УДК: 575.113+616-006-057:001.5

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ЗЛОЯКІСНОЇ ТРАНСФОРМАЦІЇ КЛІТИН ТА НАПРЯМИ ВИКОРИСТАННЯ ГЕНЕТИЧНОГО СКРИНІНГУ ПРАЦЮЮЧОГО НАСЕЛЕННЯ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ПРОФЕСІЙНОГО РАКУ: СИСТЕМАТИЧНИЙ ОГЛЯД

Варивончик Д.В.

Інститут медицини праці АМН України, м. Київ

Проведено аналіз інформації наукових досліджень з молекулярних і генетичних механізмів виникнення і життєдіяльності неопластичних клітин, прогресування онкологічної патології у людини під впливом канцерогенних факторів навколишнього середовища і виробництва. Систематизовано інформацію щодо зв'язків між змінами в генах (онкогенах, онкосупресорних, мутаторних) і розвитком онкологічної патології у людини. Визначено напрями використання молекулярно-генетичних методів скринінгу для первинної профілактики професійного раку.

Ключові слова: рак, гени, хромосоми, нестабільність геному, механізми злоякісної трансформації, теорії канцерогенезу, виробничі фактори, професійний рак, первинна профілактика, молекулярно-генетичний скринінг

Вступ

Онкологічна патологія є найактуальнішою проблемою сучасної охорони здоров'я, оскільки посідає друге місце в структурі смертності населення у всіх країнах Європи та в Україні. Щороку у світі від злоякісних новоутворень помирає близько 5 млн., в Україні — понад 90 тис. чоловік. Рівні захворюваності та поширеності онкологічної патології мають тенденцію до неухильного зростання протягом останніх десятиріч [19, 24, 29, 46].

Дослідженнями встановлено, що етіологія та патогенез онкологічної патології є мультифакторними, домінуюча роль у патогенезі їх виникнення належить генетичним змінам, які є успадкованими чи розвиваються під дією канцерогенних та мутагенних факторів, а онкологічна патологія належить до хвороб геному [2, 5, 20, 29, 46]. Протягом ХХ сторіччя сформувалося декілька етіопатогенетичних теорій раку: канцерогенна, вірусна, генетична [9, 11, 12, 38, 39, 43]. На сучасному етапі все більшої актуальності набуває молекулярно-генетична теорія раку, яка пояснює механізми виникнення злоякісної трансформації клітин за рахунок мутації чи структурної перебудови геному клітини під впливом великої кількості канцерогенних факторів хімічної, фізичної чи біологічної природи на фоні наявної спадкової схильності до накопичення таких мутацій чи перебудов геному.

Ранішими дослідженнями встановлено, що високий ризик виникнення онкологічної патології спостерігається серед працівників канцероген-небезпечних підприємств. Так, за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я та Міжнародної організації праці онкологічна патологія від 5 до 40% випадків викликана негативними впливами на хворого виробничих канцерогенних факторів. Вважається, що одним з напрямів зниження рівнів виробничо-обумовлених злоякісних новоутворень є оцінка індивідуального ризику її виникнення методами аналізу генотипу людини. Так, дослідженнями були встановлені зв'язки між схильністю до розвитку професійної патології та генотипом працівників при хронічному впливі: свинцю [10], фтору [6, 7], двоокису кремнію [14, 15], заліза [13], ароматичних вуглеводнів [26], стиролу [41, 45], нафтопродуктів [17] тощо.

Було доведено, що серед працівників канцероген-небезпечних виробництв спостерігаються молекулярно-генетичні та геномні ушкодження — розриви ДНК, хромосомні аберації тощо [16, 23, 52], що робить актуальним дослідження цих змін для первинної профілактики онкологічної патології, хоча деякими авторами заперечується раціональність використання генотипування працівників у попередженні професійного раку [53].

Тому метою нашої роботи було визначення доцільності використання генотипування для реалізації первинної профілактики онкологічної патології серед працівників канцероген-небезпечних підприємств.

Матеріали та методи дослідження

Проведено теоретичний аналіз світової та вітчизняної літератури методом систематичного огляду [27, 44].

Відбір інформації відбувався з використанням літературних джерел, ресурсів Інтернет (база даних Medline), реферативної збірки Всеросійського інституту наукової та технічної інформації (серія «Медицина», випуск «Медицина праці»).

Аналіз асоціацій онкологічної патології з генетичними змінами у людини проводили шляхом вивчення бази даних «Entrez Genome» Національної медичної бібліотеки США (www.ncbi.nlm.gov).

Результати дослідження та їх обговорення

1. Генетичні механізми виникнення та існування неопластичних клітин. Сучасні уявлення про роль генетичного фактору у виникненні і розвитку злоякісних новоутворень почали формуватись в 70-их роках ХХ сторіччя. Було встановлено, що рак — це хвороба геному. Ключову роль у виникненні та прогресуванні якого відіграють значні структурні молекулярно-біологічні порушення у генетичному апараті клітин, які виникають внаслідок молекулярних трансформацій в онкогенах, мутаторних та онкосупресорних генах під впливом канцерогенних факторів (хімічних, фізичних, біологічних) [9, 20, 29, 35, 39].

В організмі людини існують такі гени, що від них залежить розвиток онкологічної патології:

- онкогени — клітинні чи вірусні гени, експресія яких може привести до злоякісної трансформації клітини;
- протоонкогени — нормальні клітинні гени, підсилення чи модифікація функцій яких перетворює їх в онкогени;
- гени-опікуни (онкосупресорні та мутаторні гени) — нормальні клітинні гени, які захищають клітину від неопластичної трансформації, за рахунок контролю процесів реплікації ДНК та реалізації апоптозу при її порушенні [11, 21, 28, 29, 35, 46].

Пухлинні супресори (онкосупресори, антінкогени, рецесивні пухлинні гени) належать до клітинних генів, інактивація функцій яких призводить до виникнення та/чи прогресії злоякісного новоутворення, а відновлення їх експресії — гальмує подальше розмноження неопластичних клітин. Велика кількість онкосупресорних генів є одночасно і мутаторними генами. Причому, інактивація онкосупресорів дуже значно збільшує ймовірність виникнення онкогенних мутацій, а виникнення злоякісної пухлини стає лише ділом

часу. Мутаторні гени — порушення функції в яких веде до збільшення темпів виникнення мутацій та/чи інших генетичних змін [12, 29, 43, 46].

Критеріями для віднесення генів клітин до генів, від яких залежить виникнення онкологічної патології, є:

- 1) наявність закономірного характеру змін структури та/чи експресії даного гена в клітинах злоякісних новоутворень;
- 2) виникнення в юнацькому чи молодому віці певних форм пухлин серед осіб з успадкованими гермінативними мутаціями (в статевих клітинах) даного гена;
- 3) різке підвищення частоти проявів пухлин у трансгенних тварин, чи наявність у них експресії (для онкогенів), або інактивації мутації гену (для онкосупресорних генів);
- 4) здатність викликати в культивованих *in vitro* клітинах морфологічну трансформацію та/чи необмежений ріст (для онкогенів) чи пригнічувати клітинний ріст та/чи виразність ознак трансформації (для онкосупресорів) [11, 12, 29, 35].

Роль онкогенів та протоонкогенів у виникненні онкологічної патології. Характерними відмінностями онкогенів від генів диференційованих клітин є: зміна мішені у фосфорилуванні білків (з серину чи треоніну на тирозин), що призводить до порушення структури та функції білків цитоскелета із зміною адгезії клітин; білків мембрани з порушенням контактного гальмування; ядерних білків (гістонів) з порушенням реплікації ДНК та відсутність інтронів (табл. 1). Під впливом канцерогенних факторів чи вірусів відбувається перетворення генів диференційованої клітини (опс_с) на онкогени (опс_о) шляхами:

- структурної перебудови геному, в результаті якого поруч з опс_с з'являється новий регуляторний неонкогенний елемент (ретровірус чи ділянка іншого траслокованого гена), який забезпечує більш активну транскрипцію гена;
- структурної мутації в протоонкогені [11, 12, 29, 35].

Таблиця 1

Характерні відмінності онкогенів від генів диференційованих клітин

Особливості	Гени диференційованих клітин (опс _с)	Онкогени (опс _о)
Кодування протеїнкінази	серинової треонінової	тирозинової
Наявність інтронів	наявні	відсутні

До онкогенів належать: гени факторів росту та рецепторів до них, гени білків-передавачів сигналів від рецептору до ядра (протеїнкінази), гени білкових факторів транскрипції. Збільшення концентрації цих факторів веде до більш частого та неконтрольованого поділу клітин [3, 4, 29, 35].

Онковіруси є РНК-вірусами, до геному яких інтегрована зворотна транскриптаза, під впливом якої геном вірусу транскрибується у ДНК-форму з наступною інтеграцією в геном клітини-хазяїна у формі провірусу. Провірус є мобільним генетичним елементом і здатен проводити свою інтеграцію в будь-якому місці геному, стаючи онкогеном. Провірус, перебуваючи в складі геному клітини-хазяїна, при мітозі та мейозі передається дочірнім клітинам та нащадкам (табл. 2). У теперішній час роль онковірусів у розвитку лейкозів та раку печінки у людини вивчається [8, 29].

Роль онкосупресорів та мутаторних генів у виникненні онкологічної патології. Встановлено, що геном людини складається з декількох десятків онкосупресорів та мутаторних генів, зміни в яких можуть бути як вродженими, так і набутими. Так, ідентифіковано близько тридцяти таких генів і встановлено, що мутації лише в одному їх алелі є причиною виникнення великої кількості онкологічних захворювань (табл. 3). Також серед онкологічних хворих встановлено втрату кількох десятків ділянок хромосом, що свідчить про імовірну локалізацію у них пухлинних супресорних/мутаторних генів, яких на теперішній час ще не ідентифіковано [11, 12, 21, 29, 35].

Встановлено, що злоякісні новоутворення внаслідок порушення структури онкосупресорних чи мутаторних генів виникають як:

1) спадкові:

- при розвитку їх у дорослих осіб — за домінантним типом спадковості (один мутантний алель успадковується, а мутація в іншому виникає протягом життя);
- при розвитку їх у дитячому чи молодому віці — за рецесивним типом (обидва мутантних алелі успадковуються).

2) спорадичні — внаслідок дії мутагенних факторів на людину протягом життя з розвитком мутацій в обох алелях гену [11, 12, 29, 35].

В основі патогенетичних механізмів злоякісної трансформації внаслідок порушення структури онкосупресорних та мутаторних генів лежить порушення регуляції клітинного циклу, апоптозу, репарації ДНК [1, 3, 4, 11].

Нині встановлено участь 1406 генів людини у розвитку онкологічної патології і канцерогенезі. Серед них встановлено специфічну участь 213 ключових генів, розподіл яких між хромосомами наведено на рисунку.

Генетичну детермінацію онкологічної патології у людини доведено для великої кількості анатомічних локалізацій, серед яких переважають молекулярні зміни в клітинних протоонкогенах та втрата генів онкосупресорів (табл. 3).

Для більшості злоякісних новоутворень людини протягом останніх десятиріч виявлено специфічні генетичні зміни, характерним для яких є множинність та неоднорідність в неопластичних клітинах, більшу частку серед яких становлять зміни внаслідок втрати клітинних генів, ніж зміни внаслідок інтеграції в геном вірусних онкогенів.

Таким чином, можна стверджувати, що неопластична трансформація клітини є наслідком множинних мутацій в її геномі — як в проонкогенах, так і в генах-супресорах. Ця множинність геномних змін значно ускладнює використання генотипування людини для прогнозування виникнення у неї онкологічної патології.

2. Властивості неопластичної клітини та генетичні механізми їх набуття. Злоякісні новоутворення виникають внаслідок необмеженої проліферації клітинних клонів, які виходять за межі власної тканини і здатні до росту на територіях інших тканин. Під впливом високої генетичної мінливості відбувається пухлинна прогресія — селекція більш автономних та агресивних субклонів неопластичних клітин в організмі [3, 4, 11, 12].

Неопластичним клітинам притаманні такі ознаки:

- **самодостатність в сигналах проліферації** — неопластичні клітини мають низьку потребу у зовнішніх сигналах для ініціації чи підтримання клітинної проліферації (факторах росту — циклін-залежних кіназ). Фактори росту, зв'язуючись

Таблиця 2

Деякі онкологічні захворювання людини, вірусну етіологію яких доведено [29]

Захворювання	Вірус	Тип	Онкоген
Рак шийки матки	Вірус папіломи HPV16	ДНК	E6, E7
Назофаренгіальний рак	Епштейн-Барр вірус	ДНК	BNLF-1
Т-клітинний лейкоз	Людські Т-лімфоцитарні віруси (HTLV-1, HTLV-2)	РНК	—
Саркома Капоші	Вірус імунodefіциту людини (HIV-1)	РНК	—

Таблиця 3

Асоціація онкологічної патології з молекулярно-генетичними змінами в неопластичних клітинах
(база даних Entrez Genome, NCBI, 2005)

Онкологічна патологія		Асоціація з генетичними змінами		
		Вірусні онкогени	Клітинні протоонкогени та онкогени	Онкосупресорні та мутаторні гени
Органів дихання	Легенів	GNB2L1; MYCL1; SLC4A1AP; SPAG9	BRMS1; DDX26; EGFR; LCMR1; SLC22A1L; PPP2R1B; LOC:182280; 359794; 388686; 388687; 603040	DLC1; DLEC1; FBXO31; IGSF4; Rb; SMAD2; SMAD3; LOC: 132233; 32234; 152435; 253526; 339884; 420418
Органів травлення	Порожнини рота	-	ORAOV1	CDK2AP1; LOC122177
	Слиної залози	-	PRAD/CD1	-
	Стравоходу	-	ECRG4; MGC16824; LOC148500	DEC1; DLEC1; LOC: 132234; 132233; 152435; 253526; 339884; 420418
	Шлунка	FGF4	GDDR; LOC: 387894; 440687	CDH-1
	Товстої та прямої кишки		APC; BAX; BRAF; BUB1; DCC; EP300; KRAS2; MCC; PDGFRL; PTPN12; PTPRJ; RAD54L; SDCCAG1; SDCCAG3; SDCCAG8; SDCCAG10; SDCCAG33; SRC; TGFB2; UCC1; LOC: 116806; 164790; 172411; 190090; 191170; 388478; 391465; 600259; 604025	APC; AXIN; DCC; MLH1; MLH3; MSH2; MSH6; PMS1; PMS2; SMAD2; SMAD3; TBR-I; LOC: 125691; 220121; 220119
	Печінки	EPHA1; LCO; MET	PDGFRL; UPLC1; LOC: 116806; 191170; 202319; 220793; 220793; 388965; 401030	AXIN; DLC1; STARD13
Гемобластози та лімфатичної системи	Підшлункової залози	-	ACVR1B; ARMET; H-RAS; K-RAS; N-RAS; MADH4; PNCA1	SMAD2; SMAD3
	Лейкози	AKAP13; EGFR; ERBB4; ETS1; MYC; MYCL1; MYCNOS; RAF1; THPO; THRA	ABL; BAX; H-RAS; K-RAS; N-RAS; PDGF-Rb	ATM; TP53
	Лімфоми	-	ATM; BCL10; BCL2; CASP10; CCND1; C-MYC; MAD1L1; RAD54L	-
	Мієлома множинна	-	CCND1	-
Сечостатевої системи	Нирки	-	LOC116806	VHL; WT1
	Сечового міхура	-	BLCAP; HRAS; LOC180200	DBC1; TP53; LOC: 464694; 163279; 163277; 116311
	Матки (ендометрій)	-	CDH1	MSH6
	Шийки матки	BRI3BP; C2orf12; FUNDC2; LETM1; MRPS11; LOC: 200258; 200382; 220793; 257280; 339671; 375213; 376850; 388965; 391332	LOC: 220793; 388965; 400410	LOC: 123474; 145896
	Яєчника	-	ARH11; CDH1; DOC1; ESR1; LOC: 116806; 167000; 171834; 401030	BRCA1; BRCA2; DPH2L1; MLH; MSH2; MSH6; OVCA2; PMS2; LOC454416
	Простати	KLF6	DEPC-1; ELAC2; HIP1; HPC20; HPCX; HPC7; HPCQTL19; KAI1; MAD1L1; PBOV1; PCANAP5; PCAP; PNCA1; PTEN; RNASEL; LOC: 343531; 400609; 441803; 441877; 600020; 601385; 603688; 607592	KAI1; OSJNBa0084C09.17; TP53; TUSC3
Шкіри	Шкіри	-	LOC136850	-
	Меланома	-	BRAF; CDKN2A; STK11; LOC180200	INK4a-ARF; KISS1

Продовження таблиці 3

Онкологічна патологія		Асоціація з генетичними змінами		
		Вірусні онкогени	Клітинні протоонкогени та онкогени	Онкосупресорні та мутаторні гени
Молочної залози		AKAP13	ABC1; AMPH; BASE; BCAR1; BCAR3; BCMP11; BCPR; BRIP1; CDH1; ERBB2; ESR1; NSE2; PBOV1; PHB; PPMID; PRAD/CD1; RAD54L; RB1CC1; SDBCAG84; TFF1; TSG101; XRCC3; H63; LOC: 167000; 179617; 211410; 211420; 340913; 345258; 400298; 388065; 440226; 440486; 441435; 441436; 441553; 60048	BRCA1; BRCA2; BRCD1; BRMS1; BRMS1L; DMBT1; KIAA1967; LOC: 423328; 435433
Нервової системи	Менінгіома	-	-	NF2
	Гліобластома, нейрогенні пухлини	ERBB2; GLI; MYCNOS; NRAS	ERBB1; LOC600259	-
	Нейрофіброматози	-	-	NF1; NF2
Саркоми	Саркома	BRAF; CRK; HRAS; JUN; KRAS2; SRC; SSPN	MDM2	-
	Саркома Капоші	FGF4	-	-
	Нейрофібросаркома	-	LOC600020	-
	Рабдоміосаркома	-	SLC22A1L	-
	Остеосаркома	FOS	CHEK2; MDM2	Rb; TP53
Мезотеліома		-	BCL10	NF2
Первинно-множинної локалізації	Синдром Беквіч-Відеманна (ретинобластома, остеосаркома, меланома шкіри)		SLC22A18; LOC180200	Rb
	Синдром Лі-Фраумені (саркома, рак молочної залози, лімфолейкоз)		CDKN2A; TFF1; LOC191170	CHK2; TP53
Тимома		AKT1; AKT2;		
Щитовидної залози		MAP3K8; RET		
Ретикулоендотеліоз		RELA		
Солідний рак			H-RAS; K-RAS; N-RAS	
Спорадичні злоякісні пухлини різних локалізацій		AXL; CTTN; ECT2; ELK1; JUND; KIT; NTRK1; PIM1; RHOA; RHOC; WNT1; WNT3; WNT7A	C-MYC; CTNNB1	CDKN2A; CDKN2B; DDX26; EAF2; HYAL1; ING1; INK4a; LATS2; LRP1B; LZTS1; MLH; MSH2; MSH6; MTSS1; NAT6; NF2; PDGFRL; PMS2; PTEN/MMAC1; RASSF1; SMAD4/DPC4; SOCS1; SOCS2; SOCS3; SUMO1; TP53; TSG11; TUSC1; TUSC2; LOC: 139583; 153251; 158855; 194746; 257117; 285634; 471565; 83108; 89162

із своїми рецепторами, ініціюють передачу сигналів у клітині, які ведуть до реплікації ДНК та мітозу. Концентрації зовнішніх факторів росту, які викликають проліферацію неопластичних клітин, в десятки та сотні разів менші, ніж їх необхідна концентрація для стимуляції розмножен-

ня нормальних клітин. Це пояснюється тим, що в неопластичних клітинах відбувається зміна внутрішньоклітинної сигналізації за рахунок власної секреції неопластичними клітинами факторів росту, чи за рахунок значного збільшення кількості специфічних мембранних рецепторів до

Рисунок. Розподіл онкоспецифічних генів між хромосомами людини (дані NCBI, 2005).

них, чи за рахунок включення в цих клітинах альтернативних шляхів активзації проліферації, без участі факторів росту. Вважається, що основною причиною самодостатності сигналів проліферації в неопластичній клітині є активізація протоонкогенів за рахунок їх переходу в онкогени під впливом мутацій;

- **зниження чутливості до сигналів, які гальмують ріст** — неопластичні клітини знижують свою чутливість до ріст-інгібуючих цитокінів (цитокіни типу TGF- β , інгібітори цикліна-залежних кіназ), факторів специфічного й неспецифічного протипухлинного імунітету, вони не пригнічують проліферацію при несприятливих для клітини умовах (недостатність нуклеотидів, гіпоксія тощо). Вважається, що в основі зниження чутливості неопластичної клітини до сигналів, що гальмують ріст, лежить дисфункція генів онкосупресорів;
- **відсутність реплікативного старіння (іморталізація)** — неопластичні клітини втрачають здатність до обмеження кількості поділів з наступною загибеллю всього пулу клітин (спостерігається відхилення від числа Хейфліка в умовах *in vitro*), за рахунок ушкодження механізмів контролю реплікації. Вважається, що в основі іморталізації неопластичних клітин лежить порушення механізму реплікантного старіння клітин. У нормальних клітинах відбувається укорочення кінцевих ділянок хромосом (теломер) після кожного її поділу, коли довжина теломер сягає генетично запрограмованої критичної мінімальної величини, то сенсорні системи цієї клітини розпізнають її як аномальну ДНК і індують апоптоз. Навпаки, в неопластичних клітинах не відбувається скорочення теломер завдяки активізації теломерази, яка добудовує недорепліковані

теломери, що підтримує їх постійну довжину. Індукція теломерази відбувається завдяки експресії онкогенів (Myc) чи інактивацією пухлинних супресорів (TP53, pRb). Але на теперішній час існує думка щодо недостатності порушення процесів контролю довжини теломер для неопластичної трансформації клітин;

- **послаблення індукції апоптозу** — в неопластичних клітинах порушуються активні механізми клітинного самогубства, які в нормі забезпечують постійність числа клітин в організмі та захищають його від накопичення в тканинах аномальних клітин. За нормальних умов апоптоз виникає під впливом фізіологічних (експресія кілерних цитокінів, зміни гормонального статусу тощо) та нефізіологічних (внутрішньоклітинні пошкодження, дефіцит факторів росту, пошкодження ДНК, гіпоксія тощо) сигналів. Порушення апоптозу в неопластичних клітинах пов'язують із:

- втратою експресії на поверхні клітини рецептору смерті (Fas); порушенням проходження апоптогенного сигналу до мітохондрій під час інактивації генів пухлинних супресорів (TP53, PTEN); блокування проникливості мембрани мітохондрій для цитохрому C та протеази AIF (апоптоз-індукуючого фактору), внаслідок зміни експресії білків групи Bcl2; блокування активації ефекторних каспаз, внаслідок пошкодження гену, який контролює експресію білка APAF-1; значне зменшення часу життя каспаз внаслідок їх зв'язування з білками IAP (інгібіторами апоптозу), експресія яких збільшується внаслідок активації протоонкогенів Ras, PKB/Akt, чи внаслідок інактивації пухлинного гену-супресору PTEN;
- **здатність стимулювати неоангіогенез** — неопластичні клітини набувають здатності формувати новоутворені кровоносні та лімфатичні судини з ендотеліальних клітин дрібних судин;
- **зміна в морфології та русі клітин** — неопластичні клітини набувають властивостей, які притаманні нормальним клітинам під впливом мітогенних цитокінів, які стимулюють міграцію клітин. Але цей стан є постійним, а не тимчасовим, як у нормальних клітин. В основі цих морфологічних змін неопластичної клітини лежать

зміни в цитоскелеті, порушення взаємодії між клітинами та клітиною й матриксом та супроводжуються порушенням формування фокальних контактів та погіршенням прикріплення клітин до неклітинного матриксу, дезорганізацією системи активних мікрофіламентів. Вважається, що в основі порушення морфології та руху неопластичних клітин лежать мутаційні зміни в протоонкогенах групи RAS, які ведуть до стимуляції біосинтезу цитокінів мітогенної й мотогенної дії (EGF, HGF/SF, PDGF тощо);

- **здатність синтезувати протеолітичні ферменти** — завдяки набутої непластичними клітинами здатності до самостійного синтезу протеолітичних ферментів клітиною відбуваються інвазія (проникнення в здорові тканини) та метастазування (утворення вторинних вогнищ пухлинного росту);

- **порушення клітинного диференціювання** — в неопластичних клітинах порушується процес спеціалізації клітин, які здатні синтезувати специфічні для них білки. Порушення диференціювання неопластичних клітин відбувається за рахунок: зупинки процесу диференціювання на проміжній стадії (гемобластози), дедиференціювання клітин (рак молочної залози, нечутливий до стероїдів), здатності наступної диференціації неопластичних клітин після їх поділу (високодиференційована аденокарцинома товстої кишки, плоскоклітинний ороговіючий рак шкіри);

- **генетична нестабільність** — збільшення вірогідності виникнення і закріплення в черзі клітинних поколінь різноманітних змін геному (генних мутацій, рекомбінацій, анеуплоїдії тощо). Генетична нестабільність та селективний відбір забезпечують накопичення у одній клітині одразу декількох мутацій в онкогенах, пухлинних генах-супресорах під впливом канцерогенів, що на кінцевому етапі забезпечує клітину властивостями характерними для неопластичної клітини. При цьому генетична нестабільність є основою пухлинної прогресії і забезпечує збільшення ступеню злоякісності неопластичної клітини. Для генетичної нестабільності характерно: зменшення точності відтворення генетичної інформації (зниження точності реплікації ДНК, сегрегації хромосом під час мітозу); порушення в системі репарації пошкоджень ДНК чи помилок, які виникають при її реплікації; послаблення функції припинення клітинного циклу у відповідь на пошкодження ДНК чи веретена поділу під час мітозу,

що веде до продовження поділу та збільшення кількості аномальних клітин; послаблення індукції апоптозу, внаслідок чого генетично аномальні клітини продовжують свій життєвий цикл. Останнім часом було встановлено, що генетична нестабільність в неопластичних клітинах може виникати і внаслідок епігенетичних змін — зміна структури хроматину внаслідок хімічної модифікації ДНК (метилування цитозинів) та гістонів (їх ацетилювання), що веде до зміни експресії декількох сотень генів одночасно [1, 3, 4, 11, 12, 21, 29, 32, 34, 37, 40, 43, 46, 48–51].

3. Роль генетичних механізмів в канцерогенезі та в антиканцерогенезі та їх роль у виникненні професійного раку. На сучасному етапі розвитку науки під канцерогенезом розуміється багатоступеневий процес, внаслідок якого відбувається накопичення мутацій та генетичних аномалій, які ведуть до порушення регуляції клітинного циклу, апоптозу, диференціювання, морфогенетичних реакцій клітини, до неефективного функціонування факторів специфічного і неспецифічного протипухлинного імунітету.

В мутаційній теорії канцерогенезу механізми онтогенезу визначаються двома механізмами — виникненням та активізацією онкогенів й пошкодженням антионкогенів (онкосупресорів, мутаторних генів). Вважається, що для утворення клітини із здатністю до необмеженого росту та поділу необхідно накопичення більш трьох незалежних мутацій, як в онкогенах, так і в генах-супресорах. Під впливом канцерогенів чи інших факторів (модуляторів канцерогенезу — порушення метаболізму в клітині, оксидантний стрес) відбувається активізація онкогенів (їх експресія) [29, 35].

Найбільш часті зміни при онкологічній патології зустрічаються в генах TP53 та RAS, а при гемобластозах — в генах PML/RARa, мутації в яких ведуть одночасно до подолання декількох етапів пухлинної прогресії. На генетичному рівні відбуваються наступні зміни:

- 1) під впливом етіологічного фактору (вірус, хімічний агент, фізичний вплив) відбувається перетворення протоонкогену в онкоген — ініціації онкогенезу;
- 2) в нормі, при експресії онкогенів відбувається накопичення білків p53 та p16, які гальмують клітинний цикл, і клітина входить в стан анабіозу із подальшим розвитком апоптозу, спрямованим на самознищення, при неможливості провести відновлення (репарацію) ДНК в пошкоджених генах. Внаслідок тривалої дії канцерогенних фак-

торів відбуваються подальші мутації в геномі клітини, а також в генах, які контролюють біосинтез білків p53 та p16, внаслідок чого клітина втрачає здатність до апоптозу і відбувається подальше накопичення «нових» мутацій, які надають клітині нових властивостей, притаманних для неопластичних клітин — **блокування онкосупресії та прогресування онкогенезу** [1, 3, 4, 11, 21, 29, 32, 35, 37, 40, 43, 46, 48–51].

Таким чином, внаслідок першої мутації у клітині відбувається перетворення проонкогена в онкоген, другої — руйнується система самозахисту та самознищення, третьої та наступної — відбувається пухлинна прогресія та формуються нові морфофункціональні властивості клітини. Клінічно це проявляється формуванням у пацієнта доброякісних новоутворень, потім — раку *in situ*, а в подальшому — його прогресією та метастазуванням.

Основою виникнення мутацій є вплив канцерогенних екзогенних факторів (хімічної, фізичної чи біологічної природи), під впливом яких відбуваються зміни у геномі клітини. Так, низкою дослідників доведено, що під впливом великої кількості промислових чинників (азбесту, сурми, пестицидів тощо) відбуваються незворотні пошкодження ланцюгів ДНК в клітинах працюючих [18, 34, 36], порушується функція гену TP53 внаслідок його мутації [52].

До деяких генетичних теорій канцерогенезу відносять:

- 1) теорію випадкових мутацій Л.Леба.
- 2) теорію нестабільності геному К.Лігнаура-Б.Фогельштейна.
- 3) теорію анеуплоїдії П.Дюсберга-Р.Лі.
- 4) теорію стовбурових пухлинних клітин.

Теорія Л.Леба ґрунтується на факті виникнення великої кількості випадкових мутацій (від 10^4 – 10^5 на клітину), які забезпечують клітині переваги при поділі. А хромосомні перебудови в клітині є випадковим та вторинним продуктом канцерогенезу [11, 29, 35, 46].

Теорія К.Лігнаура-Б.Фогельштейна ґрунтується на нестабільності геному, на фоні якого під впливом тиску природного відбору виникають доброякісні пухлини, які з часом трансформуються в злоякісні та дають метастази. За думкою авторів теорії, внаслідок порушення діяльності головних генів, які відповідають за процес мітозу, відбувається формування анеуплоїдних дочірніх клітин із втратою одно чи декількох алелей гену. Якщо втрачається специфічні гени-онкосупресори, то починається розвиток неопластичної трансформації дочірньої клітини із розвитком злоякісної пухлини [11, 25, 29, 30, 32, 35, 46, 55].

Теорія анеуплоїдії П.Дюсберга-Р.Лі ґрунтується на тому, що виникнення та розвиток пухлин більшою мірою пов'язано з помилками в розподілі хромосом, ніж у виникненні мутацій в одному із головних генів, онкогенів чи втрати генів-онкосупресорів. Чим більший ступень анеуплоїдії, тим більша генетична нестабільність клітини, і тим більша вірогідність її злоякісної трансформації [25, 30, 46, 47].

Теорія стовбурових пухлинних клітин є найновішою теорією, яка пояснює розвиток онкологічної патології за рахунок неопластичної трансформації стовбурових (бластних) клітин із наступною селекцією більш стійких їх клонів, що проявляється у прогресії онкологічного процесу. Завдяки цій теорії вдалося пояснити ранню стійку резистентність злоякісних пухлин до хіміотерапевтичних препаратів [32, 52].

Так рядом досліджень встановлено, що під впливом шкідливих промислових факторів (малі дози іонізуючого опромінення, радону, свинцю, стиролу, бензолу, пестицидів, ароматичних вуглеводнів, резини тощо) у працівників відбуваються хромосомні аберації [8, 22, 23, 25, 30, 31, 42].

Висновки

Використання сучасних знань про генетичний фактор у розвитку та прогресуванні онкологічної патології є перспективним напрямом в проведенні індивідуальної профілактики цієї патології. Особливе значення це набуває в аспекті профілактики виробничо-обумовленої онкологічної патології, насамперед, коли стає реальним під час медичних оглядів встановити індивідуальну схильність людини до виникнення злоякісних новоутворень: під час попередніх медичних оглядів — наявність успадкованої генетичної схильності до виникнення онкологічної патології (наявність специфічних проонкогенів, генетичної нестабільності клітин); та під час періодичних медичних оглядів — наявність та динаміка набутих хромосомних аберацій, ступеню мутаційних змін в протоонкогенах та генах-супресорах у клітинах працівників під впливом виробничих факторів.

В основі онкогенезу лежать різні генетичні зміни: генетичні мутації та хромосомні трансформації, які викликані канцерогенними екзогенними факторами (виробничими, екологічними, способом життя) на фоні наявної успадкованої схильності (протоонкогени, здатність до нестабільності геному), які можуть набувати комплексності та індивідуальності у виникненні онкологічної патології у кожного окремого онкологічного хворого. Тому визначення ключових генетичних

факторів, які вказують на високий ризик розвитку онкологічної патології, може стати пріоритетним напрямом в медицині праці при вивченні здоров'я працюючих на канцероген-небезпечних підприємствах.

Вже сьогодні визначення основних факторів генетичної схильності до виникнення онкологічної патології є реальним і до них можливо віднести:

- 1) наявність вродженої схильності до генетичної нестабільності клітин, яку можливо визначати методами дослідження каріотипу культури лімфоцитів;
- 2) наявність успадкованих специфічних проонкогенів чи онкогенів методами полімеразної ланцюгової реакції;
- 3) визначення втрат чи молекулярних аномалій гену онкосупресору TP53, який є ключовим геном у реалізації апоптозу трансформованої клітини, який можливо визначити методом полімеразної ланцюгової реакції чи методами аналізу кількості та структури білку p53 (методами імунно-ферментного чи радіо-імунного аналізу тощо).

Насамперед, все це дозволить проводити розподіл працівників за ознаками наявності спадкової схильності до онкологічної патології та проводити генетичний моніторинг за рівнем формування індивідуального ризику виникнення онкологічної патології під впливом шкідливих виробничих факторів.

Література

1. Агол В.И. Генетически запрограммированная смерть клеток // Сорос. образов. журн. – 1996. – №6. – С. 20–24.
2. Бучинська Л.Г., Налескіна Л.А., Поліщук Л.З. Проблеми онкогенетики: наукові та прикладні аспекти // Онкол. – 2002. – Т.4, №3. – С. 238–239.
3. Васильев Ю.М. Социальное поведение нормальных клеток и антисоциальное поведение опухолевых клеток. I. Сигнальные молекулы, вызывающие размножение и гибель клеток // Сорос. образов. журн. – 1997. – №4. – С. 7–22.
4. Васильев Ю.М. Социальное поведение нормальных клеток и антисоциальное поведение опухолевых клеток. II. Клетки строят ткань // Сорос. образов. журн. – 1997. – №5. – С. 20–25.
5. Ганіна К.П. Онкогенетика в Україні / Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть: у 4 т. / Гол. ред. В.В.Моргун. – К.: Логос, 2001. – Т.4. – С. 522–537.
6. Генетические аспекты силикоза: особенности распространения частот полиморфных генов / Л.П.Кузьмина, В.А.Спицын, Л.А.Тарасов и др. // Вестн. РАМН. – 1998. – №5. – С. 7–10.
7. Генетические факторы предрасположенности к развитию профессионального флюороза / С.В.Макаров, В.А.Спицын, Л.А.Тарасова и др. // Мед. труда и пром. экол. – 2000. – №6. – С. 17–21.
8. Демина Э.А., Ключин Д.А., Петунин Ю.И. Цитогенетические и канцерогенные эффекты малых доз облучения у ликвидаторов последствий Чернобыльской аварии // 3 Междунар. симпоз. «Механизмы действия сверхмалых доз»: Тез. докл. – Москва, 3–6 декабря 2002 г. – М., 2003. – С. 71.
9. Зильбер Л.А. Вирусно-генетическая теория возникновения опухолей. – М.: Наука, 1968. – 273 с.
10. Імуногенетичні маркери індивідуальної чутливості людини до сполук свинцю, імунологічні і біохімічні критерії шкідливого впливу та ризику для здоров'я / Н.М.Дмитруха, В.А.Стежка, А.А.Чумак, Ж.М.Мінченко // Фізіол. журн. – 2000. – Т.46, №2а. – С. 100.
11. Копнин Б.П. Неопластическая клетка: основные свойства и механизмы их возникновения // Прак. онкол. – 2002. – Т.3, №4. – С. 229–235.
12. Копнин Б.П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены // На сайте: <http://www.rosoncweb.ru/library/>
13. Лубянова И.П. Роль наследственных факторов в формировании патологии при воздействии железосодержащих аэрозолей // Сб. «Гигиена труда». – К., 2004. – Вып.35. – С. 431–448.

14. Некоторые генетические маркеры подверженности профессиональному флюорозу/И.П.Данилов, В.В.Протасов, Е.А.Лотош, Ф.А.Лузина//Мед. труда и пром. экол.- 2001.- №7.- С. 30-33.

15. Особенности наследственного полиморфизма у больных силикозом с сопутствующим хроническим бронхитом/О.А.Морозова, В.Д. Гарбатовский, В.Д.Суржиков и др.//Мед. труда и пром. экол.- 2001.- №4.- С. 9-12.

16. Ползик Е.В., Кацнельсон Б.А. Некоторые аспекты индивидуальной предрасположенности к раку в свете задач онкологической профилактики//Мед. труда и пром. экол.- 1993.- №5-6.- С. 38-41.

17. Полиморфизм генов метаболизма ксенобиотиков у рабочих нефтехимических производств/О.В.Макарова, Т.В.Викторова, Д.Г.Янбаева и др.//Генетика.- 2003.- Т.39, №9.- С. 1268-1274.

18. Пылев Л.Н., Васильева Л.А. Актуальные проблемы асбестового канцерогенеза (практика и теория)//Сб. докл. и выступл. Междунар. конф. «Безопасность и здоровье при производстве и использовании асбеста и других волокнистых материалов», Екатеринбург, 3-7 июня 2002 г.- Екатеринбург, 2003.- С. 171.

19. Рак в Україні, 2001-2002. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби. Бюлетень Національного канцер-реєстру України.- К., 2003.- №4.- 72 с.

20. Свердлов Е.Д. Очерки современной молекулярной генетики. Очерк 8. Болезни генома и новая молекулярная генетика: рак - болезнь генома//Молекулярная генетика, микробиол. и вирусол.- 1999.- №2.- С. 3-27.

21. Фильченков А.А., Стойка Р.С. Апоптоз и рак.- К.: Морион, 1999.- 184 с.

22. Хромосомные aberrации в периферических лимфоцитах у рабочих, профессионально контактирующих с бензолом/G.Li, L.Li, W.Guo, P.Chang//J. Hyg. Res.- 2002.- V.31, №6.- P. 410-413.

23. Цитогенетическое обследование рабочих производства резины/Н.П.Бочков, В.А.Сапачева, Т.В.Филиппова и др.//Мед. труда и пром. экол.- 1993.- №5-6.- С. 12-14.

24. Шалимов С.А., Федоров З.П., Гулак Л.О. Структура заболеваемости населения Украины злокачественными новообразованиями//Онкол.- 2001.- Т.3, №1.- С. 91-95.

25. Analysis of chromosomal aberrations and SCE's in occupationally led exposed population/K.R.Devi, K.S.Reddy, V.V.Reddy, P.P.Reddy//Drug Metab. Rev.- 2002.- V.34.- P. 34.

26. Benzo(a)pyren diol epoxide adducts to albumin in workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons - association with specific CYP1A1, GSTM1, GSTP1 and EHPX genotypes/R.Pastorelli, A.Cerri, M.Rozio et al.//Biomarkers.- 2001.- №6.- P. 357-374.

27. Bero L.A., Jadad A.R. How consumers and policymakers can use systematic reviews for decision making//Ann. Intern. Med.- 1998.- №127.- P. 37-42.

28. Blume-Jensen P., Hunter T. Oncogenic kinase signaling//Nature.- 2001.- V.411.- P. 355-365.

29. Cancer genetics//Human molecular genetics/Ed. by T.Strachan, A.P.Read.- BIOS Scientific Publishers, 1999.

30. Chromosomal aberrations: Associated with exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons among coke production employees/D.Gajdosova, O.Gajdos, Z.Justova et al.//Toxicol. Lett.- 2001.- V.123, №1.- P. 30.

31. Cytogenetic monitoring in a population occupationally exposed to pesticides in Ecuador/C.Paz-y-Mino, G.Bustamante, M.E.Sanchez, P.Leone//Environ. Health Perspect.- 2002.- V.110, №11.- P. 1077-1080.

32. Dean M., Fojo T., Bates S. Tumour stem cells and drugs resistance//Nature Rev. Cancer.- 2005.- V.5.- P. 275-284.

33. Evan G.I., Vousden K.H. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer//Nature.- 2001.- V.411.- P. 342-348.

34. Garaj-Vrhovac V., Zeljezic D. Evaluation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides using single-cell gel electrophoresis assay. Pesticide genotoxicity revealed by comet assay//Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.- 2000.- V.469, №2.- P. 279-285.

35. Genome structure and function/Ed. by C.Nicolini.- Netherlands: Kluwer Acad. Publ., 1997.- P. 217-237.

36. Genotoxic risk and oxidative DNA damage in workers exposed to antimony trioxide/D.Cavallo, I.Iavicoli, A.Setini et al.//Environ. Mol. Mutagenes.- 2002.- V.40, №3.- P. 184-189.

37. Green D.R. Apoptotic pathways: paper wraps stone blunts scissors//Cell.- 2000.- №102.- P. 1-4.

38. Hahn W.C., Weinberg R.A. Modelling the molecular circuitry of cancer//Nature Rev. Cancer.- 2002.- №2.- P.331-341.

39. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer//Cell.- 2000.- №100.- P. 57-70.

40. Hengartner M.O. The biochemistry of apoptosis//Nature.- 2000.- V.407.- P. 770-776.

41. Importance of genetic polymorphisms of drug metabolizing enzymes for the interpretation of biomarkers of exposure to styrene/V.Haufroid, J.Bucher, S.Gardinal, S.Ghittori et al.//Biomarkers.- 2001.- V.6, №3.- P. 236-249.

42. Laffon B., Pasaro E., Mendez J. Evaluation of genotoxic effects in a group of workers exposed to low levels of styrene//Toxicol.- 2002.- V.171, №2-3.- P. 175-186.

43. Lengauer C., Kinzler K.W., Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers//Nature.- 1998.- V.396.- P. 643-649.

44. Meade M.O., Richardson W.S. Selection and appraising studies for a systematic review//Ann. Intern. Med.– 1997.– V.127.– P. 531–537.

45. Polimorpim of xenobiotic metabolizing enzymes and excretion of styrene specific mercapturic acids/G.Depalma, P.Manini, P.Mozzoni et al.//Chem. Res. Toxicol.– 2001.– V.14, №10.– P. 1393–1400.

46. Ponder B.A.J. Cancer genetics//Nature.– 2001.– V.411.– P. 336–341.

47. Risk of cancer in an occupationally exposed cohort with increased level of chromosomal aberrations/Z.Devi, K.Landa, P.Rissner et al.//Environ. Health Perspect.– 2001.– V.109, №1.– P. 41–45.

48. Saaristo A., Karpanen T., Alitalo K. Mechanisms of angiogenesis and their use in the inhibition of tumor growth and metastasis//Oncogene.– 2000.– №19.– P. 6122–6129.

49. Shay J.W., Wright D.E. When do telomeres matter?//Sci.– 2001.– V.291.– P. 839–840.

50. Sherr C.J. The Pezcoller Lecture: Cancer Cell Cycles Revisited//Cancer Res.– 2000.– №60.– P. 3689–3695.

51. Stambolic V., Mak T.W., Woodgett J.R. Modulation of cellular apoptotic potential: contributions to oncogenesis//Oncogene.– 1999.– V.18.– P. 6094–6103.

52. Untch B.J.P. Gilliland D.G. Leukaemia stem cells and the evolution of cancer – stem – cell research//Nature Rev. Cancer.– 2005.– V.5.– P. 311–321.

53. Vaakangas K. TP53 mutation in workers exposed to occupational carcinogens//Hum. Mutat.– 2003.– V.21, №3.– P. 240–251.

54. Van Damme K., Casteleyn L. Relevance and acceptability of genetic testing for susceptibility for neurological impairment in occupational health//Am. J. Med. Genet.– 2002.– V.114, №7.– C. 889.

55. Zhu L., Skoultschi A.I. Coordinating cell proliferation and differentiation//Curr. Opin. Genet. Dev.– 2001.– №11.– P. 91–97.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ КЛЕТКИ И НАПРАВЛЕНИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО СКРИНИНГА РАБОТАЮЩЕГО НАСЕЛЕНИЯ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО РАКА: СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

Варивончик Д.В.

Институт медицины труда АМН Украины, г. Киев

Проведен анализ информации научных исследований по молекулярным и генетическим механизмам возникновения и жизнедеятельности неопластических клеток, прогрессирования онкологической патологии человека под воздействием канцерогенных факторов окружающей среды и производства. Систематизирована информация о связи между изменениями в генах (онкогенных, онкосупрессорных, мутаторных) и развитием онкологической патологии у человека. Определены направления использования молекулярно-генетических методов скрининга для первичной профилактики профессионального рака.

Ключевые слова: рак, гены, хромосомы, нестабильность генома, механизмы злокачественной трансформации, теории канцерогенеза, производственные факторы, профессиональный рак, первичная профилактика, молекулярно-генетический скрининг

MOLECULAR-GENETIC MECHANISMS OF CELL MALIGNANT TRANSFORMATION AND DIRECTIONS TO APPLICATION OF GENETIC SCREENING OF THE WORKING POPULATION FOR PREVENTION OF OCCUPATIONAL CANCER DEVELOPMENT: SYSTEMIC REVIEW

Varyvonchik D.V.

Institute for Occupational Health of AMS of Ukraine, Kiev

The analysis has been made concerning scientific studies on molecular and genetic mechanisms of development and vital activity of neoplastic cells, progressive development of human cancer pathology in exposures to cancer work factors and the environment. The information on relation of gene changes (carcinogenic, oncosuppressive, mutational) and the development of human cancer pathology has been systematized. Directions to application of molecular-genetic screening methods have been defined for primary prevention of occupational cancer.

Keywords: cancer, genes, chromosomes, genome instability, mechanisms of malignant transformation, theories of carcinogenesis, occupational factors, primary prevention, molecular-genetic screening

Надійшла 21.01.2005 р.

Контактна особа: Варивончик Денис Віталійович, старший науковий співробітник відділу епідеміологічних досліджень, Інститут медицини праці АМН України, вул. Саксаганського, 75, Київ 01033, Україна, тел.: (044) 289-46-05, e-mail: erzas70@i.com.ua