи, что делает данный метод безопасным для большинства людей.

Маммография – рентгенография молочной железы или получение ее изображения с помощью инфракрасных лучей. Применяется для раннего обнаружения опухолей молочной железы.

Маммолог – специалист по заболеваниям молочной железы.

Маммотермография – метод исследования молочных желез на наличие в них опухолей или каких-либо других образований с помощью термографии.

Маркер опухолевый – вырабатываемое опухолевыми клетками вещество, по которому можно судить о размерах опухоли и эффективности проводимого лечения. Примером такого вещества является альфафетопротеин, по которому оценивается эффективность проводимого лечения при тератоме яичка.

Мастит – воспалительное заболевание молочной железы. Как правило, возникает на фоне кормления грудью и лактостаза (задержка молока в молочной железе). Значительно реже встречаются нелактационные (вне кормления грудью) маститы. Лечение включает антибактериальную терапию, хирургическое вмешательство (в случае гнойного процесса) и проч.

Метастаз (от греч . metastasis – перемещение) – вторичный патологический очаг, возникающий вследствие переноса с током крови или лимфы болезнетворных частиц (опухолевых клеток, микроорганизмов) из первичного очага болезни. В современном понимании метастаз обычно характеризует диссеминацию клеток злокачественной опухоли.

Метилирование – процесс присоединения к нуклеотиду метильной группы – в частности, в ДНК клеток животных «в норме» метилированы до 7% остатков цитозина, причем сателлитная ДНК обычно метилирована в значительно большей степени, чем ДНК структурных генов, у которых метилированная ДНК обычно ассоциирована с неактивным состоянием, а деметилированная – с активацией генов, ис-

ключением из этого правила является ген Об-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы, более экспрессированный при большем уровне М.; у бактерий процесс М. сайтов рестрикции (модификация) предохраняет ДНК от разрушения собственными эндонуклеазами и контролируется специфическими метилазами.

Миелография – специальный метод рентгенологического исследования, позволяющий наблюдать спинномозговой канал; он заключается во введении рентгеноконтрастного вещества в подпаутинное пространство. Получаемое с помощью рентгеновских лучей изображение называется миелограммой (myelogram). Миелография имеет важное значение для распознавания опухолей спинного мозга и других аномалий, приводящих к сдавлению спинного мозга или его корешков. Ранее в процессе выполнения миелографии использовались масляные красители, что иногда приводило к развитию у больных арахноидита. В настоящее время этого осложнения удастся избежать с помощью использования водного раствора рентгеноконтрастного вещества.

Микрометастаз – вторичная опухоль, которая не поддается диагностике при обычном клиническом обследовании или с помощью имеющихся в распоряжении диагностических тестов.

Митоген (mitogen) – любое соединение (продукты дегенерации, специфические митотические гормоны и др.), стимулирующее клетки к вступлению в митоз; фактор, вызывающий переход клеток из G₀-фазы к клеточному делению. Пример – факторы роста.

Митоген-активируемые киназы (МАРК) – это протеинкиназы, которые отвечают на внеклеточные стимулы (митогены) и регулируют многие клеточные процессы (экспрессию генов, деление, дифференцировку и апоптоз). Внеклеточные стимулы ведут к активации МАРК через сигнальный каскад (наприм., Ras/МАРК-каскад). К членам семейства МАРК относятся: белки Raf, киназы ERK1 и 2 (extracellular signal-regulated kinases); киназы MEK (MEKK, – mitogen activated extracellular kinases) и др.

Модификация – видоизменение, преобразование, характеризующееся появлением новых свойств.

Молекулярная биология – область биологии, исследующая проявление жизни на молекулярном уровне. Основное направление М. б. –

выяснение роли биологически важных молекул (белков, нуклеиновых кислот и др.) в росте и развитии организмов, хранении и передаче наследственной информации, превращении энергии в живых клетках и т. п. явлениях. М. б. включает в себя молекулярную генетику, молекулярную вирусологию, молекулярную иммунологию и т. д. М. б. сформировалась в середине XX в. и бурно развивается в наши дни.

Молекулярная генетика – раздел современной генетики, изучающий закономерности и молекулярные механизмы хранения, воспроизведения и передачи наследственных признаков.

Модификация – видоизменение, преобразование, характеризующееся появлением новых свойств.

Молекулярно-генетическая диагностика наследственных заболеваний – точная идентификация наследственных заболеваний на основе молекулярно-генетического анализа индивидуальных образцов ДНК (см. Саузерн-блот анализ, ДНК-фингерпринтинг, Секвенирование ДНК, ПЦР-технологии). Молекулярно-генетическая диагностика может давать точную идентификацию наследственных заболеваний на всех стадиях развития и жизни организма человека, начиная с восьмиклеточной бластулы (пре-эмбриона), всех эмбриональных стадий внутриутробного развития, пост эмбриональных стадий и т.д.

Мутаген – физический или химический агент, увеличивающий частоту мутаций по сравнению со спонтанным уровнем.

Мутаторы – гены, мутации которых повышают частоту возникновения спонтанных мутаций других генов (мутаторный эффект). Находясь в нормальном (немутантном) состоянии контролируют процесс, обеспечивающие точность воспроизведения (репликацию) и стабильность генетического материала путем репарации ошибок репликации и повреждений ДНК.

МЕК 1 и 2 (МЕКК, – mitogen activated extracellular kinases kinases) – митогенактивируемые экстрацеллюлярные киназы киназ, которые активируются путем фосфорилирования RAF белками. МЕК фосфорилируют ERK1 и 2, которые в свою очередь фосфорилируют факторы, поступающие в ядро.

Н

Неинвазивный – 1. Термин используется для характеристики методов исследования или лечения, во время которых на кожу не оказывается никакого воздействия с помощью игл или различных хирургических инструментов; 2. Термин используется для описания опухолей, которые не распространяются на окружающие ткани.

Неоангиогенез – это опухоль-ассоциированный ангиогенез, который характеризуется развитием в опухолевых тканях новых кровеносных сосудов. Новообразованные капилляры в опухоли имеют фрагментированную базальную мембрану, что создает условия для легкого проникновения опухолевых клеток в кровяное русло.

Неоплазма – любое новое или аномальное разрастание: например, любая доброкачественная или злокачественная опухоль.

Ножка – узкая полоска ткани, соединяющая некоторые опухоли с нормальной, здоровой тканью, из которой они развиваются.

Нуклеиновая кислота – универсальный биополимер, состоящий из рибо- или дезоксирибонуклеозидмонофосфатов, соединенных фосфодиэфирными связями, образованными между 5'-фосфатом одного нуклеотида и 3'-гидроксилем следующего; молекулярная масса Н.К. может достигать 10¹⁰; различают (по типу входящих сахаров) 2 основных типа Н.К. – ДНК и РНК, главная роль Н.К. – хранение и передача генетической информации; термин «Н.К.» предложен в 1889 (впервые Н.К. обнаружена в лейкоцитах человека Ф. Мишером в 1868).

Нуклеотиды – органические вещества, состоящие из пуринового или пиримидинового основания, сахара рибозы (дезоксирибозы) и фосфорной кислоты; составная часть нуклеиновых кислот и многих коферментов (НАД, НАДФ, кофермента А и др.). Являются мономерами нуклеиновых кислот. Н. также называют нуклеозидфосфатами: аденозинмонофосфат (АМФ), гуанозинмонофосфат (ГМФ), цитидинмонофосфат (ЦМФ), уридинмонофосфат (УМФ) и тимидинмонофосфат (ТМФ). Н. являются некоторые макроэргические соединения, напр. АТФ.

О

-ома (греч. *ома* – принадлежность к опухоли) – суффикс, обозначающий опухоль.

Онко- (греч. *onkos* – тяжесть)– приставка, обозначающая опухоль.

Онкобелки – это белки, кодируемые онкогенами и способствующие трансформации нормальных клеток в опухолевые. Основная часть онкобелков представлена аналогами нормальных клеточных белков (протоонкобелков), кодируемых протоонкогенами, контролирующими процессы регуляции роста, пролиферации и дифференциации клеток.

Онкоген – ген некоторых вирусов и клеток млекопитающих, который может вызывать развитие злокачественных опухолей. Возможно, он экспрессирует специальные белки (факторы роста), которые регулируют деление клеток; однако при определенных условиях этот процесс может выйти из-под контроля, в результате чего нормальные клетки начинают перерождаться в злокачественные.

Онкогенез – развитие новообразований (доброкачественной или злокачественной опухоли).

Онколизис – разрушение опухолей и опухолевых клеток. Этот процесс может проходить самостоятельно или, чаще, в ответ на применение различных лекарственных веществ или лучевой терапии.

Онкология – наука, изучающая происхождение различных опухолей и методы их лечения. Часто она подразделяется на терапевтическую, хирургическую и радиационную онкологию.

Опухолевая (онкогенная) трансформация - превращение нормальных клеток в опухолевые в результате накопления генетич. мутаций и эпигенетич. перестроек. Этиологич. основой О. т. является длительное воздействие химич., физич. (радиационных) и микробных канцерогенных факторов, в связи с чем в организме происходит накопление множества мутаций, хотя до сих пор не удаётся установить, какие из них ведут к О. т., способствуя опухолевой прогрессии, а какие являются нейтральными, возникающими в клетках с нестабильным геномом просто как сопутствующие им «пассажиры». Иначе говоря, не

выявлен ни один онкоген, способный вызвать О. т. клеток, не подвергавшихся иммортализации (продлению времени их жизни) в условиях лабораторного эксперимента, однако комбинации онкогенов могут вызывать их злокачественные О. т. Кроме того, в процессе эволюции, вероятно, сформировались разл. внутр. «противоопухолевые» механизмы, напр. апоптоз, старение клеток, которые препятствуют воздействию мутаций, стимулирующих рост тканей. Поэтому появление злокачеств. опухолей требует мутационной потери мн. генов, в т. ч. тех, которые регулируют апоптоз и старение клеток. Генетич. перестройки вследствие воздействия канцерогенных факторов могут происходить как в соматич., так и в половых клетках, причём мишенями этого воздействия являются 4 класса генов: протоонкогены, регулирующие пролиферацию и дифференцировку клеток; гены-супрессоры опухолей (антионкогены), подавляющие пролиферацию; гены, способствующие гибели клеток посредством апоптоза; *теломеразы* и гены, ответственные за репарацию ДНК. Важный механизм О. т. – нестабильность генома вследствие нарушения репарации ДНК, что наблюдается при ряде наследств. болезней (неполипозный рак толстой кишки, *ксеродерма пигментная*, анемия Фанкони и др.). К эпигенетич. механизмам О. т. относятся метилирование генов, образование микроРНК и синтез гистонов (см. Эпигенез).

Опухолевый атипизм – качественное и количественное отличие свойств опухоли от нормальной (аутологичной) ткани (из которой произошло новообразование), а также от других патологически измененных тканей (например, гипертрофированных, атрофированных, рубцовой). Опухолевый атипизм проявляется большим числом аномальных признаков, характеризующих рост, метаболизм, структуру и функции новообразованных клеток и опухолевой ткани в целом.

Опухолевый супрессор (ген-супрессор, антионкоген) – это ген, продукт которого обеспечивает профилактику опухолевой трансформации клеток путем препятствия их вступлению в деление и выходу из дифференцированного состояния. Белковые продукты генов-супрессоров называют белками-супрессорами или антионкобелками.

Опухоль – любое новообразование. Данный термин обычно применяется по отношению к аномальному разрастанию ткани, которое может быть как доброкачественным, так и злокачественным.

П

p53 (белок p53) – это транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл. p53 выполняет функцию супрессора образования злокачественных опухолей, соответственно ген TP53 является антионкогеном.

pRb (белок ретинобластомы, англ. retinoblastoma protein) – белок супрессора опухоли, дисфункционального при некоторых тяжелых формах рака. Одной из функций pRb является предотвращение прогрессии чрезмерного роста клеток путем ингибирования клеточного цикла, пока клетки не будут готовы к делению. Когда клетка готова к делению, pRb фосфорилируется, становится неактивным и позволяет прогрессировать клеточному циклу.

Пальпация – обследование какой-либо части тела с помощью пальцев рук. Благодаря пальпации во многих случаях можно различить консистенцию имеющейся у человека опухоли (твердая она или кистозная). С помощью пальпации также определяется положение плода в матке.

Папиллома – доброкачественная опухоль на поверхности кожи или слизистых оболочек, по своему внешнему виду напоминающая небольшой сосочек.

Предраковый – данный термин применяется по отношению к любой незлокачественной опухоли, которая может переродиться в злокачественную без соответствующего лечения.

Предрасположенность – склонность к развитию у человека какого-либо заболевания. Эта склонность может быть наследственной или развиться в результате недостатка витаминов, питания или сна у человека.

Полимеризация – третья стадия цикла ПЦР в ходе которой при увеличении температуры в реакционной смеси *in vitro* с 50°C до 72°C *Tag*-полимераза удлиняет оба праймера с их 3'-концов до размеров матричной нити ДНК. Этот процесс протекает в течении 90 секунд. В результате количество ДНК удваивается. Фермент *Tag*-полимераза был выделен из термофильных бактерий *Thermus aquaticus*, и отличается устойчивостью к высокой температуре. При температуре 70°C

гибрид праймер-ДНК не денатурирует, а *Taq*-полимераза способна работать с большой скоростью.

Полимеразная цепная реакция, ПЦР (*polymerase chain reaction, PCR*) – процесс амплификации *in vitro*, при котором фрагмент ДНК длиной до 15 кб может быть амплифицирован (размножен) до 10^8 раз (копий). Для этого синтезируются два праймера размером в 10-30 нуклеотидов, комплементарных последовательностям на двух концах исследуемой ДНК. Избыточное количество этих двух олигонуклеотидных праймеров смешивается с геномной ДНК, смесь нагревается для денатурации дуплексов ДНК до 90°C . При последующем снижении температуры до 50°C праймеры присоединяются к их геномным гомологам и могут с помощью ДНК-полимеразы удлиниться, т. е. на ДНК-матрице синтезируется вторая цепь. Последовательный процесс (цикл процессов) денатурации, отжига праймера и его удлинения повторяется 20-40 раз. В результате происходит экспоненциальное увеличение копий изучаемой ДНК. За 25 амплификационных циклов количество целевых последовательностей ДНК увеличивается приблизительно в 10^6 раз. Для синтеза новых цепей ДНК используются термостабильные ДНК-полимеразы (*Taq*-полимераза, *Vent*TM-ДНК-полимераза). В н. вр. ПЦР нашла широкое распространение в молекулярной биологии и на ее основе разработано множество методов анализа геномов. Имеет место также инвертированная полимеразная цепная реакция, т. е. модификация обычной ПЦР, позволяющая амплифицировать неизвестные последовательности ДНК, прилежащие к коровой области известной последовательности.

Полимеразная цепная реакция с произвольными праймерами (*arbitrarily primed polymerase chain reaction, AP-PCR*) – модификация стандартного метода ПЦР, позволяющая осуществлять амплификацию целевых последовательностей ДНК с помощью произвольно взятых праймеров, без предварительного знания нуклеотидных последовательностей данного генома.

Полуконсервативная репликация – способ репликации двухцепочечной молекулы ДНК, при котором исходная молекула разделяется на две цепи (с образованием репликативной вилки), каждая из которых служит матрицей для синтеза второй (новой) комплементарной полинуклеотидной цепи; гипотеза П.Р. была выдвинута Дж. Уотсоном и Ф. Криком одновременно с идеей о двойной спирали ДНК, а доказана опытами М. Мезельсона и Ф. Сталя по переносу меченой ДНК с

использованием метода центрифугирования в градиенте плотности хлорида цезия.

Принцип комплементарности – пространственная взаимодополняемость (взаимное соответствие) поверхностей взаимодействующих молекул или их частей, приводящая, как правило, к образованию вторичных (Ван-дер-Вальсовых, водородных, ионных) связей между ними. Уникальность и прочность комплементарных структур определяется высокой избирательностью, большой площадью взаимодействия на уровне атомных группировок или зарядов по принципу «ключ - замок» (комплексы антиген – антитело и фермент – субстрат, четвертичная структура белков, вторичная и третичная структура нуклеиновых кислот). Наиб. ярко К. проявилась в структуре двуспиральных ДНК и РНК, где две полинуклеотидные цепи образуют в результате комплементарного взаимодействия пар пуриновых и пиримидиновых оснований (А-Т, Г-Ц) двуспиральную молекулу. Уникальная вторичная и третичная структура одноцепочечных полинуклеотидов (тРНК, рРНК) также определяется комплементарным спариванием оснований с образованием «петель» и «шпилек» вдоль по цепи. К. лежит в основе мн. явлений биол. специфичности, связанных с «узнаванием» на молекулярном уровне.

Провирусная гипотеза Х. Темина (1961 г) – это гипотеза, согласно которой ретровирусы происходят из подвижных генетических элементов клетки и могут играть функциональную роль, как межклеточные мессенджеры, переносящие генетическую информацию между клетками организма, в том числе между соматическими и половыми клетками.

Пролиферация – образование новых клеток путём митоза; лежит в основе роста и дифференцировки тканей в процессе индивидуального развития, обеспечивает обновление клеток и внутриклеточных структур. При патологических процессах, сопровождающихся повреждением органов и тканей, с помощью пролиферации устраняется образовавшийся дефект и нормализуется нарушенная функция. Интенсивность пролиферации регулируется стимуляторами и ингибиторами, вырабатываемыми как вдали от реагирующих клеток (напр., гормонами), так и внутри них.

Промоция – размножение опухолевой клетки и образование первичного опухолевого узла.

Протеазы – ферменты, катализирующие гидролиз белков, то есть расщепление пептидных связей, которыми соединены остатки аминокислот в белковых молекулах. Синоним: пептидазы.

Протеинкиназы – ферменты, катализирующие присоединение к молекуле белка фосфатной группы (групп) в местах расположения остатков серина, треонина или тирозина.

Протоонкоген (proto-oncogene) – ген, контролирующий нормальную пролиферацию или дифференцировку клеток, который в результате соматической мутации или транспозиции может превращаться в онкоген; в норме протоонкогены кодируют протеинкиназы (напр., гены семейства c-src), мембранно-связанные белки (семейство c-ras), факторы роста и их рецепторы.

ПЦР-амплификации – см. полимеразная цепная реакция (ПЦР), амплификация генов.

ПЦР технологии – различные методы размножения (амплификация) ДНК с помощью ПЦР.

Р

Raf-белки – это серин/треониновые киназы, активируемые с помощью Ras-белков. Состоят из двух доменов, из которых С-терминальный является каталитическим. Известны три изоформы Raf – А, В и С. Каждая изоформа различается по активности. Raf путем фосфорилирования активирует одну из цитоплазматических MAPK – MEK – серин/треониновую киназу (прежде известную как MAP киназа киназа, MAPKK). Далее следует каскад последовательной активации протеинкиназ. Непосредственно MEK или другие MAPK фосфорилируют факторы, поступающие в ядро.

Ras/MAPK-путь – сложный разветвленный путь внутриклеточной передачи сигнала у эукариот. На этом пути сигнал от тирозинкиназного рецептора передается через ряд белковых посредников, ключевым из которых является белок Ras, на митогенактивируемые протеинкиназы (MAPK), которые последовательно активируя друг друга (Raf-MEK-ERK) путем фосфорилирования в конечном итоге фосфо-

рилируют транскрипционные факторы, поступающие в ядро. Следствием этого является изменение генной экспрессии, увеличение роста и дифференцировки клеток.

Ras-белки – регуляторные мембраносвязанные G-белки, состоящие из 189 аминокислотных остатков. Они осуществляют один из первых этапов передачи сигнала извне клетки и, как правило, регулируют размножение клеток. В соответствии с характером посттрансляционной модификации имеется три изоформы Ras: N, H и K. Некоторые мутации могут приводить к постоянной активации Ras, что нарушает регуляцию деления клеток. Ошибки в регуляции Ras могут привести к росту опухоли и метастазированию.

Rho ГТФазы — семейство клеточных сигнальных белков, «малых» (около 21 кДа) G-белков, относящихся к суперсемейству Ras. Белки этого семейства регулируют многие аспекты внутриклеточной динамики актина. Они обнаружены практически во всех клетках эукариот, включая дрожжи и некоторые растения. Наиболее изучены 3 белка этого семейства: Cdc42, Rac1 и RhoA. Rho ГТФазы являются молекулярными переключателями и играют важную роль в клеточной пролиферации, апоптозе, экспрессии генов и во множестве других общих клеточных функциях.

Радиочувствительные опухоли – новообразования, которые после облучения полностью исчезают, не сопровождаясь некрозом окружающих тканей.

Рак (cancer) – любая злокачественная опухоль, в том числе карцинома и саркома. Рак – это злокачественная опухоль из эпителиальной ткани. В зарубежной литературе термин "рак" нередко используется для обозначения всех злокачественных опухолей, независимо от их тканевого состава и происхождения. Развивается из-за аномального и неконтролируемого деления клеток, которые начинают поражать и разрушать окружающие ткани. Распространение раковых клеток (метастазирование) происходит через кровоток, лимфоток, через плевральную и брюшную полости; при этом в организме больного вторичные опухоли могут развиваться вдали от места возникновения первичной опухоли. Каждая раковая опухоль обладает своими собственными характеристиками, склонностью к появлению метастазов и ведет себя в организме человека по-своему; например, костное метастазирование чаще всего наблюдается при раке груди, но очень редко при раке яич-

ника. Существует множество факторов, которые могут привести к развитию у человека раковой опухоли: например, табакокурение чаще всего вызывает рак легких, а радиационное излучение приводит к образованию некоторых видов костных сарком и лейкемии; известны различные вирусы, которые стимулируют рост опухолей. Генетические факторы также вносят существенный вклад в развитие у человека рака. Лечение зависит от типа, расположения первичной опухоли и степени ее метастазирования.

Резектоскоп – разновидность эндоскопа, применяющегося для резекции предстательной железы или удаления опухолей из мочевого пузыря.

Резонанс Ядерно-Магнитный – диагностический метод исследования, основанный на анализе поглощения и передачи высокочастотных радиоволн содержащимися в тканях молекулами воды при их помещении в сильное магнитное поле. Современные высокоскоростные компьютеры позволяют проводить данный анализ с фиксацией изменений тканевых сигналов в любой плоскости и таким образом получать изображения этих тканей. Это особенно важно при исследовании функции центральной нервной и костномышечной систем в организме человека, и в меньшей степени – для исследования грудной клетки и брюшной полости. Ядерно-магнитный резонанс находит широкое применение в ходе неинвазивной диагностики и планирования процесса лечения различных заболеваний, в том числе злокачественных опухолей: преимущество этого метода заключается в том, что он не оказывает никакого вредного воздействия на организм человека, в отличие, например, от рентгенографии, где используется потенциально вредное ионизирующее излучение.

Ремиссия – 1. Ослабление проявлений симптомов заболевания или их полное временное исчезновение во время болезни; 2. Уменьшение размеров злокачественной опухоли и ослабление симптомов, связанных с ее развитием.

Рентгеноструктурный анализ – один из важных методов исследования молекулярной организации клеток, основанный на использовании явления дифракции (огибания) рентгеновых лучей при пропускании их через объект. В зависимости от характера расположения молекул в пространственной решетке объекта на фотопластинке возникает изображение концентрических колец и дуг, по ширине которых и рас-

стоянию между ними определяют размеры и расположение молекул. На основе рентгеноструктурного анализа предложена схема строения молекулы ДНК.

Репаративная репликация – этап эксцизионной репарации, в процессе которого происходит зашивание образовавшихся брешей, осуществляемая в соответствии с принципами репликации ДНК с участием ДНК-полимеразы I.

Репаративные ферменты – набор специфических ферментов клетки, участвующих в процессе репарации; к Р.Ф. относятся нуклеазы, ДНК-полимераза I, фотореактивирующий фермент – дезоксирибозимидинфототолиаза, участвующий в фотореактивации, а также ряд др. менее специфических для репарации ферментов – например, ДНКлигаза.

Репарация, репаративный синтез – восстановление нативной первичной структуры молекулы ДНК (т.е. исправление повреждений, спонтанно возникающих в процессе репликации и рекомбинации или вызванных действием внешних факторов); различают фотореактивацию, эксцизионную и пострепликативную Р.; Р. осуществляется с помощью набора специфических репаративных ферментов; дефектность Р. ДНК наблюдается при некоторых наследственных заболеваниях человека – пигментной кератодерме, атаксии-телангиэктазии, анемии Фанкони, трихотиодистрофии и др.

Репликация – процесс точного самовоспроизведения молекул нуклеиновых кислот, сопровождающийся передачей точных копий генетической информации в ряду поколений. Термин Р. в основном используется для определения процесса синтеза новой нити ДНК на матричной нити ДНК с целью точного копирования информации, содержащейся в геноме. Р. ДНК является полуконсервативной. Основные стадии этого процесса включают разделение нитей ДНК с образованием репликативной вилки, связывание ДНК-полимеразы и добавление комплементарных нуклеотидов начиная с 3'-конца. Нить, непрерывно реплицирующаяся (ведущая цепь, лидирующая цепь нить), должна отделяться от др. (запаздывающей) нити, которая реплицируется прерывисто, короткими кусками (фрагменты Оказаки). После синтеза фрагменты Оказаки лигируются (с участием ДНКлигазы), образуя целую запаздывающую нить.

Репликативное старение – это состояние, при котором клетки с

накопленными повреждениями ДНК и истощением механизмов ее восстановления перестают делиться. Оно служит природным механизмом защиты от развития рака, но переводит клеточный метаболизм на синтез веществ, активирующих воспалительные реакции и оксидативный стресс (повреждение клеточных структур активными формами кислорода). Клетка может находиться в таком состоянии длительное время, не подвергаясь апоптозу. Накопление состарившихся клеток приводит к возрастным изменениям тканей и всего организма.

Ретровирусы – это семейство РНК-вирусов с оригинальной системой репликации генома на основе механизма обратной транскрипции.

Рецептор – локализованный в плазматической мембране трансмембранный белок, способный связываться с лигандом на наружной стороне мембраны и, тем самым, вызывать изменение активности на стороне, обращенной к цитоплазме. Часто используется для обозначения участка молекулы, который делает возможным связывание лигандов.

С

Саркома – злокачественная опухоль соединительной ткани. Такие опухоли могут развиваться на любом участке человеческого тела и не ограничиваются каким-либо отдельным органом. Эти опухоли могут развиваться в фиброзной ткани, мышцах, жировой ткани, костях, хрящах, суставах, крови и лимфатических сосудах, а также в некоторых других органах.

Саркоматоз – распространение множественных метастазов саркомы в различные органы тела человека, чаще всего через кровеносное русло. Для лечения саркоматоза применяются различные лекарственные вещества (обычно одно из приведенных ниже или их определенная комбинация): циклофосфамид, ифосфамид, винкристин, актиномицин D, метотрексат или доксорубицин. Прогноз заболевания крайне неблагоприятный.

Секвенирование ДНК (*DNA sequencing*) – метод определения последовательности оснований в молекуле ДНК. Существует несколько методов секвенирования: автоматическое, химическое, прямое, секвенирование по Максаму-Гил-берту, Сэнгеру и др.

Секвенирование ДНК по Максаму-Гилберту, химический метод (*Maxam-Gilbert sequencing or chemical s.*) – один из наиболее распространенных методов определения первичной последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК. Вначале ДНК режется на фрагменты размером 0,6-2,0 кб, концы фрагментов метятся радиоактивной или нерадиоактивной меткой и плавятся для получения однонитчатых молекул. Радиоактивное мечение может осуществляться изотопами серы ^{35}S или фосфора ^{32}P , нерадиоактивное мечение – с помощью биотиновой или флуоресцентной метки. После мечения образец ДНК разделяется на 4 части, каждую из которых обрабатывают реагентом, специфически разрушающим одно из четырех оснований ДНК. Условия реакции подбирают таким образом, чтобы на каждую молекулу ДНК приходилось лишь несколько повреждений. Когда эти повреждённые молекулы обрабатывают пиперидином, в ДНК образуется разрыв в том месте, где находилось разрушенное основание. В результате получается набор 5'-меченых фрагментов, длины которых определяются расстоянием от разрушенного основания до конца молекулы. Фрагменты, полученные в результате 4 типов реакции, подвергаются электрофорезу в полиакриламидном геле, и затем полосы выявляются соответствующим методом в зависимости от способа мечения. На основе результатов электрофореза определяются нуклеотиды и их последовательность в исходной ДНК.

Секвенирование ДНК по Сэнгеру, ферментативный метод (*Sanger sequencing or enzymatic method s.*) – техника секвенирования однонитчатой ДНК. В основе метода – присоединение к однонитчатой ДНК-матрицы секвенирующего праймера (обычно синтетических олигонуклеотидов). Реакционная смесь переносится в 4 пробирки, куда добавляются все 4 дезоксинуклеозидтрифосфата, один из которых мечен по ^{32}P . Каждая пробирка содержит также различные дидезоксинуклеозидтрифосфаты (ддАТФ, ддЦТФ, ддГТФ и ддТТФ). Для синтеза комплементарной цепи к однонитчатой последовательности матрицы в пробирки добавляется фермент ДНК-полимераза. В результате происходит удлинение праймера в соответствии с матричной последовательностью. Когда в растущую цепь вместо соответствующего дНТФ в матрице включается ддНТФ, 3'-конец растущей цепи теряет гидроксильную группу и не может дальше удлиниться: цепь терминируется. В итоге каждая реакционная смесь получит набор радиоактивно меченных фрагментов ДНК с общим 5'-концом (праймер), но с разными 3'-концами. После окончания реакции ДНК денатурируется, затем подвергается электрофорезу в по-

лиакриламидном геле и с помощью радиоавтографии выявляются радиоактивные полосы. Последовательность нуклеотидов в исходной ДНК-матрице может затем прочитываться прямо с радиоавтограммы.

Сигнальный пептид – участок из 15-30 аминокислотных остатков на N-конце белка, который, как полагают, участвует в секреции (прохождении через клеточную мембрану) белка. После выделения белка из клетки сигнальный пептид удаляется.

Синдром Ли-Фраумени – наследственный синдром с аутосомно-доминантным типом наследования, сопровождающийся ранним развитием опухолей (в первую очередь сарком, рака молочной железы, лимфолейкозов) и их множественностью у пациента.

Синдром Паранеопластический – признаки или симптомы, которые могут развиваться у больного злокачественной опухолью, хотя непосредственно они не связаны с воздействием на организм злокачественных клеток. Удаление опухоли обычно приводит к их исчезновению. Так, тяжелая псевдопаралитическая миастения является вторичным признаком наличия у человека опухоли вилочковой железы.

СОЭ, РОЭ, Скорость оседания эритроцитов – скорость, с которой оседают эритроциты, измеренная при стандартных условиях. СОЭ увеличивается, если в плазме крови возрастает содержание ряда белков (это может возникнуть при воспалении, ревматизме, хронических инфекционных заболеваниях, а также при образовании злокачественных опухолей).

Стадия – 1. стадия течения болезни; например, инвазивная стадия (*stadium invasionis*) – это период между заражением и проявлением первых симптомов болезни; 2. в онкологии – определение наличия и места возникновения метастаз первичной опухоли для планирования предстоящего курса лечения. Помимо клинического обследования существует множество других методов, в том числе и хирургических, с помощью которых можно более точно оценить состояние больного.

Стоп-кодон, нонсенс-к., терминатор – тринуклеотид в информационной РНК, сигнализирующий об окончании синтеза полипептида и освобождении полной полипептидной цепи от рибосомы (см.). Существует три различных типа С.-к.: УАГ (амбер), УГА (опал) и УАА (охра). Ни один из них не соответствует антикодону тРНК.

Т

Теломера – концевой участок хромосомы, иногда богатый гетерохроматином, играющим роль в сохранении целостности хромосомы за счет предотвращения слипания Т.; при концевых делециях возможно спонтанное «залечивание» Т. порциями гетерохроматина, локализованными в др. участках генома.

Теломераза – фермент группы трансфераз, контролирующей размер, количество и нуклеотидный состав теломер хромосом; впервые Т. была выделена у инфузории *Tetrahymena thermophila*, у которой в макронуклеусе может содержаться несколько десятков тыс. теломер, Т. представляет собой сложный рибонуклеопротеиновый комплекс (РНК, содержащая 159 нуклеотидов, является матрицей для синтеза мотива ТТГГГГ, до 100 повторов которого содержится в каждой теломере) с молекулярной массой около 500 кД.

Теломерная последовательность (повтор) – последовательность нуклеотидов, специфичная для концевых участков ДНК (хромосом), как правило, представленная многочисленными повторами олигонуклеотидов и необходимая для завершения репликации концевых последовательностей хромосом, а также, вероятно, играющая защитную роль; в частности, у позвоночных высококонсервативной является Т.П. (ТТАГГГ)_n, выявлена в теломерах всех хромосом более чем у 100 видов из основных классов – рыбы, амфибии, рептилии, птицы, млекопитающие; впервые Т.П. были описаны у инфузории *Tetrahymena pyriformis* (по 30-70 повторов гексануклеотида ААЦЦЦ) Э. Блэберном и Дж. Галлом в 1978.

Теория А. Зильбера – это вирусогенетическая теория происхождения злокачественных опухолей, согласно которой для трансформации нормальной клетки в опухолевую необходимо взаимодействие генома вируса и клетки, в результате которого образуется новый комплексный геном, а вирус остается в ее ядре в виде провируса.

Терапия адьювантная, Терапия вспомогательная – лечение цитотоксическими лекарственными препаратами, назначаемыми больным после хирургического удаления или радиотерапии первичной опухоли, когда в будущем высока вероятность рецидива ее развития из имеющихся в организме человека микрометастазов. Целью адъ-

ювантной терапии является разрушение этих вторичных опухолей; показана при некоторых формах рака молочной железы.

Терапия контактная – разновидность лучевой терапии, при которой радиоактивное вещество приводится в тесное соприкосновение с той частью тела, которая подвергается лечению. Игла или капсула с содержащимся в ней изотопом могут имплантироваться непосредственно в опухоль или вблизи нее, так что испускаемое этим изотопом излучение будет постепенно разрушать опухолевые клетки.

Терапия лучевая, Радиотерапия – терапевтическая радиология. лечение заболеваний с помощью проникающего излучения (такого как рентгеновское, бета- или гамма-излучение), которое может быть получено в специальных установках или в процессе распада радиоактивных изотопов. Радиоактивное излучение может направляться на пораженный участок тела больного, находясь на некотором расстоянии от него, или радиоактивное вещество может имплантироваться непосредственно в ткани тела в виде игл, проводков или таблеток. Лучевая терапия широко используется в процессе лечения многих злокачественных опухолей.

Термография – процесс регистрации тепла, исходящего от различных частей человеческого тела, с помощью чувствительной к инфракрасному излучению фотопленки. Получаемое в результате изображение называется термограммой. Исходящее от разных частей тела тепло меняется в зависимости от интенсивности кровотока через проходящие в ней сосуды; участки с нарушенным кровообращением выделяют меньшее количество тепла. Имеющая повышенное кровоснабжение опухоль выглядит на термограмме как "горячий" узел. Данный метод применяется в процессе диагностики опухолей груди (маммотермография (mammothermography)).

Тимин, Т [thymine, Т, лат. *thymus* - вилочковая железа и *-in(e)* - суффикс, обозначающий «подобный»] – пиримидиновое основание, 5-метилурацил. Тимин содержится во всех живых клетках в составе ДНК и транспортных РНК; структурный компонент некоторых коферментов углеводного обмена. В ДНК тимин. комплементарен аденину, образуя с ним 2 водородные связи. Синтетический аналог тимина – 5-бромурацил – сильный мутаген.

Тирозинкиназа, тирозин-специфическая протеинкиназа – фермент

подкласса протеинкиназ, катализирующий перенос фосфата от АТФ на тирозиновый остаток специфических клеточных белков-мишеней. Различные представители этой группы киназ вовлечены в процессы, регулирующие клеточный рост и дифференцировку. Активация тирозинкиназ индуцирует каскад различных процессов фосфорилирования. В результате происходит последовательная активизация ряда белков и вторичных проводников сигнала, которые обладают специфическими регуляторными функциями. Эти сигнальные импульсы достигают клеточного ядра и могут индуцировать экспрессию определенных генов.

Томография компьютерная – направление в диагностической рентгенологии, предназначенное для обследования мягких тканей тела. Например, с помощью компьютерной томографии можно выявить патологические изменения головного мозга (опухоль, абсцесс, гематома) непосредственно через кости черепа. Компьютерная томография состоит в регистрации срезов человеческого тела с помощью рентгеновского сканера (компьютерного томографа; эта запись затем объединяется с помощью компьютера для получения единого изображения в поперечном сечении.

Точка рестрикции (точка R) – наиболее чувствительная точка фазы G1 клеточного цикла. Дойдя до точки рестрикции, клетки обычно перестают делиться, пока не получат сигнала, побуждающего их вступить в следующую фазу. В точке рестрикции происходит торможение роста клеток при неблагоприятных условиях, например при увеличении их плотности или при голодании. В этом случае клетка может остановиться и выйти из цикла в фазу G0.

Трансформированные организмы – организмы с измененными наследственными свойствами в результате проникновения в них чужеродной ДНК.

Трансдукция (*transduction*) – передача (перенос) генетической информации от одной клетки (донора) к другой (реципиенту) с помощью вируса (бактериофага), что приводит к изменению наследственных свойств клеток; Т. была открыта Дж. Ледербергом и Н. Циндером в 1952 г. у *Salmonella typhimurium* и фага P22.

Трансферазы – класс ферментов (в классификации ферментов первая цифра – 2), катализирующих обратимые процессы переноса различ-

ных групп атомов (например, аминные, ацильные, фосфатные и др.) от одних молекул к другим; разделение на подклассы – в зависимости от структуры переносимой группы; известно около 450 Т.

Трансформация – 1. Перенос генетической информации в бактериальные клетки при помощи изолированной ДНК с участием или без участия плазмид (см.), но всегда без участия вирусов. 2. Направленная модификация генома клетки с помощью очищенной или рекомбинантной ДНК из клетки др. генотипа, которая интегрирует (включается) в геном модифицируемой клетки. 3. Изменение морфологии клетки или др. ее характеристик (напр., неопластического роста и др.), происходящее после интеграции нуклеиновой кислоты от онкогенных вирусов в клеточный геном, после воздействия химическими канцерогенами или спонтанно (онкогенная Т.(см.)). 4. Изменение наследственных свойств клетки в результате проникновения в нее чужеродной ДНК. Впервые обнаружена в 1928 г. у пневмококков Ф. Гриффитом.

У

Удаление – удаление ткани, части тела или опухоли, производимое обычно с помощью хирургического отсечения.

Урацил, У [uracil, U,] – пиримидиновое основание (2,4-диоксопиримидин), которое является компонентом рибонуклеиновых кислот и как правило отсутствует в ДНК, входит в состав нуклеотида. В составе нуклеиновых кислот может комплементарно связываться с аденином, образуя две водородные связи.

Ф

Фактор опухолевый некротический («рецепторы смерти») – специфический белок, вызывающий разрушение опухолевых клеток. Ген, кодирующий некротический опухолевый фактор, используется в экспериментальных генетических исследованиях, связанных с изучением и лечением злокачественных опухолей.

Факторы роста – это соединения, способные стимулировать рост, пролиферацию и/или дифференцировку живых клеток. Как правило, это пептидные или стероидные гормоны. Факторы роста функционируют как сигнальные молекулы для взаимодействия между клетками.

Примерами являются цитокины и гормоны, связываемые специфическими клеточными рецепторами.

Факторы транскрипции – вспомогательные белки, облегчающие РНК-полимеразам прохождение основных этапов транскрипции (инициацию, элонгацию и терминацию), а также обеспечивающие избирательный характер транскрипции (например, тканеспецифичную экспрессию генов путем взаимодействия с энхансерами).

Ферменты – вещества белковой природы, присутствующие во всех живых клетках, направляющие, регулирующие и многократно ускоряющие биохимические процессы в них; играют важнейшую роль в метаболизме.

Фиброма – доброкачественная опухоль соединительной ткани

Фосфорилирование – процесс переноса остатка фосфорной кислоты от фосфорилирующего агента-донора к субстрату, катализируемый ферментами и ведущий к образованию сложных эфиров фосфорной кислоты. В живых клетках фосфорилирование – один из наиболее распространённых видов посттрансляционной модификации белка. Процессы фосфорилирования и дефосфорилирования различных субстратов являются одними из важнейших биохимических реакций. Они катализируются особыми ферментами, выделяемыми в особый класс киназ, или иначе фосфотрансфераз.

Фотодинамическая терапия – метод основан на избирательном поглощении лазерного излучения опухолевыми клетками, которые фотосенсибилизированы порфирином. При последующем лазерном облучении в опухолевых клетках продуцируются токсические метаболиты кислорода, вызывающие гибель клеток самой опухоли (прямой эффект) и эндотелиальных клеток сосудов, кровоснабжающих опухоль (опосредованный эффект), что ведет к нарушению питания опухоли и ее некрозу.

Фотооблучение – недавно получивший свое развитие метод выявления и разрушения некоторых опухолей, в основе которого лежит реакция света на выделяемое из гематопорфирина вещество (на гематопорфириновое производное. После введения в организм человека этого вещества оно накапливается в клетках опухоли и начинает светиться при попадании на него ультрафиолетового излучения, позволяя та-

ким образом точно выявить место локализации опухоли. Затем опухоль освещается красным светом, который приводит к разложению этого вещества с освобождением высокоактивного кислорода, который разрушает опухолевые клетки, не повреждая при этом окружающих здоровых тканей.

Х

Химиотерапия Неоадьювантная – курс химиотерапии, проводимый непосредственно перед хирургическим удалением первичной опухоли для улучшения результатов операции или лучевой терапии и для предотвращения образования метастазов.

Хроматиды – (от греч. *chroma* – цвет и *eidos* – подобный) – продольные половинки хромосом, состоящие, в свою очередь, из хромонем. В последних различают хромофибриллы, содержащие ДНК. Хроматиды в качестве составной части хромосом выступают в период профазы и метафазы митоза. Позднее во время анафазы после расщепления хромосом на хроматиды каждая хроматида становится самостоятельным образованием и обозначается уже как дочерняя или сестринская хромосома. Термин «хроматида» предложен Мак Клунгом (1900).

Хроматин – (от греч. *chroma* – цвет) – сильно окрашивающееся основными красителями вещество клеточного ядра. Термин «хроматин» введен в литературу Флеммингом (1880).

Хромосома – нуклеопротеидная структура в ядре эукариотической клетки, в которой сосредоточена большая часть наследственной информации и которая предназначена для её хранения, реализации и передачи. Хромосомы четко различимы в световом микроскопе только в период митотического или мейотического деления клетки. Набор всех хромосом клетки, называемый кариотипом, является видоспецифичным признаком. В диплоидной клетке человека 46 хромосом, что составляет 6 пг ДНК. Общая длина гаплоидного набора (23 хромосом) составляет $3,2 \times 10^9$ пар нуклеотид. Истинное количество структурных генов составляет от 30-40 тысяч. В интерфазной клетке хромосомы представлены хроматином. При световой микроскопии хромосомы наблюдаются в митозе (митотические хромосомы).

Ц

Циклины – семейство белков-активаторов ферментов циклин-зависимых киназ (CDK). Без циклина CDK не активна. Прохождение клеточного цикла достигается путем последовательной активации и инактивации разных комплексов циклин-CDK. Механизм действия комплексов циклин-CDK заключается в присоединении фосфатной группировки (фосфорилировании) к белкам-мишеням. Основным результатом каскада сигнальных событий, происходящих вследствие связывания ростового фактора с рецептором на поверхности клетки, является активация комплекса циклин D-CDK4 и/или циклин D-CDK6. Комплексы циклин D-CDK4 и/или циклин D-CDK6 работают в течение фаз G₁, S и G₂ и в начале митоза. Этот комплекс фосфорилирует различные транскрипционные факторы белковой природы, необходимые для вступления клетки в S фазу. Также комплекс циклин D-CDK4/6 способствует синтезу циклина E.

Циклинзависимые киназы (англ. cyclin-dependent kinases, Cdk) – группа белков, регулируемых циклином и циклиноподобными молекулами. Большинство циклинзависимых киназ участвуют в смене фаз клеточного цикла; также они регулируют транскрипцию и процессинг мРНК. Циклинзависимые киназы являются серин/треониновыми киназами и фосфорилируют соответствующие аминокислотные остатки в белках.

Циклический аденозин монофосфат (цАМФ) – молекула-«мессенджер», регулирующая многие внутриклеточные реакции; участвует в молекулярных механизмах действия многих гормонов, передачи нервного возбуждения, мышечного сокращения и др.

Цистоскопия – исследование мочевого пузыря с помощью специального инструмента цистоскопа, вводимого в него через мочеиспускательный канал. Цистоскоп состоит из металлического цилиндра, окружающего телескоп, и осветительной системы. Орошающая жидкость, заливаемая в цилиндр, вводится в мочевой пузырь; кроме того, в стенке цилиндра оболочки имеется еще несколько дополнительных каналов для введения катетеров в мочеточники, диатермических электродов для удаления полипов и др., а также биопсийных щипцов для взятия образцов опухоли или каких-либо других тканевых разрастаний.

Цитозин, Ц [cytosine, C] – пиримидиновое основание, 2-окси-4-амино-пиримидин. Цитозин содержится во всех живых клетках в составе ДНК и РНК, входит также в состав некоторых коферментов и антибиотиков. Метилирование цитозина в ДНК с превращением его в 5-метилцитозин является важным процессом в регуляции транскрипции генов (см. *Метилирование*).

Цитокины – секретируемые белковые (полипептидные) медиаторы передачи сигналов между клетками, действующие через специфические рецепторы. К таким сигналам относятся сигналы активации, пролиферации, дифференцировки, программируемой клеточной смерти и некоторые другие.

Цитология Аспирационная – аспирация клеток из опухоли или кисты с помощью шприца и полой иглы и их дальнейшее микроскопическое изучение после специальной подготовки. В настоящее время данный прием используется очень широко, особенно для исследования поверхностных кист и опухолей; он выделился в специальное направление в диагностической цитологии.

Цитология Тонкоигольная Аспирационная – метод цитологического исследования образцов ткани, полученных с помощью тонкоигольной аспирации; позволяет провести анализ опухолевых клеток или клеток кисты. Применяется в диагностических целях для исключения вероятности присутствия злокачественных клеток в кистах молочной и щитовидной желез.

Э

Эксцизионные ферменты – ферменты, участвующие в процессе эксцизионной репарации и обеспечивающие «вырезание» повреждений (нуклеаза, ДНК-гликозидаза) и последующее «латание» образующихся брешей (ДНК-полимераза, ДНК-лигаза).

Эксцизионная репарация – процессы репарации двухцепочечной ДНК, включающие удаление поврежденного или неправильного участка одной цепи ДНК и его замену новым, синтезированным по матрице комплементарной цепи ДНК.

Экспрессия гена — реализация генетической информации, закодированной в ДНК, путем ее транскрипции и трансляции иРНК.

Энуклеация – хирургическая операция, во время которой производится полное удаление какого-либо органа, опухоли или кисты.

Эпидермальный фактор роста (ЭФР) – полипептид, состоящий из 53 аминокислотных остатков, стимулирующий деление эмбриональных тканей и эпителия. Образуется из трансмембранного белка-предшественника, содержащего 1168 аминокислотных остатков. Производится слюнными железами, а также другими экзо- и эндокринными железами. Содержится в крови, секретах, моче.

Эритроплазия – появление болезненных красных пятен на слизистой оболочке полости рта или половых органов, являющихся предвестником развития злокачественной опухоли.

Эстрогены – общее собирательное название подкласса стероидных женских половых гормонов, производимых, в основном, фолликулярным аппаратом яичников у женщин.

Эффекторные каспазы («казнящие каспазы») – это каспазы, принимающие участие в апоптозе путем расщепления множества белков, участвующих в поддержании гомеостаза и в репарации компонентов клетки, *белков-регуляторов клеточного цикла*, структурных белков и т.д. В результате действия эффекторных каспаз и активированных ими других ферментов (эндонуклеаз, гельзолина и т.д.) разрушаются компоненты клетки (внутриядерная ламина), нарушается целостность ДНК, происходит специфическая компактизация хроматина, наблюдается распад элементов цитоскелета, митохондрий, аппарата Гольджи, эндоплазматического ретикулума и т.д.,

4.3 ПЕРЕЧЕНЬ РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Перечень основной литературы

1. Канцерогенез / Под ред. Д.Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.: ил.
2. Молекулярные механизмы опухолевого роста / Б.А. Фролов, Н.М. Беляева. – Оренбург, 2007. – 127 с.
3. Наследственный рак молочной железы: генетическая и клиническая гетерогенность, молекулярная диагностика, хирургическая профилактика в группах риска / Л.Н. Любченко [и др.] // Успехи молекулярной онкологии. – М.: ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 2014. – № 2. – С. 16-25.
4. Основы молекулярной биологии клетки / Б. Альбертс и др. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2018. – 768 с.
5. Патология опухолевого роста. Канцерогенез: методическое пособие для студентов / Под ред. О.Д. Мишнева, Г.В. Порядина. – М.: РГМУ, 2002. – 41 с.
6. Рак предстательной железы: учебное пособие / В.Н. Павлов [и др.]. – Уфа: ФГБОУ ВО «БГМУ» Минздрава РФ, 2018. – 50 с.

Перечень дополнительной литературы

1. Бокуть, С. Б. Молекулярная биология: молекулярные механизмы хранения, воспроизведения и реализации генетической информации : учебное пособие / С. Б. Бокуть, Н.В.Герасимович, А.А.Милютин. - Минск : Вышэйшая школа, 2005 .- 463 с .
2. Киселев Ф.Л. Молекулярная онкология: от вирусной теории к лечению рака / Ф.Л. Киселев, Е.Н. Имянитов, Н.П. Киселева, Е.С. Левина. – М.: ГЕОС, 2013 – 152 с.
3. Куликов, Е.П. Рак молочной железы: учебное пособие / Е.П. Куликов, Б.М. Варенов. – Рязань: ФПДО, 2002. – 75 с.
4. Gelmann E.P. Molecular Oncology: Causes of Cancer and Targets for Treatment / E.P. Gelmann, Ch.L. Sawyers, F.J. Rauscher. – Cambridge: Cambridge University Press, 2014. – 979 p.
5. Camacho J. Molecular Oncology: Principles and Recent Advances / J. Camacho. – Cambridge: Bentham Science Publishers, 2012. – 237 p.
6. Клетки / под ред. Б. Льюина и др.; пер с англ. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний , 2011. – 951 с.
7. Малиновская, Ю. В. Особенности цитогенетического и молекулярно-генетического статуса опухолей молочной железы женщин

из различных регионов Беларуси : автореф.дис. ... кандидата биологических наук : 03.01.01 / Ю. В. Малиновская, Международный государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова. - Минск : [б.и.], 2014 .

8. Проблемы канцерогенеза : методические рекомендации для студентов по биологическим специальностям вузов / сост.С.М.Ленивко. - Брест : БрГУ, 2007 . – 35 с .

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ