

УДК 616.345-003.6

ЗНАЧЕННЯ ГЕНЕТИЧНИХ МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ У ДІАГНОСТИЦІ СПАДКОВО ЗУМОВЛЕНИХ НОВОУТВОРЕНЬ ТОВСТОЇ КИШКИ

М.Р. ЛОЗИНСЬКА

ДУ «Інститут спадкової патології АМН України»
Україна, 79000, Львів, вул. М. Лисенка, 35-а
e-mail: maria_lozynska@ukr.net

У роботі висвітлено основні генетичні методи дослідження, необхідні для ранньої діагностики і прогнозування виникнення спадково зумовлених новоутворень товстої кишки. Зазначено важливість генеалогічного аналізу як першого етапу обстеження пробанда для висвітлення внеску спадкових чинників у виникненні цих захворювань. Підтверджено необхідність відпрацювання і практичного впровадження в Україні комплексу сучасних методів генодіагностики та аналізу каріотипу новоутворень. Після проведення генеалогічного аналізу це є наступними етапами обстеження хворих. Розглянуті генетичні методи діагностики знайдуть своє застосування у розв'язанні одного з важливих медичних і соціально-економічних завдань сучасного суспільства – ранньої діагностики спадково зумовлених новоутворень, що дозволить зменшити обсяг оперативних втручань та знизити смертність від цих захворювань.

Ключові слова: генеалогічний аналіз, генодіагностика, каріотипування, новоутворення товстої кишки.

Вступ. На сьогодні в Україні не відомі популяційні частоти спадкових онкологічних захворювань шлунково-кишкового тракту, в т.ч. товстої кишки, не розроблені стандарти діагностики цієї патології із застосуванням новітніх генетичних методів дослідження, не проводиться генетичного консультування уражених сімей та ранньої профілактики захворювань серед родичів пробандів. Згідно з літературними повідомленнями, серед щорічно зареєстрованих нових випадків раку товстої кишки (РТК) це онкологічне захворювання виникає у 20–25% осіб зі спадковою схильністю до нього [1]. Серед спадково зумовлених новоутворень варто виокремити неполіпозний рак товстої кишки (синдром Лінча I та II), спадкові (сімейні) форми РТК, у яких не підтверджено синдром Лінча за Амстердамськими критеріями, а також численні спадкові форми поліпозу з переважанням сімейного дифузного поліпозу (СДП). Важливим є той факт, що для пацієнтів зі спадковою формою онкопатології характерним є більш раннє виникнення, агресивніший перебіг та вищий рівень летальності, ніж для спорадичної форми [2–4]. Прогностично дуже небезпечними щодо виникнення РТК є синдроми спадкового поліпозу, за яких ризик малігнізації інколи становить близько 100%. У пацієнтів із СДП та його варіантом – синдромом Гарднера ризик виникнення злоякісних новоутворень перевищує загально популяційний приблизно у 300 разів. Крім того, пацієнти зі спадково зумовленими новоутвореннями товстої кишки є групою високого ризику появи інших форм раку. Зок-

© М.Р. ЛОЗИНСЬКА, 2010

рема, хворі на СДП у 160 разів частіше хворіють на рак щитоподібної залози, а у 80% хворих на синдром Гарднера виявляють пухлини кісток. Інша форма СДП – синдром Тюрко, є поєднанням дифузного поліпозу товстої кишки із пухлинами центральної нервової системи – медуллобластомою спинного мозку та гліомою головного мозку [5–8]. При гамартомному синдромі поліпозу тонкої і товстої кишків – синдромі Лейтца-Єгерса значно вища частота раку грудної і підшлункової залоз та шлунка, а також тонкої і товстої кишків порівняно із загальнопопуляційною [8]. В осіб з ювенільним поліпозом товстої кишків – автосомно-домінантним захворюванням, зростає ризик виникнення РТК до 60%, а також позакишкових новоутворень у шлунку, тонкій кишці і підшлунковій залозі [9]. При рідкісних варіантах ювенільного поліпозу (синдроми Ковдена, Баньян-Рілі-Рувалькаба, Кронкайта-Канада) часто виявляють різні онкологічні ускладнення. Ці три синдроми гамартомного поліпозу мають однаковий генетичний дефект – мутації гена супресора пухлин *PTEN*, що знаходиться на хромосомі 10q23 [2, 10, 11]. Ген кодує білок тирозинфосфатазу, що є гомологом тензину. Соматичні мутації гена *PTEN* трапляються також при різних пухлинах, зокрема при гліобластомі [12].

Спадковий неполіпозний колоректальний рак (*HNPCC*) – синдром Лінча, який успадковується за автосомно-домінантним типом із пенетрантністю 90%, найчастіше виникає в результаті мутацій генів *MLH1* чи *MSH2*, що знаходяться на хромосомах 3p і 2p відповідно, рідше генів *MSH6* чи *PMS2*. Вважають, що цей вид раку складає 5–6% усього РТК і виникає без попереднього поліпозу, хвороби Крона чи неспецифічного виразкового коліту [13, 14, 15]. На відміну від СДП синдром Лінча не має специфічного фенотипу. Ризик виникнення РТК при синдромі Лінча зростає в

3 рази порівняно із загальнопопуляційним. При *HNPCC* виявляють, крім РТК, рак-ендометрію, шлунка, рак сечостатевої системи в осіб з чітко вираженим обтяженим спадковим анамнезом. Існує декілька діагностичних критеріїв, що допомагають діагностувати випадки синдрому Лінча. Першим формальним діагностичним керівництвом було створення у 1990 році Амстердамських критеріїв I діагностики *HNPCC*. Після відкриття специфічних генетичних мутацій, що відповідають за *HNPCC* та позакишкові симптоми, характерні для цього синдрому, Амстердамські критерії доповнилися і були названі Амстердамськими критеріями II діагностики *HNPCC*. У зв'язку з цим розрізняють дві підформи синдрому Лінча: 1 – синдром Лінча I – у сім'ї хворого немає інших, крім РТК, новоутворень; 2 – синдром Лінча II – у сім'ї хворого виявляють множинні новоутворення позакишкової локалізації [16].

У країнах Європи та Америки, вже починаючи з 80-х років ХХ століття, створюється реєстр сімей зі спадковими формами новоутворень товстої кишків, створено банк ДНК пробандів та уражених членів їхніх сімей, визначаються мутації, що зумовлюють ці захворювання. Здійснюються генетичне консультування цих сімей та рання профілактика ускладнень серед родичів пробандів [17]. Зокрема, в Польщі за останні 10 років було зареєстровано більше 200 сімей із синдромом Лінча та 340 – із СДП, однак ця кількість різко відрізняється від реальної в країні і становить приблизно 20 000 і 5000 осіб відповідно. Виявлено близько 30 сімей з мутаціями генів *hMSH2*, *hMLH1* (синдром Лінча) та 74 – з мутаціями гена *APC* (при СДП) [18, 19].

При спадкових формах онкологічних захворювань товстої кишків переважають випадки з автосомно-домінантним типом успадкування, при якому хвороба трапляється в кожному поколінні родо-
воду

[20, 4]. З метою прогнозування перебігу захворювання у пробандів та ранньої діагностики виникнення онкопатології у їхніх близько споріднених родичів рекомендовано поряд з усіма необхідними клінічними, лабораторними, променевими та ендоскопічними методами дослідження впроваджувати у медичну практику такі генетичні методи: генеалогічний, молекулярно-генетичний та цитогенетичний [20]. Застосування цих методів дозволить уточнити тип успадкування захворювання, встановити наявність і особливості спектра мутацій генів та визначити прогностичне значення хромосомних перебудов.

І етап генетичного обстеження – генеалогічний аналіз

Першим етапом обстеження пацієнта після клінічного огляду є проведення генеалогічного аналізу. Це один з важливих методів генетичного дослідження для з'ясування внеску спадкових чинників у виникнення захворювань товстої кишки [21]. Чим вище співвідношення частоти захворювання серед родичів пробанда до популяційної частоти цієї патології, тим більшу роль відіграє спадкова компонента у її походженні. Збір відомостей про сім'ю повинен починатися з пробанда – хворого, носія досліджуваної ознаки, а складання родоводу – супроводжуватися коротким записом про кожного члена родоводу, характеристикою його родинного зв'язку щодо пробанда.

Нами проведено аналіз родоводів 106 пробандів із новоутвореннями товстої кишки. Пацієнти є мешканцями 4 західних областей України: Львівської, Тернопільської, Івано-Франківської та Закарпатської. Відібрано сім'ї, в яких траплялися подібні випадки захворювання серед родичів I-го – IV-го ступенів спорідненості. У той же час наявність захворювання лише в одного з членів родоводу не виключала спадкового характеру цього захворювання, так як

його виникнення може бути результатом доміантної мутації гена в одного з батьків чи гетерозиготності обох батьків за рецесивною хворобою, тому особливу увагу приділяли позакишковим симптомам, характерним для спадкових синдромів поліпозу, випадкам виникнення онкологічних захворювань тонкої та товстої кишок у молодому віці, наявності первинно-множинного раку.

Спадковий характер захворювання товстої кишки встановлено у 22 хворих, що становить 20,75% осіб від усіх обстежених (табл. 1).

Таблиця 1. Кількість хворих із новоутвореннями товстої кишки

Назва захворювання	Форма захворювання		Разом (кількість хворих)
	спорадична (кількість хворих)	спадкова (кількість хворих)	
Рак товстої кишки	48	12	60
Поліпи	36	10	46
Загальна кількість	84 (79,25%)	22 (20,75%)	106 (100%)

У 12 сім'ях із спадковою формою РТК у 9 – був сімейний рак, у 1 – синдром Лінча I, у 2 – синдром Лінча II (діагноз встановлювався на основі Амстердамських критеріїв). У цих сім'ях було виявлено 40 хворих з РТК. У 10 сім'ях із синдромами спадкового поліпозу у 8 – був СДП, у 1 – синдром Гарднера, у 1 – синдром Пейтца-Єггерса. Ці сім'ї налічували 45 осіб із поліпозом.

При виявленні сімейного нагромадження певних ознак захворювання (наприклад, наявність поліпозу тонкої і товстої кишок, поєднання цієї ознаки з іншими позакишковими симптомами), тобто фактів, що свідчать про його спадкову природу, застосовують сегрегаційний аналіз. Відношення кількості хворих сибсів у пробанда до загальної кількості сибсів становить сегрегаційну частоту, яка дозволяє перевіри-

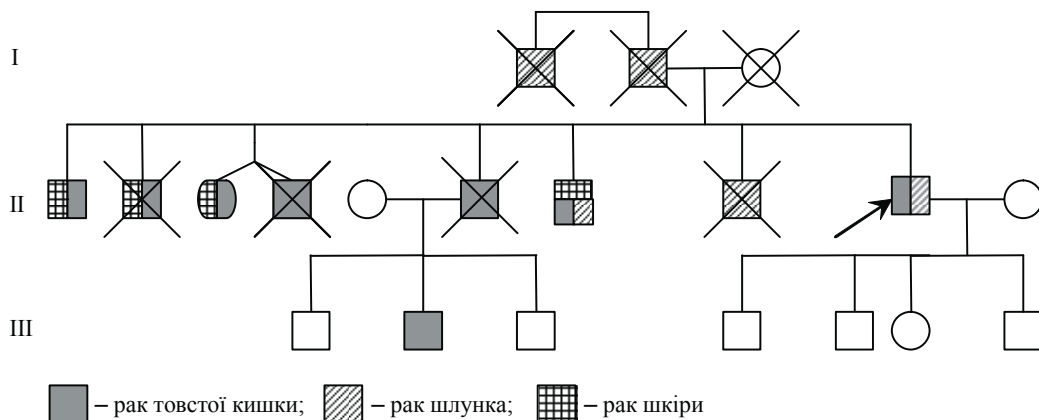


Рис. 1. Родовід сім'ї Л.М.І. з синдромом Лінча II із поєднанням у межах сім'ї випадків раку товстої кишки з новоутвореннями іншої локалізації [20]

ти гіпотезу про рецесивний тип успадкування досліджуваної ознаки. Подібна гіпотеза підтверджується, якщо різниця між теоретично очікуваною і досліджуваною сегрегаційними частотами є меншою від подвоєного стандартного відхилення [22]. При виявленні сімейного нагромадження певних ознак захворювання – доказів його спадкової природи, рекомендували привести на консультацію родичів пробанда для проведення комплексу діагностичних процедур, необхідних для встановлення діагнозу. Інколи хворий (пробанд) може не знати про сімейний характер хвороби, зате майже завжди вдавалося отримати інформацію стосовно онкологічних захворювань у його родичів.

Приклад застосування генеалогічного аналізу з метою ранньої діагностики і прогнозування виникнення спадкової форми РТК наведено на рис. 1. Для наглядності родовід зображають графічно, користуючись стандартними символами.

Пробанд звернувся в проктологічне відділення на базі Львівської обласної лікарні, де йому було встановлено діагноз: аденокарцинома товстої кишки та рак шлунка. На основі аналізу родоводу з урахуванням Амстердамських критеріїв діагностики у хворого-пробанда була підозра

на спадковий неполіпозний РТК (синдром Лінча II). Як виявилось, більшість членів сім'ї пробанда, позначеного на графічному зображенні стрілочкою, хворіли на рак. У двійнят (брата і сестри), позначених двома лініями, що сходяться в одній точці, виявлено РТК, що сходяться в одній точці, виявлено РТК. Брат помер, а у сестри поряд з РТК діагностовано ще і рак шкіри. Вік сибсів пробанда від 45 до 62 років. У батька пробанда і в одного з його братів новоутворення діагностували у віці до 50 років. За нашими рекомендаціями хворому запропоновано привести на консультацію його найближчих ще не обстежених родичів для раннього виявлення ознак онкопатології цього автосомно-домінантного захворювання. На основі проведеного обстеження в онколога і проктолога у одного з братів і племінника пробанда було встановлено первинно-множинний РТК. Таким чином, первинно-множинний рак спостерігали у 5 з 8-ми сибсів, при якому поєднувалася така онкопатологія: РТК із раком шлунка, РТК із раком шкіри, рак різних відділів товстої кишки з раком шлунка і з раком шкіри, причому рак траплявся у 3 поколіннях сім'ї. Обох братів і сина сибса пробанда успішно прооперовано та надано необхідні рекомендації і роз'яснення стосовно цього автосомно-домінантного захворювання. 3

цього родоводу видно, що онкологічні захворювання пробанд і його сибси успадкували по лінії батька.

II етап генетичного обстеження – застосування молекулярно-генетичного тестування

Серед великої кількості методів і нових технологій, що збагатили клінічну медицину за останнє десятиліття, важливе місце належить відпрацюванню і практичному впровадженню сучасних методів генодіагностики спадкових захворювань, у тому числі і спадково зумовлених форм раку. Відомі способи визначення маркерів злоякісного переродження на генетичному рівні базуються на виконанні комплексу молекулярно-генетичних досліджень. Після проведення генеалогічного аналізу це є наступним етапом обстеження, одним із завдань якого є вивчення молекулярних основ схильності до виникнення найрозповсюдженіших спадково зумовлених типів новоутворень. Генетичне тестування хворого і членів його сім'ї є обов'язковою умовою встановлення діагнозу моногенного захворювання.

Виникнення новоутворень товстої кишки в більшості випадків є багатоетапним процесом, в основі якого лежать мутації, залучені до процесу канцерогенезу. Встановлено причетність певних генів до розвитку пухлин. Наукові пошуки спрямовані на вивчення структури і функції генів, що експресуються в процесі виникнення передракових станів (аденоми) і РТК. Відкриття генів, що беруть участь у канцерогенезі і асоційовані з РТК (*P53*, *K-ras*, *MLH1*, *MSH2* та ін.), розглядається як вагомий внесок у розвиток онкогенетики, завдяки якому створено специфічні високочутливі молекулярні тести [23]. Однак в Україні вони не набули широкого розповсюдження у зв'язку з високою вартістю таких обстежень.

Ідентифікація генетичних чинників, асоційованих з канцерогенезом, є однією з гострих проблем сучасної молекулярної онкології. Спадкова схильність до онкологічних захворювань зумовлена спадковими мутаціями генів-супресорів злоякісної трансформації клітин. Вивчення цих мутацій є необхідним для практичної діагностики, а також для розв'язання низки фундаментальних проблем, пов'язаних, наприклад, з вивченням виникнення і розповсюдження мутацій у різних популяціях, взаємозв'язку генотипу і фенотипу [24]. Інактивація генів-супресорів може відбуватися в результаті структурних пошкоджень, а також функціональних аномалій, які пов'язують з гіперметилуванням регуляторних областей гена. Дослідження в галузі молекулярної онкології, спрямовані на виявлення генів, метилування регуляторних областей яких може супроводжувати пухлинну трансформацію клітин чи є її причиною, має своєю кінцевою метою проблеми ранньої діагностики і прогнозування перебігу онкологічного захворювання [25].

Однією з основних спадкових причин виникнення РТК є СДП. Важливе значення має вивчення спектра мутацій гена *APC*, що викликає СДП з ризиком малігнізації, наближеним до 100%. У більшості європейських країн встановлені структурні особливості таких мутацій, що відрізняють їх від тих, що повторюються в різних популяціях [1, 10]. Виявлення характерних для української популяції хворих спектра мутацій може вказувати на різноманітність у походженні і розповсюдженні варіантів генів, що спричиняють це спадкове захворювання. Вперше в Україні було розпочато вивчення спектра мутацій гена *APC* у 7 осіб із СДП з 4 сімей, що проживають у Львівській області, за допомогою методу секвенування геному в Інституті генетики людини (м. Познань, Польща). Із 7 обстежених па-

цієнтів із СДП мутації гена *APC* виявлено у 4 (57 %).

Спектр мутацій гена *APC* у російській популяції характеризується високим (49 %) вмістом мутацій, які в інших етнічних групах не виявляються. Показано, що різниця у спектрі мутацій гена *APC* між унікальними і мутаціями-повторами властиві вибіркам хворих з різних популяцій. У той же час вибірки з різних популяцій неоднорідні за цією ознакою. Для проаналізованих вибірок хворих з різних країн знайдено від'ємну кореляцію між частотами 1-2-нуклеотидних делецій серед унікальних послідовностей і серед делецій, що повторюються в гені *APC*, а саме виявлено зворотну залежність між частотами втрат одного-двох нуклеотидів серед унікальних і серед повторювальних делецій гена *APC*. Визначення спектра мутацій гена *APC* є необхідним як з точки зору фундаментальних знань про особливості мутаційного процесу у різних популяціях, так і для практичної діагностики [26].

У пацієнтів з синдромом Тюрко було встановлено наявність мутацій генів *APC* або ж *HNPCC*. При мутаціях гена *APC* у пацієнтів виявляють медуллобластоми, а при мікросателітній нестабільності у сім'ях з синдромом Тюрко діагностують множинні гліобластоми [8].

Приблизно у 25% пацієнтів з ювенільним поліпозом виявляють мутацію та соматичну інактивацію гена *BMPR1A*, у 15 % – гена *SMAD4* (також відомого як *MADH4* і *DPC4*), а також гена *PTEN*. Білковий продукт цих генів в нормі відіграє роль внутрішньоклітинного сигналу подібно до білкових продуктів класу *TGF- β* . На сьогодні рекомендовано проводити генетичне тестування у родичів першого ступеня спорідненості, якщо мутації, пов'язані з ювенільним поліпозом, виявлено у пробанда [4].

У 40–60% клінічно діагностованих випадків синдрому Пейтца-Єгерса виявля-

ють мутації гена *LKB1* чи гена-супресора пухлин *STK11*, який констатовано у 10–70% випадків. Продукт цього гена – серинтреонінбілкова кіназа 11 у нормі бере участь у модифікації міжклітинних сигналів росту. Якщо цю специфічну мутацію знайдено в пробанда, то необхідно провести молекулярно-генетичне тестування всіх його близьких родичів. Встановлено також, що велику роль у патогенезі дефектів слизової має ген *ENG*, який виявляють у підгрупі пацієнтів зі спадковою геморрагічною телангіектазією [9]. Вперше в Україні було встановлено мутацію гена *STK11* у 2 осіб, мешканців м. Львова, із сім'ї з синдромом Пейтца-Єгерса за допомогою методу секвенування геному в Інституті генетики людини (м. Познань, Польща).

Для виявлення невідомих нуклеотидних замін в аналізованій ділянці (ділянках) гена виникає необхідність секвенування, тобто визначення точної нуклеотидної послідовності певного фрагмента ДНК. Практично найширше застосування отримало секвенування за класичним методом Сенгера. Одночасно може бути секвенована ділянка ДНК, що не перевищує приблизно 500 пн. Зазвичай для виявлення мутацій секвенуються окремі екзони досліджуваного гена разом із сусідніми з ним інтронними послідовностями (ділянками сплайсингу). Сучасна техніка секвенування ДНК значно удосконалилась завдяки впровадженню в практику лазерно-флуоресцентних секвенаторів – спеціальних пристроїв, що здійснюють визначення продуктів реакції в гелі шляхом реєстрації інтенсивності їхньої флуоресценції. Для автоматичного зчитування і аналізу продуктів реакції використовується спеціальне програмне забезпечення [27].

Мутації генів *APC*, *STK11* та ін. при спадково зумовлених онкозахворюваннях товстої кишки виявляють секвенуванням ДНК за допомогою секвенатора із застосуванням відповідних праймерів, мічених

спеціальними флуорохромними мітками, наприклад *32P-end-labeled*. Потім виконується ампліфікація шляхом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) відповідного гена [28].

Таким чином, для точного підтвердження діагнозу найрозповсюдженіших спадково зумовлених синдромів поліпозу товстої кишки проводяться такі молекулярно-генетичні дослідження: 1) визначення мутації гена *APC* для діагностики СДП та синдрому Гарднера; 2) визначення мутацій гена *PTEN* для діагностики синдромів гамартомного ювенільного поліпозу; 3) мутації гена-супресора пухлин *STK11* для діагностики синдрому Пейтца-Єгерса.

Низка генів системи репарації є генами злякисних новоутворень. Це гени *MLH1*, *MSH2*, що належать до системи репарації неспарених основ. Мутації цих генів призводять до синдрому Лінча [29, 30]. Визначення мутацій виконується шляхом алелеспецифічної олігонуклеотидної гібридизації. Молекулярно-генетичні дослідження проводяться з метою встановлення мікросателітних мутацій (*MSI*) генів *MLH1* і *MSH2* в периферійній крові хворого. Мікросателітна ДНК – це мононуклеотидні, динуклеотидні чи тринуклеотидні повторювані послідовності в геномі людини. Мутації коротких повторів ДНК у пацієнтів з *HNPCC* не репаруються. Помилки в мікросателітній ДНК призводять до мікросателітної нестабільності, що зумовлює виникнення новоутворення [31]. Генетичне тестування периферійної крові повинне виконуватися у випадку позитивного імуногістохімічного тесту, який використовують для встановлення присутності одного чи більше білків системи репарації неспарених основ (*mismatch repair proteins*) – *Mlh1*, *Msh2*, *Msh6*. Втрати пухлиною забарвлення вказує на те, що відповідний ген не експресується, а отже відбулася мутація. У випадку *Mlh1* гіперметилування промотора *MLH1* може виникнути в результаті

втрати експресії і відсутності імунореактивності *Mlh1*. Імуногістохімічний тест є менш чутливим, ніж *MSI*-метод.

III етап генетичного обстеження – застосування цитогенетичного аналізу

Серед генетичних маркерів слід назвати визначення кількості ДНК у клітинах пухлини за допомогою цитоспектрофотометричного аналізу, адже у клінічному перебігу аденокарцином будь-якої локалізації суттєву роль відіграють зміни вмісту ДНК (плоїдності). Цей спосіб дозволив встановити, що у хворих на РТК переважають поліплоїдії ДНК, що корелює з наявністю гістологічно підтвердженої карциноми. Проте за допомогою цього способу неможливо встановити спектр цитогенетичних змін, виявити прогностично небезпечні перебування хромосом, а лише констатувати наявність зміненої плоїдності [18]. Доведено, що існує зв'язок появою структурних і функціональних змін безпосередньо в хромосомах клітин новоутворень та виникненням РТК. Результати цитогенетичних досліджень, підтверджені молекулярно-генетично, свідчать на користь послідовного розвитку порушень у товстій кишці (за винятком, можливо, спадкового неполіпозного РТК – синдрому Лінча). Це означає, що кожний етап переродження може супроводжуватися змінами на хромосомному рівні.

Прийнято вважати, що у більшості випадків аденокарцинома виникає на основі доброякісних поліпів товстої кишки. На відміну від поодиноких аденоматозних поліпів, як правило, доброякісних, при множинному, зокрема СДП, виявлено дуже високий індекс малігнізації. Отже морфологічна будова поодиноких аденом і аденом при спадковій формі захворювання абсолютно ідентична, хоча кількість перероджень у рак різко відрізняється [32, 33]. Однак повідомлення стосовно спектра

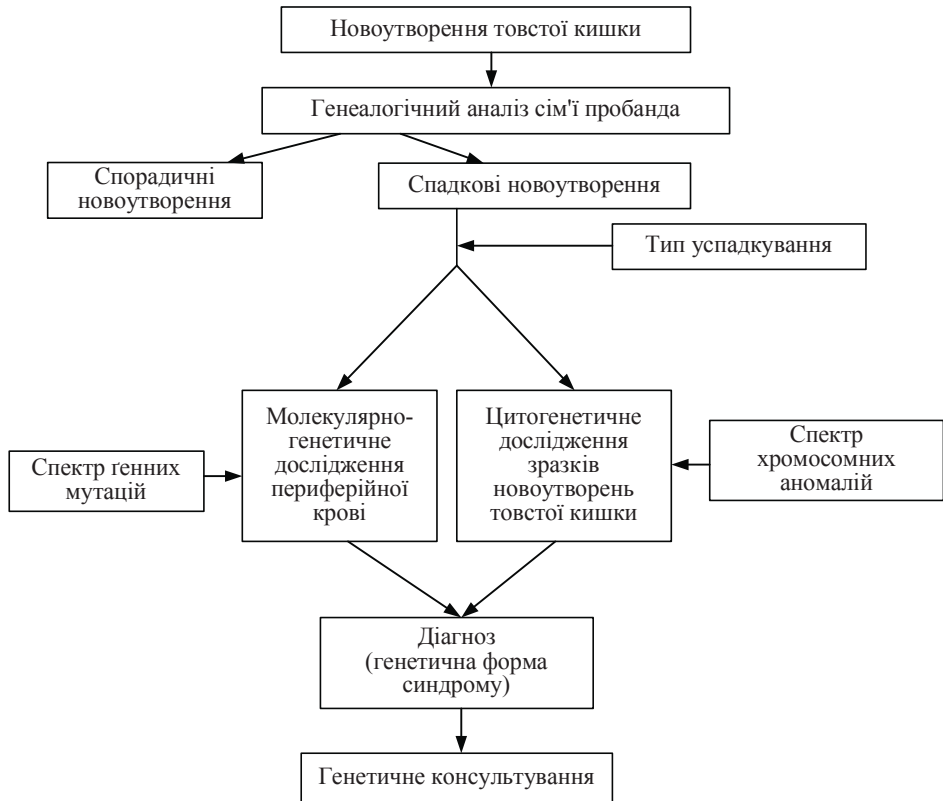


Рис. 2. Етапи генетичного обстеження, яких потребує пацієнт зі спадково зумовленими новоутвореннями товстої кишки

хромосомних перебудов в аденомах при злюкисному переродженні епітелію в карциному *in situ* і аденокарциному, а також прогностичне значення хромосомних аномалій у пухлинах товстої кишки на сьогодні є досить суперечливі [34–36].

Цитогенетичні дослідження поліпів з метою виявлення прогностично небезпечних аномалій хромосом особливо важливі у випадку множинних аденом у молодих осіб зі спадковим поліпозом товстої кишки. Цитогенетичний аналіз біопсійного матеріалу поліпів у цьому випадку може проводитися прямим методом або шляхом культивування клітин *in vitro*. Визначається кількість і спектр хромосомних аномалій.

Каріотип більшості тубулярних поліпів при сімейних формах поліпозу є диплоїдним, а хромосомні аномалії становлять згідно з різними результатами досліджень від 19% до 44% випадків. Оцінка частоти малігнізації поліпів за наявності аномалій хромосом неоднозначна. При диспластичних змінах у аденомах при СДП виявляють клональну різноманітність клітин та появу додаткових копій хромосом у різних комбінаціях. Найчастішими аномаліями хромосом при спадковій формі поліпозу є анеуплоїдії 2, 3, 7, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20 хромосом [34–36].

Нами проведено цитогенетичний аналіз метафазних хромосом зі зразків біопта-

тів новоутворень (аденома, аденокарцинома) товстої кишки від 51 пацієнта, з клінічно, ендоскопічно та гістологічно підтвердженим діагнозом. У 33 хворих досліджено метафазні хромосоми аденом, у т.ч. у 9 хворих із СДП, та у 18 – аденокарцином товстої кишки. Найхарактернішими були кількісні аномалії – трисомії 7, 13, 14, 16, 18, 20 хромосом. 11 (37,9%) спорадичних аденом і 2 аденоми з ознаками злоякісного переродження мали аномальний каріотип. У аденомах при СДП аномалії хромосом, представлені додатковими копіями 7, 12, 13, 16, 18, 19, 20 хромосом у різних комбінаціях, було знайдено у 44,4% пацієнтів. У аденокарциномах товстої кишки каріотип був аномальний. Прогностично несприятливими цитогенетичними змінами були значна гетерогенність каріотипів у межах зразка, моносомії 17, 18, 8, 15, X-хромосом, структурні перебудови 1, 3, 17 хромосом і поява делетованих хромосом-маркерів.

Основні етапи генетичного обстеження, яких потребує пацієнт зі спадково зумовленими новоутвореннями товстої кишки, наведено на рис. 2. Кінцевим етапом обстеження є встановлення генетичної форми синдрому і обов'язкове проведення генетичного консультування на базі міських консультацій чи обласних генетичних центрів. Важливим також є створення на базі регіональних онкоцентрів реєстру пацієнтів зі спадково зумовленою онкопатологією для виявлення групи ризику серед близькоспоріднених родичів пробандів.

Висновки

Показано доцільність застосування генетичних методів обстеження для ранньої діагностики спадково зумовлених новоутворень, що призведе до зменшення об'єму оперативних втручань та зниження смертності від цих захворювань. Обґрунтовано необхідність поетапного проведен-

ня генетичних обстежень, яких потребує пацієнт зі спадково зумовленими новоутвореннями товстої кишки.

Перелік літератури

1. *Chapell A.* Genetic predisposition to colorectal cancer // *Nat. Rev.* – 2004. – Vol. 4. – P. 769–779.
2. *Hampel H., Stefens J.A., Pukkala E., Sankila R. et al.* Cancer risk in hereditary nonpolyposis colorectal cancer syndrome: later age of onset // *Gastroenterol.* – 2005. – Vol. 129, № 2. – P. 415–421.
3. *Лозинська М.Р., Павловський М.П., Лозинський Ю.С., Сепливиий І.В.* Аналіз частоти і спектра онкопатології у хворих на спадкові захворювання товстої кишки та у їх близькоспоріднених родичів // *Acta Med. Leopold.* – 2008. – Т. 14, № 4. – С. 34–39.
4. *Gryfe R.* Clinical implications of our advancing knowledge of colorectal cancer genetics: inherited syndromes, prognosis, prevention, screening and therapeutics // *Surg. Clin. North Am.* – 2006. – Vol. 86, № 4. – P. 787–817.
5. *Bilkay U., Erdem O., Ozek C. et al.* Benign osteoma with Gardner syndrome: review of the literature and report of a case // *J. Craniofac Surg.* – 2004. – Vol. 15, № 3. – P. 506–509.
6. *Fotiadis D.K., Tsekouras P., Antonakis J., Sfiniadakis M., Genetzakis G.C.* Gardner's syndrome: A case report and review of the literature // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – Vol. 11, № 34. – P. 5408–5411.
7. *Hermann S.M., Adler Y.D., Schmidt-Petersen K. et al.* The concomitant occurrence of multiply epidermal cysts, osteomas and thyroid gland nodules is not diagnostic for Gardner syndrome in the absence of intestinal polyposis: a clinical and genetic report // *Br. J. Dermatol.* – 2003. – Vol. 149, № 4. – P. 877–883.
8. *Hamilton S.R., Liu B., Parsons R.E., Paradopoulos N., Jen J., Powell S.M. et al.* The molecular basis of Turcot's syndrome // *N. Engl. J. Med.* – 1995. – Vol. 332, № 13. – P. 839–847.
9. *Vol Allmen D.* Intestinal polyposis syndromes: progress in understanding and treatment // *Curr. Opin. Pediatr.* – 2006. – Vol. 18, № 3. – P. 316–320.
10. *Nagy R., Sweet K., Eng C.* Highly penetrant hereditary cancer syndrome // *Oncogene.* – 2004. – Vol. 23, № 38. – P. 6445–6470.
11. *Zigman A.F., Lavine J.E., Boland C.R., Carethers J.M.* Localization of the Bannayan-Riili-Ruvalcaba syndrome gene to chromosome 10q23 // *Gastroenterol.* – 1997. – Vol. 113, № 5. – P. 1433–1437.

12. Lynch H.T., Smyrk T., Lynch J. et al. An update of HNPCC (Lynch syndrome) // Cancer Genet. Cytogenet. – 1997. – Vol. 93, № 1. – P. 84–99.
13. Kaz A.M., Brentnall T.A. Genetic testing for colon cancer. Natural Clinical Practice // Gastroenterol. Hepatol. – 2006. – Vol. 3, № 12. – P. 125–134.
14. Burt R., Neclason D.W. Genetic testing for inherited colon cancer // Gastroenterol. – 2005. – Vol. 128. – P. 1696–1716.
15. Kinzler K.W., Vogelstein B. Lessons from hereditary colorectal cancer // Cell. – 1996. – Vol. 87, № 2. – P. 159–170.
16. Vasen H.F., Mecklin J.P., Khan P.M., Lynch H.T. The International Collaborative group on hereditary non-polyposis colorectal cancer (ICG-HNPCC) // Dis. Colon Rectum. – 1991. – Vol. 34, № 5. – P. 424–425.
17. Burn J., Chapman P., Delhanty J. et al. The UK Northern region genetic register for familial polyposis coli // J. Med. Genet. – 1991. – Vol. 28. – P. 289–296.
18. Pławski A., Krokowicz P., Drews M. et al. Mutacje genu APC u polskich chorych z FAP // Proktologia. – 2008. – Vol. 3, № 9. – P. 291.
19. Lubinski J. Genetyka polypw i raku jelita grubego // Nowa Med. Proktol. III symp. Klubu Proktol. – 2000. – P. 5.
20. Лозинська М.Р., Лозинський Ю.С., Гнатейко О.З. Методичні рекомендації. Генетичні аспекти та методи діагностики спадкових захворювань товстої кишки. – Львів, 2010. – 33 с.
21. Фролькис А.В. Заболевания желудочно-кишечного тракта и наследственность. – Санкт-Петербург: Специальная литература, 1995. – 285 с.
22. Бочков Н.П. Клиническая генетика. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 447 с.
23. Корчагина Е.Л., Казубская Т.П., Сазонова М.А., Амосенко Ф.А., Гарькавцева Р.Ф. Роль наследственной предрасположенности в возникновении рака толстой кишки // Мед. Генет. – 2005. – Т. 4, № 5. – С. 209.
24. Карпунин А.В. Молекулярно-генетические особенности наследственных форм ряда частых онкологических заболеваний // Мед. Генет. – 2005. – Т. 4, № 5. – С. 199.
25. Землякова В.В., Немцова М.В., Зборовская И.Б., Любченко Л.Н., Майорова О.А., Залетаев Д.В. Исследование метилирования ряда генов, вовлеченных в канцерогенез, в различных типах опухолей // Мед. Генет. – 2005. – Т. 4, № 5. – С. 189.
26. Музаффарова Т.А., Поспехова Н.И., Сачков И.Ю., Кузьминов А.М., Гинтер Е.К., Карпунин А.В. Обнаружение и характеристика новых мутаций в гене APC при семейном аденоматозном полипозе // Мед. Генет. – 2005. – Т. 4, № 5. – С. 233.
27. Иллариошкин С.Н. ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование. – М.: МИА, 2004. – 206 с.
28. Halling K.C., Lazzaro C.R., Honchel R. et al. Hereditary desmoids disease in family with germline Alu I Repeat mutation of the APC gene // Hum. Hered. – 1999. – Vol. 49. – P. 97–102.
29. Захаров С.Ф., Шахматов Д.Г., Любченко Л.Н., Салимов А.Г., Шельгин Ю.А., Карпунин А.В. Мутации и однонуклеотидный полиморфизм в генах MLH1 и MSH2 при наследственном неполипозном раке толстой кишки // Мед. Генет. – 2005. – Т. 4, № 5. – С. 189.
30. Douglas J.A., Gruber M.D., Meister K.A., Bonner J., Watson P., Krush A.J., Lynch H.T. History and molecular genetics of Lynch syndrome in family G. A century later // Am. Med. Assoc. – 2005. – Vol. 294, № 17. – P. 2195–2202.
31. Watson P., Narod S.A., Fodde R. Carrier risk status changes resulting from mutation testing in hereditary non-polyposis colorectal cancer and hereditary breast ovarian cancer // J. Med. Genet. – 2003. – Vol. 40. – P. 541–546.
32. Ривкин В.Л., Кирьянов И.В., Никитин А.М., Лукин В.В. Полипы и полипоз толстой кишки. – М.: МЕДПРАКТИКА-М, 2005. – 151 с.
33. Владимиров А.А. и др. Характеристика полипов у пациентов со злокачественными новообразованиями толстой кишки. Актуальные вопросы колопроктологии. – Самара, 2003. – С. 201–202.
34. Griffin C.A., Lazar S., Hamilton S.R., Giardiello F.M., Long P., Krush A.J., Booker S.V. Cytogenetic analysis of intestinal polyps in polyposis syndromes: comparison with sporadic colorectal adenomas // Cancer. Genet. Cytogenet. – 1993. – Vol. 67, № 1. – P. 14–20.
35. Carvalho B., Postma C.P., Mongera S. et al. Multiply putative oncogenes at the chromosome 20q amplicon contribute to colorectal adenoma to carcinoma progression // Gut. – 2009. – Vol. 58. – P. 79–89.
36. Lozynska M.R. The prognostic value of cytogenetic markers for early diagnosis of colorectal cancer // Experimental oncol. – 2009. – Vol. 31, № 4. – P. 237–241.

Представлено Л.Л. Лукаш
Надійшла 11.03.2010

**ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ
ИССЛЕДОВАНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ
НАСЛЕДСТВЕННО ОБУСЛОВЛЕННЫХ
НОВООБРАЗОВАНИЙ ТОЛСТОЙ КИШКИ**

М.Р. Лозинская

ГУ «Институт наследственной патологии АМН
Украины»

Украина, 79000, Львов, ул. М. Лысенка, 35-а

e-mail: maria_lozynska@ukr.net

В работе освещены основные генетические методы исследования, необходимые для ранней диагностики и прогнозирования возникновения наследственно обусловленных новообразований толстой кишки. Отмечена важность генеалогического анализа как первого этапа обследования пробанда для выяснения вклада наследственных факторов в возникновении этих заболеваний. Подтверждено необходимость разработки и практического внедрения в Украине комплекса современных методов генодиагностики и анализа кариотипа новообразований. После проведения генеалогического анализа это следующие этапы обследования больных. Рассмотренные генетические методы диагностики найдут свое применение в решении одной из важных медицинских и социально-экономических задач современного общества – ранней диагностики наследственно обусловленных новообразований, что позволит уменьшить объем оперативных вмешательств и снизить смертность от этих заболеваний.

Ключевые слова: генеалогический анализ, генодиагностика, кариотипирование, новообразования толстой кишки.

**SIGNIFICANCE OF GENETIC METHODS
IN DIAGNOSTICS OF HEREDITARY DETER-
MINED NEOPLASIA OF LARGE BOWEL**

M.R. Lozynska

Institute of Hereditary Pathology AMC of Ukraine
Ukraine, 79000, Lviv, M. Lysenko str., 35-a

e-mail: maria_lozynska@ukr.net

The main genetic methods necessary for the early diagnostic and prognosis of the origin of hereditary determined neoplasia of large bowel was demonstrated in this work. It was noted the significance of genealogic analysis as the first step in the examining of probands for the determining of the contribution of the hereditary factors in the origin of these diseases. It was confirmed the necessity of the complex of contemporary methods of genodiagnostic and karyotype analysis of neoplasia for the introduction in Ukraine. These genetic methods of diagnostics should be used in solution of the important medical and social problem of modern society – early diagnostics of the hereditary determined neoplasia. It will allow decreasing the volume of operative intervention and mortality of these diseases.

Key words: genealogic analysis, genodiagnostic, karyotyping, neoplasia of large bowel.