

Генетична нестабільність багатоклітинного організму: притаманність системи імунітету та неоплазій

О. В. Кайряк

Донецький національний медичний університет, Лиман, Україна

Ключові слова: генетична нестабільність, реаранжування геному, некодуючі послідовності ДНК, гени-стрибунці, L1- та ALU-повтори.

Вступ

Під час написання цієї статті ми шукали сучасну дефініцію пухлинного процесу, але не знайшли її. Найбільш ємне визначення надав Р. Б. Хесін: у злоякісній пухлині порушений шлях до кінцевого диференціювання, який супроводжується збільшенням клітинної маси внаслідок підвищення темпу проліферації або зниження рівня апоптозу та супроводжується генетичною нестабільністю, інвертованістю транскриптому та протеому. Однією з ключових властивостей пухлинної клітини, на відміну від нормальної, є високий рівень генетичної нестабільності [4, 9]. «Причиною та основною рушійною силою пухлинного росту та прогресії є нестабільність геному пухлинних клітин та обумовлена цим надзвичайна пластичність їх властивостей» [1].

Генетична нестабільність формує властивості пухлинних клітин, що відрізняють їх від нормальних: незалежність проліферації від зовнішніх стимулів, резистентність до зростання інгібувальних сигналів, торпідність до апоптозу, нездатність адекватно підтримувати зв'язки з клітинами того ж виду, потенціальне безсмертя, інвазія та метастазування. Хромосомні аномалії, які визначаються цитогенетично, типові для багатьох видів пухлин.

Деякі хромосомні аномалії є маркером новоутворень. Класичним прикладом є поява філадельфійської хромосоми при хронічному мієлолейкозі [5]. Сучасна теоретична онкологія розглядає утворення злоякісної пухлини як довгий, багатосходовий процес, за якого порушені генетична рекомбінація, репарація ДНК, сегрегація хромосом та контроль клітинного циклу [8].

Генетична нестабільність у клітинах імунної системи

Однак генетична нестабільність притаманна деяким клітинам еукаріот і в нормі.

Одна з парадигм теоретичної онкології формулює властивість набуття пухлинними клітинами антигенів, властивих в нормі іншим тканинам і органам з паралельною втратою антигенів, в нормі експресованих цією тканиною, і антигенів гістосумісності

1-го класу. Для деяких варіантів пухлин характерною є поява ембріональних антигенів. Антигенна мімікрія пухлинних клітин є наслідком дефектів диференціювання, внаслідок чого відбувається дерепресія гетерохроматинових ділянок геному, які в нормі проявляються під час диференціювання інших тканин та органів. Складається враження, що в ряді випадків пухлинними клітинами запозичуються властивості, які в нормі притаманні клітинам імунної системи, а саме набуття здатності до міграції. Найбільш вивченим феноменом реаранжування геному в нормальних клітинах є процес генетичних перебудов, без яких неможливим є адекватне функціонування імунної системи.

Колосальна різноманітність спектру антитіл в організмах хребетних забезпечується принципом комбінаторики — однією з аксіом, що лежить в основі побудови живої матерії. Завдяки використанню живими системами цього принципу створюється можливість синтезу антитіл і, відповідно, захисту макроорганізму, практично до будь-якого антигену.

Дослідження групи Сусуму Тонегава (Susumu Tonegawa)

Піонером у дослідженні генетичного контролю імунної відповіді став колектив вчених, керованих Сусуму Тонегава [25]. У нобелівській лекції, прочитаній в Стокгольмі 8 грудня 1987 г., автор поділився зі слухачами історією відкриття.

Раніше Джеральдом Едельманом і Родні Портером було показано, що молекулу імуноглобуліну можна розчленувати на два легкі і два важкі ланцюги.

Також було відомо, що кінці цих ланцюгів різко відрізнялися за складом амінокислот: карбоксильний кінець характеризувався меншою варіабельністю, а протилежний йому — більшою. У подальшому ділянки ланцюгів імуноглобулінів були названі варіабельною (V) та константною (C) ділянками.

Парадокс полягав у тому, що під час клонування РНК з клітин зародкової лінії та зрілих імуннокомпетентних лімфоцитів було отримано різні транскрипти!

Цей парадокс не можна було пояснити теорією, яка існувала на той час і полягала в тому, що імуноглобуліни, як і більшість білків, збираються в готовому вигляді з окремих білкових субодиниць.

Єдине припущення, що пояснює парадокс, відносилось до розряду «шалених» гіпотез.

Невідповідність послідовностей з клітин зародкової лінії та клітин мієломи, що використовувалися в експерименті, пояснювалася наявністю «перестановок» ділянок ДНК, що кодують варіабельну (V) та константну (C) частини імуноглобулінів

Щоб докопатися до істини, було вирішено використовувати технологію гібридизації ДНК – РНК.

Однак перші експерименти були малоінформативними, оскільки гібридизація РНК відбувалася не тільки з шуканою послідовністю, а й з послідовностями ДНК з частковою гомологією. Вирішено було клонувати та напрацювати кількість сДНК, необхідну для подальших досліджень V- та C-генів.

Групою С. Тонегави вперше було створено бібліотеку послідовностей ДНК та виділено в чистому вигляді послідовності унікальних генів. Це стало можливим завдяки застосуванню ферментів рестрикції, що розрізають послідовність лише між певними нуклеотидами. Наступний «розгін» фрагментів по молекулярній масі в гель-електрофорезі, вирізання, вилучення ДНК з гелю агарози за допомогою солей йоду, вбудовування в плазмиди та напрацювання шуканої послідовності практично в необмеженій кількості стала фундаментом подальших досліджень групи. Основні висновки проведених експериментів зводилися до того, що V-і C-гени піддаються перебудові і ДНК клітин мієломи знаходилися ближче одна до одної, ніж в клітинах зародкової лінії.

Проте вони є розділеними некодуючою білок послідовністю протяжністю кілька тисяч пар нуклеотидів. Автори відкриття назвали цю послідовність інтроном. У результаті рекомбінації один з V-генів виявляється з'єднаним з J (joining)-сегментом, що знаходиться праворуч від V-регіону, у той час як C-ділянка все ж відокремлена від VJ-послідовності спейсером.

Повне поєднання VJC-послідовності відбувається в результаті сплайсингу інформаційної РНК, яка є матрицею для синтезу поліпептидного ланцюга. Перші публікації результатів успішних досліджень С. Тонегави відносяться до 1977–1978 рр., у завершеному вигляді результати відкриття опубліковані в 1983 р. [25].

Таким чином, було показано, що мутаційний процес є невід'ємною частиною функціонування імунної системи вищих еукаріотів.

У подальших дослідженнях, присвячених генетичному контролю за імунною відповіддю, було уточнено деталі процесу реаранжування геному. У людини локуси генів важкого ланцюга розташовуються у 14-й хромосомі (група D), каппа-гени легкого ланцюга – на 2-й (група A), лямбда-гени легкого ланцюга – на 22-й хромосомі (група G). Деталі цього процесу відображені в огляді В. А. Галицького і С. В. Комісаренко [3].

Дослідження групи О. К. Фролова

Приблизно одночасно з групою S. Tonegawa [25], яка працювала в Базелі над проблемою генетичного контролю імунної відповіді, у Донецьку на базі Донецького медичного інституту імені М. Горького група О. К. Фролова отримала цитогенетичні дані про генетичну нестабільність лімфоцитів як одну з фаз продуктивної імунної відповіді [6, 7].

Великі (D) та малі (G) акроцентрики формують в інтерфазному ядрі ядерця. Ядерце є структурою, що здійснює експорт та імпорт РНК та ядерних білків. У непроліферуючих клітинах акроцентрики анастомозують між собою короткими плечима. При цитогенетичному аналізі метафазних пластин можна побачити, що акроцентричні хромосоми звернені одна до одної короткими плечима, відстань між ними не перевищує розміру короткого плеча малого (G) акроцентрика. Ці структури є асоціаціями акроцентричних хромосом та відображають ступінь зв'язку акроцентриків в інтерфазному ядрі. На початку 1970-х років на базі Донецького медичного інституту О. К. Фроловим було зареєстровано факт зв'язку асоціацій акроцентричних хромосом зі ступенем проліферації клітини [6].

Дизайн дослідження був побудований на вивченні асоціацій акроцентриків у лімфоцитах периферичної крові, що культивувалися протягом 48 годин до та через 21 день після ревакцинації вакцинами проти віспи, паротиту, черевного тифу. Чим вищий ступінь проліферації клітини, тим менше асоціацій акроцентриків ідентифікується в метафазних пластинках.

Також було виявлено зв'язок між ступенем імунногенності вакцини (за ступенем зростання титрів антитіл до тестованого антигену до і через 21 день після щеплення) та її мутагенного ефекту, що оцінюється за кількістю аберацій у метафазних хромосомах лімфоцитів. Найбільш частими абераціями були одиночні й парні фрагменти хромосом та одиночні й парні хроматидні прогалини.

З плином часу стає зрозумілим, чому в інтенсивно проліферуючій імунокомпетентній клітині акроцентричні хромосоми роз'єднані. У нелімфоїдних клітинах гени, що кодують ланцюги імуноглобулінів, знаходяться у складі факультативного гетерохроматину. Так як ділянки геному, що знаходяться у складі гетерохроматину, є інертними, нездатними пов'язувати транскрипційні фактори, першим етапом активації цих ділянок є ремоделювання гетерохроматину. У попередників В-лімфоцитів на стадії пре-/проВ-клітин під впливом сигналу від рецепторів інтерлейкіну-7 алелі локусів імуноглобулінів переміщуються в еухроматиновий компартмент ядра. Репозиція індукує деметилування обох алельних локусів, ацетилювання гістонів H3 та H4, смислому та антисмислому транскрипцію неперебудованих алелів [3, 13].

Некодуючі повторювані послідовності

Реаранжування геному найчастіше здійснюється за безпосередньої участі повторюваних послідовностей.

Повторювані елементи становлять, на думку різних дослідників, 30–50% обсягу геному ссавців.

Їх можна класифікувати за механізмом розмноження. ДНК-транспозони для своєї репродукції використовують механізм cut and paste, тоді як РНК-транспозони користуються механізмом сору and paste. На LTR-послідовності припадає 9,24%, не-LTR-структури становлять 35,19%. ALU-повтори представлені 10,76%, L1 — 17,88%, MIR — 2,93%, L2 — 3,62% [22].

Незважаючи на те, що на повторювані послідовності припадає левова частка загального обсягу геному, послідовності, які активно розмножуються, представлені лише невеликою частиною. Цей факт дозволяє зробити припущення, що неактивні повторювані послідовності відіграють важливу регуляторну роль у функціональній діяльності геному клітини.

LINE-послідовність порівняно з ALU є більш протяжною та налічує до кількох тисяч нуклеотидних пар.

«Життєвий цикл» L1-повторів можна розбити на 3 періоди. Перший крок здійснюється РНК-полімеразою II, що використовує внутрішній промотор L1 для транскрипції РНК.

У другому періоді життєвого циклу з РНК L1 транслуються 2 протеїни: ORF1p, що має здатність зв'язуватися з однопітковою РНК, і ORF2p, який має властивості ендонуклеази та зворотної транскриптази. Протеїни, що виникли, утворюють комплекс з РНК — транскриптом L1, який потім транспортується в ядро клітини. У третьому періоді здійснюється зворотна транскрипція в таргетну ДНК з консенсусною послідовністю ДНК-господаря 5'TTTTAA3', причому 3'-гідроксильна група використовується як праймер зворотної транскрипції [22]. Водночас у ранніх роботах, які стосуються 1970–1980 років постулювалася необхідність праймування процесу зворотної транскрипції транспортною РНК [9]. Не виключено, що як праймер зворотної транскрипції може бути використана мікроРНК. На користь висловленого теоретичного припущення говорить факт утворення мікроРНК одночасно зі смисловою і антисмисловою нитками L1-повторів. Найбільш вірогідно, що інформація про майбутню мікроРНК закодована в 3'-UTR ділянці. Кількість копій L1 становить приблизно 500 000 на геном, але функціонально активними є близько 100 послідовностей. Активність L1 у нормальних тканинах регулюється за допомогою метилювання, РНК-інтерференції. Механізми інгібування активності L1-ретротранспозонів відрізняються тканиною специфічністю. У клітинах статевого шляху чоловіків експресія ретротранспозонів регулюється РІWІ мікроРНК, які визначають ультимативне метилювання послідовностей L1. Це відбувається за участю DNMT3L і MIWI2. Сперматогенез є дуже цікавою моделлю гетерохроматизації. У стовбурових клітинах ембріона в передімплантаційний період послідовності L1 метилюються за допомогою метилтрансфераз DNMT1, DNMT3a, DNMT3b. Останні дві метилтрансферази метилюють ДНК *de novo*, тоді як DNMT1 є підтримувальною метилтрансферазою. При реплікації ДНК цей фермент

відтворює малюнок метилома, характерний для батьківської нитки. Водночас є відомості, що в інтерфазному ядрі смислова та антисмислова нитки мають різний характер метилювання, визначаючи цим патерни транскрипції. Більшість цих структур виникла завдяки інкорпорації мобільних елементів у ДНК виду-господаря. Послідовності, що повторюються, регулюють активність структурних генів шляхом появи альтернативних промоторів, сайтів термінації транскрипції та сплайсингу. Вбудовування мобільних елементів у нові ділянки ДНК призводить до порушення роботи структурних генів та асоційоване з генетичними синдромами.

Інсерції L1 відіграють певну роль у пухлинній прогресії, оскільки здатні активувати онкогени та інактивувати гени-онкосупресори. Lee з колегами описав 183 інсерції L1 у клітинах пухлин передміхурової залози, товстої кишки та яєчника. Гіпометилювання промотора L1 зареєстровано при мієломній хворобі, хронічному мієлоїдному та хронічному лімфолейкозі.

Також гіпометилювання L1 послідовності описано як один з доклінічних проявів пухлинної хвороби при колоректальному раку, наслідком чого є порушення «правильної» генної експресії, характерної для епітелію товстої кишки [23]. Гіпометилювання L1 зареєстровано також при уротеліальному та гепатоцелюлярному раку [19, 24], раку передміхурової залози [14], ендокринних варіантах пухлин підшлункової залози та карциноїдних пухлинах [15]. Генетичну нестабільність клітини L1 індукують шляхом гомологічної та негомологічної рекомбінацій, делецій, транслокацій.

При дослідженні рівня метилювання 48 зразків нормальної та пухлинної тканин, взятих у пацієнтів з недрібноклітинним раком легені, виявлено достовірно значуще зниження рівня метилювання L1- та ALU-повторів у пухлинній тканині порівняно з нормою, причому більш виражене зниження рівня метилювання характерне для повторів L1. Гіпометилювання повторів обох типів корелювало з вираженістю генетичної нестабільності [16].

ALU-елементи

Серед послідовностей геному людини, що повторюються, особливий інтерес викликають SINE-послідовності, найбільш часто представлені ALU-елементами.

Геном людини містить близько мільйона копій ALU-повторів, розсіяних по геному. На 5 кб геному припадає 1 ALU-елемент. Своє ім'я ALU-послідовності отримали від бактеріальної ендонуклеази ALU-1, яка розрізає більшість членів цього сімейства повторюваних послідовностей. ALU-елементи пішли від 7SL RNA-гена в туманну давнину, ще до розгалуження еволюційних шляхів гризунів та приматів на дереві ссавців. Послідовність предкового типу еволюціонувала у гризунів у B1, у той час як у приматів відбулася дуплікація, в результаті якої утворилися FLAM (лівий мономер) та FRAM (правий мономер) ALU-повтору.

Найбільш древньою є J-підродина ALU-повторів. Для людини характерним є домінування Ya5

Yb8-сукупностей. Найбільш активною і доміантною є S-підродина, яка, у свою чергу, ділиться на Sx-, Sq-, Sp-, Sc- сукупності. Повнометражне комп'ютерне порівняння геномів шимпанзе та людини за ALU-повторами дозволяє припустити, що дивергенція цих таксонів відбулася близько 6 млн років тому. У геномі шимпанзе зафіксовано 2400 специфічних ALU-інсерцій, тоді як у геномі людини — близько 5000.

Більшість послідовностей ALU є неактивними. Цей факт дозволив сформулювати концепцію «паразитичної» ДНК. Однак дослідження, які проводяться в останні роки, показали важливу регуляторну роль ALU-послідовностей модифікації генної експресії.

ALU-елементи превалюють у районах, багатих структурними генами, тоді як L1 частіше відмічають у районах, збіднених структурними генами.

РНК ALU-повторів превалює в сумарній РНК-популяції первинних ядерних транскриптів, оскільки зчитується полімеразою 2 з генів, які активно працюють. Локалізація ALU-повторів у 3'-ділянці, що не транскрибується, спостерігається у 5–10% РНК-транскриптів [17]. Можливо, у цьому випадку ALU-послідовність ДНК використовує шпильки, утворені просторовою структурою нуклеїнової кислоти для швидкого термінування транскрипції.

ALU-повтори є медіаторами реорганізації геному та явищ гомологічної та негомологічної рекомбінації, внаслідок чого спостерігаються такі цитологічні порушення, як транслокації, дуплікації, делеції та інверсії.

Типовий ALU-елемент складається з 300 нуклеотидних пар і містить внутрішній промотор, розділений спейсером на дві частини (А- і В-бокси). Промотор для РНК-полімерази 3 розташований на лівому плечі послідовності ALU. Для розмноження ALU-елементи кооперуються з L1 і використовують останні білки для зворотної транскрипції. Факт локалізації ALU-елементів в інтронах і промоторних ділянках генів, що активно транскрибуються, дозволяє припустити, що ці послідовності задіяні в регуляції генної експресії. Особливістю ALU-повторів є характер вбудовування — поодиноці, парами, у прямій та зворотній орієнтації [17, 18]. Паліндроми ALU-повторів завжди метильовані. Локалізація метильованого ALU-паліндрому в промоторній ділянці гена забезпечує його сайленсування, тобто ген перестає працювати. У такий спосіб здійснюється регуляція активності гена. Припускають, що «родовід» цієї послідовності бере початок від РНК-вірусів, що використовують ревертазу для вбудовування в геном.

Альтернативний сплайсинг є механізмом, що дозволяє з одного гена отримати різноманітний репертуар білкових структур. Альтернативний сплайсинг здійснюється шляхом варіації донорних та акцепторних ділянок сплайсингу в структурі первинної пре-мРНК.

Одним зі шляхів, що забезпечують варіабельність білків, є екзонізація, за якої інтронна послідовність або її частина завдяки зміні сайтів

сплайсингу стає екзоном і не вирізається з первинної послідовності матричної РНК.

ALU-послідовність містить 9 потенційних донорних та 14 потенційних акцепторних сайтів сплайсингу, причому 19 з 23 потенційних сайтів сплайсингу наявні на мінус-нитці ALU-повтору.

Цікаво, що близько 85% ALU-елементів, локалізованих в екзонах, походять від ALU-послідовності, прочитаної з антисмислової нитки. Загальна кількість послідовностей у внутрішніх екзонах генів, що походять від повторів ALU, оцінюється в 5% [18]. Крім того, послідовність ALU, локалізована в інтронах, є мішенню більш інтенсивного точкового мутагенезу, у результаті чого утворюються нові сайти альтернативного сплайсингу.

При лікуванні пацієнтів з пухлинами препарати платини є одним з найпоширеніших хіміопрепаратів [10]. Платина пов'язується з пуринами, які в ALU-повторах є достатньо поширеними. Можливо, ефект цього лікарського засобу пов'язаний не тільки з клітинною загибеллю, але й зі збільшенням точкового мутагенезу.

Редагування РНК

Редагування РНК визначається як зміна первинної нуклеотидної послідовності РНК порівняно з відрізком ДНК, з якого ця послідовність була транскрибована. Краще за інші варіанти редагування на цей час вивчений процес дезамінування. Дезамінування призводить до конверсії аденозину в інозин та цитозину в урацил.

Однією з важливих аксіом, пов'язаних з дезамінуванням, є положення про дезамінування аденозину тільки в складі дволанцюгових вторинних структур, утворених РНК [12]. Дезамінування аденозину здійснюється дезаміназами сімейства ADAR. Біологічна роль дезамінування в фізіології клітини дотепер багато в чому є загадковою, проте факт нокдауну ADAR 1 є

ембріональною летальною мутацією, що змушує припускати важливість А-І-редагування у життєдіяльності клітини та макроорганізму. ADAR 2 (-)-миші вмирають молодими і схильні до нападів [18]. У разі дефіциту аденозиндезаміназ спостерігається один з варіантів первинного комбінованого імунодефіциту, що характеризується ураженням Т-і В-систем імунітету (BOO3, 1987) [2, 5]. Зараз з'явилися роботи про вплив ADAR1 на функціонування вродженої ланки імунітету. Дезамінування аденозину в окремих положеннях дозволяє розрізнити ендogenous дволанцюгові РНК від екзогенних вірусних послідовностей і марно не індукувати імунну відповідь на ендogenous патерни небезпеки [20]. Це клінічне спостереження свідчить про причетність дезамінування до процесів реаранжування геному, без якого неможливим є адекватне функціонування імунної системи.

Дезамінування аденозину впливає на рівень артеріального тиску людини. Інтенсивна транскрипція кодуючих білки генів призводить до збільшення кількості вирізаних інтронів, які замикаються у кільце, потрапляють у міжклітинне середовище та згодом розпадаються на нуклеотиди.

Підвищення рівня аденозину співпадає з підвищенням тиску. Якщо працюють ферменти ADAR, перетворюючи аденозин на інозин, цього не трапляється. Джерелом аденозину можуть слугувати і загиблі клітини внаслідок некрозу.

Дезамінування аденозину перетворює його на інозин. Понад 90% випадків дезамінування аденозину припадає на РНК ALU-повторів, причому 54% редагування цього виду трапляється в 3'-нетрансльованих регіонах матричної РНК, 12% — в 5'-нетрансльованих ділянках, а 33% припадає на інтрони. Цікаво, що аденозин ALU-повторів у 27-, 28-, 136- і 162-му положеннях послідовності піддаються А-І-редагуванню частіше, ніж в інших положеннях.

Крім того, найчастіше спостерігається дезамінування аденозину в консенсусній послідовності, коли над аденозином знаходиться тимін, а під аденозином розташований гуанін [18]. Є відомості, що А-І редагуються ті ALU-повтори, які розташовані в 3'-ділянці, що не транслюється, в протилежній орієнтації [11]. Чи відбудеться редагування чи ні, багато в чому залежить від величини спейсера, що

поділяє 2 ALU-елементи протилежної орієнтації.

При пухлинній хворобі рівень РНК ALU-елементів підвищується в порівнянні з нормальною тканиною того ж органу [8]. Крім того, багато генів, продукти яких залучені в процеси репарації ДНК, генетичної рекомбінації, сегрегації хромосом, контролю клітинного циклу «нафаршировані» ALU-послідовностями. Прикладом може бути ген *BRCA-1*, продукт якого залучений у всі перелічені вище процеси клітинної життєдіяльності. У структурі цього гена в людини налічується 129 ALU-елементів [21].

Висновки

Поряд із системами, що підтримують генофонд у незмінному стані, без мінливості існування вищих еукаріотів було б просто неможливим через використання мутаційного процесу імунокомпетентними клітинами як інструменту створення варіабельних центрів імуноглобулінів та клітинних рецепторів. Розплатою за досконалість є виникнення злоякісних пухлин, що використовують генетичну нестабільність, яка в нормі властива імунній системі, для власного зростання та розвитку.

Список літератури:

1. Бережной А. Е., Гнучев Н. В., Георгиев Г. П. и др. Молекулярные механизмы взаимодействия опухоли и иммунной системы. Вопросы онкологии. 2008; 54(6): 669–683.
2. Вершигора А. Е. Основы иммунологии. Киев: «Вища школа»; 1975. 502 с.
3. Галицький В. А., Комісаренко С. В. Рекомбінація у локусах імуноглобулінових генів. Біополімери і клітина. 2009; 25(1): 12–26.
4. Ганина К. П. Цитогенетическая диагностика в онкоморфологии. Киев: «Наукова думка»; 1980. 173 с.
5. Давиденкова Е. Ф., Либерман И. С. Клиническая генетика. Лен.: «Медицина»; 1975. 429 с.
6. Фролов А. К., Фролов В. К., Сохин А. А. Хромосомные аберрации и ассоциации акроцентрических хромосом у лиц, ревакцинированных против оспы. Цитология и генетика. 1973; 7(2): 150–153.
7. Фролов А. К., Сохин А. А., Гражданов Н. П. и др. Сравнительное изучение иммуногенности и мутагенности паротитной вакцины цитогенетическим и серологическим методами. Детские инфекции. 1978; 8: 40–43.
8. Танг Р. Б., Юан Я., Йинг К. и др. Ретротранспозонная активация элементов ALU, нестабильность генома и канцерогенез. Экспериментальная онкология. 2003; 25(3): 225–227.
9. Хесин Р. Б. Непостоянство генома. Москва: «Наука»; 1985. 472 с.
10. Химиотерапия злокачественных новообразований. Ред. Э. Чу и В. Де Вита-младший. Москва: «Практика»; 2008. 447 с.
11. Athanasiadis A., Rich A., Maas S. Widespread A to I RNA editing of ALU-containing mRNAs in the human transcriptome. PLoS Biol. 2004; 2: 391.
12. Chen L. L., Carmichael G. G. Gene regulation by SINES and inosines. Cell Cycle. 2008; 7: 21. P. 32943301.
13. Corcoran A. E., Riddell A., Krooshoop D., Venkitaraman A. R. Impaired immunoglobulin gene rearrangement in mice lacking the IL7 receptor. Nature. 1998; 391(6670): 904–907.
14. Cho N. Y., Kim B. H., Choi M. et al. Hypermethylation of CpG island loci and hypomethylation of LINE-1 and ALU repeats in prostate adenocarcinoma and their relationship to clinicopathological features. J. Pathology. 2007; 211: 269–277.
15. Choi I. S., Estecio M. R., Nagano Y. et al. Hypomethylation of LINE-1 and ALU in well-differentiated neuroendocrine tumors (pancreatic endocrine tumors and carcinoid tumors). Mol. Pathology. 2007; 20: 802–810.
16. Daskalos A., Nikolaidis G., Xinarianos G. et al. Hypomethylation of retrotransposable elements correlates with genomic instability in non-small cell lung cancer. Int. J. Cancer. 2009; 124: 81–87.
17. Deininger P. Alu elements: know the SINES. Genome Biology. 2011; 12: 236–248.
18. Hasler J., Strub K. Alu elements as regulators of gene expression. Nucleic Acids Research. 2006; 34(19): 5491–97.
19. Jurgens B., Schmitz-Drager B. J., Schulz W. A. Hypomethylation of L1 LINE-1 sequences prevailing in human urothelial carcinoma. Cancer Res. 1996; 56: 5698–5703.
20. Keegan L. P., Hajji K., O'Connell M. Adenosine Deaminase Acting on RNA (ADAR) Enzymes: A Journey from Weird to Wondrous Published as part of the Accounts of Chemical Research special issue "RNA Modifications". Acc. Chem. Res. 2023; 56: 3165–3174. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.3c00433>.
21. Pavlicek A., Noskov V., Kouprina N. et al. Evolution of the tumor suppressor BRCA 1 locus in primates: implications for cancer predisposition. Human Molecular Genetics. 2004; 13(22): 2737–2751.

22. Rodic N., Burns K. H. Long Interspersed Element-1 (LINE-1): Passenger or Driver in Human Neoplasms? *PLOS Genetics*. 2013; 9: e1003402: 1–5.
23. Suter C. M., Martin D. I., Ward R. L. Hypomethylation of L1 retrotransposons in colorectal cancer and adjacent normal tissue. *Int. J. Colorectal. Dis.* 2004; 19(2): 95–101. doi: 10.1007/s00384-003-0539-3.

24. Takai D., Yagi Y., Habib N. et al. Hypomethylation of LINE-1 retrotransposon in human hepatocellular carcinomas, but not in surrounding liver cirrhosis. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2000; 30: 306–309.
25. Tonegawa S. Somatic generation of antibody diversity. *Nature*. 1983; 302(5909): 575–581.

УДК 616-006+612.6-085

doi: 10.33149/vkpr.2023.02.09

UA Генетична нестабільність багато-клітинного організму: притаманність системи імунітету та неоплазій

О. В. Кайряк

Донецький національний медичний університет, Лиман, Україна

Ключові слова: генетична нестабільність, реаранжування геному, некодуючі послідовності ДНК, гени-стрибунці, L1- та ALU-повтори.

Однією з ключових властивостей пухлинної клітини, на відміну від нормальної, є високий рівень генетичної нестабільності. Причиною та основною рушійною силою пухлинного росту та прогресії є нестабільність геному пухлинних клітин та обумовлена цим надзвичайна пластичність їх властивостей. Генетична нестабільність формує властивості пухлинних клітин, що відрізняють їх від нормальних: незалежність проліферації від зовнішніх стимулів, резистентність до зростання інгібувальних сигналів, торпідність до апоптозу, нездатність адекватно підтримувати зв'язки з клітинами того ж виду, потенціальне безсмертя, інвазія та метастазування. Хромосомні аномалії, які визначаються цитогенетично, типові для багатьох видів пухлин. Клітинами злоякісного новоутворення запозичуються властивості, які в нормі притаманні клітинам імунної системи, а саме набуття здатності до реаранжування геному, експресії антигенів гістосумісності II класу, міграції. Найбільш вивченим феноменом реаранжування геному в нормальних клітинах є процес генетичних перебудов, без яких неможливим є адекватне функціонування імунної системи. У нобелівській лекції, прочитаній в Стокгольмі 8 грудня 1987 р. Сусуму Тонегава розповів про основні положення відкриття, зроблені його групою. Учені показали, що в плазматичних клітинах відбувається наближення варіабельної та константної частин генів імуноглобулінів у порівнянні з клітинами зародкової лінії. Уперше було описано сплайсинг РНК, за якого вирізається послідовність, яка є непотрібною в зрілій РНК імуноглобуліну. Узагалі вперше було показано, що геном не є консервативною застиглою глибою, а йому притаманні перебудови. Також було продемонстровано, що мутаційний процес є невід'ємною частиною функціонування імунної системи вищих еукаріотів. Результати відкриття опубліковано в 1983 р.

Водночас групою О. К. Фролова на базі Донецького медичного інституту імені М. Горького було отримано цитогенетичні дані про генетичну нестабільність лімфоцитів як однієї з фаз продуктивної імунної відповіді

на моделі введення вакцин проти віспи, паротиту та черевного тифу. Було показано залежність «розпаданя» асоціації ядерцеутворювальних акроцентричних хромосом від темпу проліферації лімфоцита. Кількість хромосомних мутацій у лімфоцитах прямо корелювала з висотою гуморальної імунної відповіді. Було зроблено висновок, що імунна відповідь є неможливою без мутаційного процесу та під час неї змінюється розташування хромосом у ядрі. Ці роботи опубліковано в 1973 р. в журналі «Цитологія та генетика».

Реаранжування геному найчастіше здійснюється за безпосередньої участі повторюваних послідовностей. Після завершення проєкту «Геном людини» з'ясувалося, що на гени, які кодують білки, припадає до 2% від загального об'єму. 98% геному складається з некодованої ДНК. На LTR-послідовності припадає 9,24%, не-LTR-структури становлять 35,19%. ALU-повтори представлені 10,76%, L1 — 17,88%, MIR — 2,93%, L2 — 3,62%.

Цікаво, що поява деяких видів некодуючої ДНК в геномі збігається з еволюційними ароморфозами. Наприклад, L1 обумовлюють появу плаценти у тварин. Вважають, що в нормі L1 працюють в клітинах статевого шляху та ембріогенезі, задіяні в диференціації клітин. Активність регулюється за допомогою метилювання та особливих PIWI мікроРНК. Інсерції L1 відіграють певну роль у пухлинній прогресії, оскільки здатні активувати онкогени та інактивувати гени-онкосупресори. Lee з колегами описав 183 інсерції L1 у клітинах пухлин передміхурової залози, товстої кишки та яєчника. Гіпометилювання промотора L1 зареєстровано при мієломній хворобі, хронічному мієлоїдному та хронічному лімфолейкозі, раку легені, колоректальному, уротеліальному раку, раку печінки та підшлункової залози. Генетичну нестабільність клітини L1 індукують шляхом гомологічної та негомологічної рекомбінацій, делецій, транслокацій.

ALU-повтори також є медіаторами реорганізації геному та явищ гомологічної та негомологічної рекомбінацій, внаслідок чого спостерігаються такі цитологічні порушення, як транслокації, дуплікації, делеції та інверсії. У нормі ALU-повтори регулюють активність генів. При пухлинному зростанні активність ALU-повторів підвищується, що провокує генетичну нестабільність.

Поряд із системами, що підтримують генофонд у незмінному стані, без мінливості існування вищих еукаріотів було б просто неможливим через використання мутаційного процесу імунокомпетентними клітинами як інструменту створення варіабельних центрів імуноглобулінів та клітинних рецепторів. Розплатою за досконалість є виникнення злоякісних пухлин, що використовують генетичну нестабільність, яка в нормі властива імунній системі, для власного зростання та розвитку.

EN Genetic instability of a multicellular organism: inherent in the immune system and neoplasia

O. V. Kayryak

Donetsk National Medical University, Liman, Ukraine

Key words: genetic instability, genome reorganization, non-coding DNA sequences, genes-jumpers, L1 and ALU repeats.

One of the key properties of a tumor cell, unlike a normal one, is a high level of genetic instability. The cause and main driving force of tumor growth and progression is the instability of the genome of tumor cells and, due to this, the extraordinary plasticity of their properties. Genetic instability forms the properties of tumor cells that distinguish them from normal ones: independence of proliferation from external stimuli, resistance to growth inhibitory signals, torpidity to apoptosis, inability to adequately maintain connections with cells of the same species, potential immortality, invasion and metastasis. Cytogenetically determined chromosomal abnormalities are typical for many types of tumors. The cells of a malignant neoplasm borrow the properties that normally belong to the cells of the immune system, namely the acquisition of the ability to rearrange the genome, express class II histocompatibility antigens, and migrate. The most studied phenomenon of genome rearrangement in normal cells is the process of genetic rearrangements, without which adequate functioning of the immune system is impossible. In the Nobel lecture delivered in Stockholm on December 8, 1987. S. Tonegawa spoke about the main provisions of the discovery made by his group. Scientists have shown that the variable and constant parts of immunoglobulin genes are closer in plasma cells compared to germ line cells. For the first time, RNA splicing was described, in which a sequence that is unnecessary in the mature immunoglobulin RNA is cut out. In general, it was shown for the first time that the genome is not a conservative, frozen body, but is characterized by rearrangements.

It was also shown that the mutational process is an integral part of the functioning of the immune system of higher eukaryotes. The results of the discovery were published in 1983.

At the same time, the group O. K. Frolov on the basis of the Donetsk Medical Institute named after M. Gorky, cytogenetic data were obtained on the genetic instability of lymphocytes as one of the phases of a productive immune response to vaccination models with smallpox, mumps, and typhoid vaccines. The dependence of the "disintegration" of associations of nucleoli-forming acrocentric chromosomes on the rate of lymphocyte proliferation was shown. The number of chromosomal mutations

in lymphocytes was directly correlated with the height of the humoral immune response. It was concluded that the immune response is impossible without the mutation process and during it the location of chromosomes in the nucleus changes. These works were published in 1973 in the journal "Cytology and Genetics".

The rearrangement of the genome is most often carried out with the direct participation of repetitive sequences. After the completion of the "Human Genome" project, it became clear that genes coding for proteins account for up to 2% of the total volume. 98% of the genome consists of non-coding DNA. LTR sequences account for 9.24%, non-LTR structures account for 35.19%. ALU repeats represent 10.76%, L1 – 17.88%, MIR – 2.93%, L2 – 3.62%.

It is interesting that the appearance of some types of non-coding DNA in the genome coincides with evolutionary aromamorphoses. For example, L1 determines the appearance of the placenta in animals. It is believed that normally L1 works in the cells of the genital tract and embryogenesis, involved in cell differentiation.

Activity is regulated by methylation and specific PIWI miRNAs. L1 insertions play a role in tumor progression, as they are able to activate oncogenes and inactivate tumor suppressor genes. Lee and colleagues described 183 L1 insertions in prostate, colon, and ovarian tumor cells. Hypomethylation of the L1 promoter has been reported in myeloma, chronic myeloid and chronic lymphocytic leukemia, lung cancer, colorectal cancer, urothelial cancer, liver and pancreatic cancer. Genetic instability of L1 cells is induced by homologous and non-homologous recombination, deletions, and translocations.

ALU repeats are also mediators of genome reorganization and the phenomena of homologous and non-homologous recombination, as a result of which such cytological disorders as translocations, duplications, deletions and inversions are observed. Normally, ALU repeats regulate gene activity. During tumor growth, the activity of ALU repeats increases, which provokes genetic instability.

Along with systems that maintain the gene pool in an unchanged state, without variability, the existence of higher eukaryotes would simply be impossible due to the use of the mutational process by immunocompetent cells as a tool to create variable centers of immunoglobulins and cellular receptors.

Along with systems that maintain the gene pool in an unchanged state, without variability, the existence of higher eukaryotes would simply be impossible due to the use of the mutational process by immunocompetent cells as a tool to create variable centers of immunoglobulins and cellular receptors. The payoff for perfection is the emergence of malignant tumors that use the genetic instability normally inherent in the immune system for their own growth and development.