

**Демина Э.А., Демченко Е.Н., Барияк И.Р.** *Построение калибровочных кривых в биологической (цитогенетической) дозиметрии.*

Показано, что с целью усовершенствования биологической дозиметрии на основании хромосомного теста для интерпретации характера дозовых кривых в области малых доз облучения предпочтительнее использовать модель линейной сплайновой регрессии. Радиопротектор инозин (рибоксин), снижая уровень радиационно-индуцированных аберраций хромосом, "снимает" плато, изменяя аномальный характер кривой "доза-эффект" в области действия малых доз ионизирующего излучения.

**Ключевые слова:** биологическая дозиметрия, малые дозы облучения, модель сплайновой регрессии, аберрации хромосом, радиопротектор, инозин.

## Резюме

**Дьоміна Е. А., Демченко О. М., Барияк І. Р.** *Побудова калібрувальних кривих в біологічній (цитогенетичній) дозиметрії.*

В даній роботі показано, що з метою вдосконалення біологічної дозиметрії на основі хромосомного тесту для інтерпретації характеру дозових кривих в області малих доз опромінення більш доцільно використовувати модель лінійної сплайнової регресії. Радіопротектор инозин (рибоксин) знижує рівень радіаційно-індукованих аберрацій хромосом, "знімає" плато, змінюючи аномальний характер кривої "доза-ефект" в області дії малих доз іонізуючого випромінювання.

**Ключові слова:** біологічна дозиметрія, малі дози опромінення, модель сплайнової регресії, аберрації хромосом, радіопротектор, инозин.

## Summary

**Dyomina E.A., Demchenko E.N., Barilyak I. R.** *Calibration curves plotting in biological (cytogenetic) dosimetry.*

The model of linear spline regression was demonstrated to be preferable for interpretation of dose dependence character at the low dose rates. Reducing the level of radiation induced chromosome aberrations radioprotector inosin (ribosin) 'abrogates' the plateau altering the abnormal character of 'dose-effect' curve that is specific for the region of low dose ionizing irradiation.

**Key words:** biological dosimetry, low doses of ionizing radiation, spline regression models, chromosome aberrations, radioprotector, inosin.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РАКА

**Э.А. Демина, И.Р. Барияк**

*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е.Кавецкого НАН Украины (Киев)*

*Научный центр радиационной медицины АМН Украины (Киев)*

В настоящее время достигнут значительный прогресс в понимании механизмов канцерогенеза, в том числе радиационного. Накоплен большой фактический массив данных, свидетельствующий об определяющей роли изменений генетического материала клеток в развитии рака.

Рак - генетически детерминированное заболевание, возникающее вследствие нарушения нормальной регуляции роста клеток под влиянием разнообразных мутаций. Большинство опухолей индуцируется исключительно мутациями в соматических клетках, но некоторые виды рака могут быть обусловлены наследственными мутациями, то есть мутациями, передающимися половыми клетками от поколения к поколению [1]. Наследственные опухоли, детерминируемые одним геном, составляют всего 5,0-7,0%, а основная часть - это мультифакторные опухоли, развивающиеся под влиянием генетических и внешнесредовых факторов. Развитие опухоли начинается с иницирующей мутации, нарушающей механизмы регуляции размножения клетки. В зависимости от типа клетки иницирующая мутация может экспрессироваться сразу или после латентного периода. В последнем случае для экспрессии начальной онкогенной мутации должно произойти стимулирование или промотирование - получение митогенного сигнала, причиной которого могут быть гибель прилежащих клеток либо воздействие агентов, способных ускорить рост клеток. Стадия прогрессии - приобретение инвазивности, то есть способности опухолевых клеток вращать в окружающую нормальную ткань, нарушая ее функции. Приобретение инвазив-

ности требует дополнительных мутаций. И, наконец, последней стадией в прогрессии опухоли является метастазирование - миграция клеток исходной опухоли в новые места, образование вторичных опухолей. Прогрессия опухоли - многоступенчатый процесс и для развития метастазов необходимо накопление еще нескольких соматических мутаций. Большинство видов рака имеют клональное происхождение, то есть развиваются из одиночной аномальной клетки. Такой механизм присущ для иницирующей мутации. По мере того, как в первичной опухоли, клональной по происхождению, развивается генетическая нестабильность, в различных опухолевых клетках могут возникать вторичные мутации, что в дальнейшем усложняет проведение противоопухолевой терапии. Вторичные мутации являются результатом генетической нестабильности, которая возникает вследствие потери контроля над репликацией ДНК или же ее репарацией. Мутации в генах, контролирующей репарацию ДНК, могут также вовлекаться в процесс инициации или прогрессии опухоли.

Вероятность развития рака у человека повышается с возрастом, причем с такой интенсивностью, которая обеспечит возникновение от четырех до шести мутаций. Следует отметить, что раковые клетки должны приобрести мутации со значительно большей скоростью, нежели нормальные клетки. Изменение условий функционирования генома, снижение эффективности репарационных процессов повышают соответственно уровень генетической нестабильности, проявления которой различны - от повышенной мутабельности отдельных генов до нарушения развития целого организма [2, 3]. С увеличением нестабильности генома связывают накопление мутаций в генах, которые контролируют клеточный рост или клеточную гибель, повышение частоты хромосомных перестроек в опухолевых клетках [4, 5]. Таким образом, развитие рака сопровождается аккумуляцией генетических изменений, ранним признаком которых является нестабильность генома. Геномные нарушения детерминируют и моделируют злокачественный фенотип, метастатический потенциал, скорость прогрессии опухоли, резистентность к противоопухолевой терапии.

Общим и характерным для прогрессии опухолевого роста является повышение генетической гетерогенности независимо от этиологического фактора малигнизации.

Существуют два основных класса генов, ответственных за инициацию рака, однако механизмы их участия в злокачественной трансформации клеток прямо противоположны. Первые - это онкогены или гены ускорения роста, мутации в которых проявляются фенотипически как доминантные. То есть мутантный онкоген стимулирует непрерывный рост клетки, несмотря на присутствие нормальной аллели. В норме онкогены находятся в относительно низкоактивном состоянии и поэтому их называют протоонкогенами. Белковые продукты этих генов участвуют в регуляции процессов апоптоза, пролиферации, межклеточного взаимодействия и т.д. В случае повышения количества этих белков в результате мутации одного из аллелей гена клетка подвергается злокачественной трансформации. Вторые - гены-супрессоры опухолевого роста (антионкогены), которые предотвращают размножение клеток. Мутации в этих генах ведут себя как рецессивные аллели, то есть присутствие одной нормальной аллели достаточно для нормальной регуляции роста клетки. Таким образом, онкогены вызывают злокачественной перерождение клеток при увеличении экспрессии, а гены-супрессоры - при снижении или полном ее выключении.

Опухолевые клетки в культуре и организме обладают двумя свойствами: иммортальностью (способность клеток к неограниченному размножению с неограниченным числом клеточных делений при доступности пространства и питательных веществ) и нерегулируемым ростом (в культуре проявляется как рост, независимый от плотности культуры). Клетки, проявляющие перечисленные свойства, называются трансформированными.

Первые успехи в идентификации онкогенов в опухолях человека путем трансформации клеток в культуре были получены с линией клеток мыши NIH 3T3. Клеткам 3T3 для трансформации достаточно приобрести всего один дополнительный онкоген. Трансформированные клетки, в которые встраивается такой онкоген, легко обнаружить по росту в виде конусов

на поверхности монослоя остальных клеток, дальнейший рост которых подавлен. Тест на трансформацию клеток ЗТЗ обнаруживает мутантные гены, которые являются фенотипически доминантными и способны дополнять действие эндогенных мутаций, обеспечивая клеткам бессмертие.

Важным источником онкогенов являются хромосомные перестройки. К настоящему времени известно свыше 100 таких онкогенов. Нестабильность хромосом - одна из наиболее показательных характеристик перерождающихся опухолевых клеток. В некоторых случаях аномалии кариотипа непредсказуемы и могут быть отдаленными последствиями злокачественной трансформации. Классическими примерами являются хронический миелогенный лейкоз и филадельфийская хромосома, укороченный вариант хромосомы 22 вследствие реципрокной транслокации между участками на концах длинных плечей хромосом 9 и 22. У 90% больных хроническим миелогенным лейкозом в лейкоцитах обнаруживается филадельфийская хромосома. Молекулярные исследования показали, что протоонкоген ABL1 из участка 9q соединяется с геном BCR (breakpoint cluster region - участок скопления точек разрыва) на участке 22q. Белок, экспрессируемый этим составным геном, является тирозинкиназой, активность которой значительно выше, чем у продукта нормального гена ABL1.

Следующим механизмом возникновения онкогенов является амплификация генов - процесс (и результат) образования дополнительных копий участков ДНК. Результатом амплификации является лекарственная устойчивость. Амплифицированные гены располагаются в тандеме, в результате чего их можно наблюдать на цитологических препаратах как двойные микрохромосомы (double minute chromosome). Избыточное количество производимого белка может вывести из строя механизмы регуляции роста и привести клетку к неограниченному росту [1].

Кроме того, в развитии злокачественных новообразований принимают участие эпигенетические механизмы, направленные на изменение не структуры, а функции генов.

В связи с Чернобыльской катастрофой особую актуальность приобретает проблема радиационного канцерогенеза. Как было

представлено выше, определяющую роль в инициации канцерогенеза играет нестабильность генома. Канцерогенные эффекты облучения связаны, главным образом, с мутагенным действием на стадии инициации (UNISCEAR, 2000). В целом, ионизирующие излучения относят к полным канцерогенам, так как они способны реализовывать свой неопластический потенциал на всех этапах опухолевого процесса. Участие радиации может выражаться также в осуществлении одного из этапов канцерогенеза [6]. Таким образом, ионизирующее излучение может инициировать и вызывать появление новых опухолей и/или ускорять процессы злокачественной трансформации, развитие которых вначале не было связано с облучением [7]. Оба процесса рассматривают как следствие Чернобыльской катастрофы [8]. Для малых доз радиации главной является промоторная функция, для высоких - индуцирующая [9]. При этом предполагают, что радиационно-индуцированная инактивация генов-супрессоров происходит путем образования делеций, а активация протоонкогенов - точковых мутаций или хромосомных перестроек. Причем, по некоторым оценкам, хромосомные aberrации играют более важную роль в развитии радиационного канцерогенеза, нежели точковые мутации [10].

По совокупности специфических и неспецифических хромосомных и геномных нарушений в соматических клетках человека с высокой вероятностью можно диагностировать опухолевую патологию на ранней стадии ее развития [11-16]. Так, анализ частоты и спектра цитогенетических изменений в лимфоцитах периферической крови позволяет осуществлять раннюю диагностику наследственной и спорадической форм онкологических заболеваний [17-24 и др.], выявлять метастазы [25-26]. Особенно актуальны цитогенетические обследования при злокачественных новообразованиях внутренних органов, ранняя диагностика которых клиническими методами зачастую остается затруднительной [27].

В 1977-1988 гг. было организовано широкомасштабное цитогенетическое обследование более 3000 жителей стран Северной Европы, а затем до середины 90-х - наблюдение за

уровнем онкологической заболеваемости среди этих лиц. Было установлено, что риск возникновения злокачественных опухолей различных локализаций в 2,7 раза выше у лиц с высокой частотой хромосомных aberrаций по сравнению с таковыми у лиц с нормальными цитогенетическими показателями [18].

Следует отметить, что облучение индуцирует более широкий спектр генетических повреждений по сравнению с химическими факторами. Кроме того, эффективность радиационного воздействия зависит от плотности ионизации [28]. Так, плотнoионизирующие излучения вызывают больший по сравнению с редкоионизирующими удельный выход труднорепарируемых двойных разрывов ДНК, увеличивая количество трансформированных клеток с различными, в том числе и онкогенными потенциями. Например, нейтроны характеризуются как сильный инициатор и промотор [28].

Повреждение генетического материала клетки ионизирующим излучением - ведущая причина ее репродуктивной гибели и появления наследуемых нарушений. Особенно это очевидно при облучении в высоких дозах при больших мощностях, когда репаративных возможностей клетки недостаточно для устранения большого объема образовавшихся повреждений ДНК. Со снижением мощности дозы значимость повреждений генетического аппарата благодаря процесса репарации снижается и начинают превалировать повреждения мембранных структур, выполняющих важную роль в поддержании функционирования и жизнеспособности клетки [29].

В ряде случаев выявляют генетическую предрасположенность к высокой радиационной чувствительности, которая в сочетании со сниженными репаративными возможностями клеток, нарушениями регуляции клеточного цикла, реактивности организма, отклонениями в показателях клеточного и гуморального иммунитета способствует повышению канцерогенного риска примерно в 10 раз [30].

В работе [31] показано, что повышение индивидуальной радиационной чувствительности на генетическом уровне по сравнению со среднепопуляционными показателями является фактором риска возникновения радиогенного рака. При этом

ряд эндо- и экзогенных факторов могут модифицировать индивидуальную радиочувствительность и, возможно, предрасположенность к развитию рака [18].

Выделены аспекты оценок молекулярно-генетических характеристик клеток [32]:

диагностические - определение молекулярно-генетических признаков малигнизации клеток, взаимосвязи генетической гетерогенности опухолей с их морфологией, степенью злокачественности; изучение генетического профиля опухолей и их метастатического фенотипа; иммуногистохимическое выявление продуктов мутантных генов в опухолевых клетках и их связь со степенью злокачественности опухолевого процесса и т.д.;

прогностические - определение прогноза онкологического заболевания на основе характеристики генетического профиля опухоли и экспрессии продуктов мутантных генов;

терапевтические - разработка генетических основ резистентности опухолей к химио- и лучевой терапии, трансфекция гена-супрессора в клетки с его дефектом. Отдельно отметим, что разработка и внедрение генетических методов, позволяющих прогнозировать радиочувствительность нормальных и опухолевых тканей организма онкологических больных с целью оптимизации лучевой терапии особенно актуально в связи с повышением онкологической заболеваемости в регионах, пострадавших вследствие Чернобыльской катастрофы;

профилактические - выявление носителей мутантных генов, оценка канцерогенного риска у родственников онкологических больных и т.д.

И, наконец, какова же роль изменений генома в старении человека, которое сопровождается повышением вероятности развития таких угрожающих жизни заболеваний, как рак? Прежде всего, это постепенное накопление мутаций в геноме и возможное существование специфических генов, мутации которых способны ускорять процессы старения и, таким образом, повышать канцерогенный риск [33, 34]. Исследования долгожителей и их родственников указывают на то, что, по-видимому, в 4-й хромосоме располагается ген, играющий определя-

ющую роль в достижении исключительного долголетия [1]. Полагаем, что одним из достижимых результатов в решении данной проблемы является усиление эффективности систем репарации ДНК, что, препятствуя накоплению мутаций в геноме, будет способствовать снижению канцерогенного риска.

#### Литература

1. Макконки Э. Геном человека. - М.: Техносфера, 2008. - 288 с.
2. Jakson A.L., Loeb L.A. The mutation rate and cancer// *Genetics*. - 1998. - V. 148. - P. 1483-1490.
3. Lengauer C., Kinzler K.W., Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers// *Nature*. - 1998. - V. 396. - P. 643-649.
4. Christians F. C., Newcomb T.G., Loeb L.A. Potential sources of multiple mutations in human cancers// *Prev. Med.* - 1995. - V. 24. - P. 329-332.
5. Kirsch I.R., Abdallan J.M., Beriness V.L. et al. Lymphocytespecific genetic instability and cancer// *Cold. Spring Harbor Symposia on Quantitative an Biology*. - 1994. - V. LIX. - P. 287-295.
6. Tanooka H., Ootsuyama A. Non-linear threshold dose response tumorigenesis by repeated  $\gamma$ -irradiation and p53 mutations involved// *Proc. 10-th Int. Congr. Radiat. Res. Warsburg*. - 1995. - V. 1. - P. 96.
7. Гофман Дж. Чернобыльская авария: радиационные последствия для настоящего и будущего поколений. - Минск: Высшейша шк., 1994. - 574 с.
8. Барабой В.А. Чернобыль: десять лет спустя. Медицинские последствия радиационных катастроф. - Київ: Чернобыль-інтерінформ, 1996. - 188 с.
9. Бурлакова Е.Б., Голощанов А.Н., Горбунов Н.В. и др. Особенности биологического действия малых доз облучения// *Радиац. биология. Радиоэкология*. - 1996. - № 4. - С. 610-631.
10. Стрельцова В.Н., Москалев Ю.И. Отдаленные послед-

ствия радиационного поражения. Бластомогенное действие. - М.: ВИНТИ, 1985. - Т. 5. - 181 с.

11. Menko F.H. Erfelijke aspecten van colonen rectumcarcinoom; risicolepaling voor screening// *Ned. Tijdscher. Geneesk.* - 1991. - V. 135. - P. 928-932.
12. Mitelman F. Chromosomes, genes and cancer// *Ca: a Cancer Journal for Clinicians*. - 1994. - V. 44. - P. 133-135.
13. Mitelman F., Heim S. Clinical-cytogenetic correlations in solid tumors// *Challenges of Modern Medicine. Precancerous Lesions: A Multidisciplinary approach*. Rome: Ares-Serono Symp. Publ. - 1993. - P. 91-98.
14. Pathak S., Godacre A. Specific chromosome anomalies and predisposition to human breast, renal cell and colorectal carcinoma// *Cancer Genet. Cytogenet.* - 1986. - V. 19. - P. 29-36.
15. Pathak S., de Lucca E.J., Polyzos A. Chromosomal evolution in a human breast tumor: A comparison of results 12 years apart// *Chromatin*. - 1992. - V. 1. - P. 7-17.
16. Widrick B., Boman B. Chromosome 5 allele loss at the glucocorticoid receptor locus in human colorectal carcinomas// *Biochem. Biophys. Res. Commun.* - 1988. - V. 150. - P. 591-598.
17. Balazs M., Mayall B.H., Waldman F.M. Interphase cytogenetics of a male breast cancer// *Cancer Genet. Cytogenet.* - 1991. - V. 55. - P. 243-247.
18. Hagmar L., Brogger A. Hansteen I. et al. Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic Study Group on the health risk of chromosome damage// *Canser Res.* - 1994. - V. 54. - P. 2919-2922.
19. Moon M.A. Colorectal cancer risk identified by analysis of blood cells// *Res. Resour. Report*. - 1992. - V. 16. - P. 1-3.
20. Monakhov A.S. Yakovleva T.K., Anisimov V.N. Dynamics of chromosomal damages in peripheral blood lymphocytes during carcinogenesis induced by nitrosomethylurea in female rats // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* - 1992. - V. 11. - P. 71-81.
21. Monakhov A.S., Semiglazov V.F., Bregneva T.V.

Cytogenetic markers in 100% of blood lymphocytes in proband and her daughter in familial breast cancer// *Abstr. XIII Meet of the European Association for Cancer Research, 1994.* - P. 103.

22. Udayakumar A.M., Krishna Bhargava M. Chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of breast cancer patients prior to any therapy// *Ann. Genet.* - 1994. - V. 37. - P. 192-195.

23. Varesco L., Thomas H.J., Williams S. et al. Clones from a deletion encompassing the adenomatous polyposis coli gene // *Cytogenet. Cell Genet.* - 1989. - V. 51. - P. 1098-1100.

24. Monakhov A.S., Semiglazov V.F., Bregneva T.V. Cytogenetic marker in 100% of blood lymphocytes in three members of the family with high predisposition to cancer development// *J. Exp. Clin. Cancer Res.* - 1995. - V. 14. - P. 265-269.

25. Trent J.M., Weber B., Guan X.Y. et al. Microdissection and microcloning of chromosomal alterations in human breast cancer// *Breast Cancer Res. Treat.* - 1995. - V. 33. - P. 95-102.

26. Brooks S.E. Cancer registries and chromosomes [editorial] // *West. Indian. Med. J.* - 1994. - V. 43. - P. 111-112.

27. Монахов А.С. Раннее выявление опухолевых заболеваний по цитогенетическим критериям, определяемым в лимфоцитах периферической крови// *Вопросы онкологии.* - 2001. - Т. 47. - № 4. - С. 401-407.

28. Дьоміна Е.А., Дружина М.О., Рябченко Н.М. Індивідуальна радіочутливість людини. - Київ: Логос, 2006. - 126 с.

29. Бездробний Ю.В., Божок О.В. Изменение активности 5-нуклеотидазы и протеинкиназы плазматической мембраны печени в зависимости от мощности дозы при рентгеновском облучении крыс// *Радиобиология.* - 1992. - Т. 32, № 3. - С. 362-367.

30. Streffer C. Geneticshe pradisposition und strahlenempfindlichkeit bei normalen gewebe// *Strahlenther. Onkol.* - 1997. - V. 173. - P. 462-468.

31. Sanberg A.A. Chromosome abnormalities in human cancer

and leukemia// *Mutat. Res.* - 1991. - V. 247, № 2 - P. 231-240.

32. Поліщук Л.З., Чехун В.Ф. Досягнення онкогенетики та їх значення для профілактики та ранньої діагностики і терапії раку / *Онкологія-XXI: Матер. наук.-практ. конф.* - Київ, 2003. - С. 265-272.

33. Клаг У., Каммингс М. Основы генетики. - М.: Техносфера, 2007. - 894 с.

34. Сампайрак Л. Что такое рак ? - М.: Техносфера, 2006. - 232 с.

#### Резюме

**Демина Э.А., Бариляк И.Р.** Генетические основы рака.

В настоящее время достигнут значительный прогресс в понимании механизмов канцерогенеза, в том числе радиационного. Накоплен большой фактический массив данных, свидетельствующий об определяющей роли изменений генетического материала клеток в развитии рака. В обзоре освещены современные представления о молекулярно-генетических основах развития злокачественных новообразований.

**Ключевые слова:** рак, мутации, ген, радиация.

#### Резюме

**Дьоміна Е.А., Бариляк І.Р.** Генетичні основи раку.

На цей час досягнуто значного прогресу в розумінні механізмів канцерогенезу, в тому числі радіаційного. Накопичено великий фактичний масив даних, який свідчить про визначаючу роль змін генетичного матеріалу клітин в розвитку раку. В огляді викладено сучасні уявлення щодо молекулярно-генетичних основ розвитку злоякісних новоутворень.

**Ключові слова:** рак, мутації, ген, радіація.

#### Summary

**Domina E.A., Barilyak I.R.** Genetics bases of cancer.

The considerable progress is achieved in the present time in understanding by mechanism of cancerogenesis. Many facts are accumulations, which indicates about leading role of changes in genetics structures of cells for beginning of cancer. The molecular-genetic bases by development of cancer are coverage in review.

**Key words:** cancer, mutation, gene, radiation.