

УДК 577.21

А. С. ИСАБЕКОВА, А. Т. ИВАЩЕНКО

РОЛЬ ГЕНОВ БЕЛКОВ И микроРНК В РАЗВИТИИ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ

(Институт проблем биологии и биотехнологии, Казахский национальный университет им. аль-Фараби,
г. Алматы)

Канцерогенез многоступенчатый процесс накопления генетических и эпигенетических нарушений, при котором наблюдаются изменения в генах белков и генах микроРНК. Рассматриваются аномалии в онкогенах и генах-онкосупрессорах рака толстой кишки, отмечаются трудности выявления селективных молекулярных маркеров для диагностики рака. Проведен анализ участия микроРНК в развитии рака толстой кишки. Обосновывается перспектива создания молекулярных маркеров на основе микроРНК.

Рак толстой кишки (РТК) одно из распространенных онкозаболеваний во всем мире. Ежегодно в мире регистрируется около 800 000 больных колоректальным раком и 440 000 смертей от этого заболевания [1]. Как и при всех онкологических заболеваниях, основной проблемой лечения рака толстой кишки является отсутствие эффективных молекулярных маркеров для ранней диагностики, вследствие чего заболевание определяется на поздней стадии и часто с сопутствующими метастазами. Выяснение начальных стадий онкогенеза остается актуальным и для этого необходимо установление пусковых причин развития злокачественных опухолей.

Рассмотрим кратко генетические и эпигенетические нарушения экспрессии белок-кодирующих генов при развитии рака толстой кишки. РТК можно подразделить на две группы: наследственно предрасположенный и спорадический. В разных странах 10-30% случаев развитие рака обусловлено наследственными генетическими изменениями [2]. Принято считать, что РТК развивается через последовательное накопление генетических и эпигенетических мутаций и, как правило, канцерогенез является многоступенчатым процессом [3]. В некоторых случаях изменяются специфические локусы, детерминирующие активацию онкогенов или инактивацию генов-онкосупрессоров. В других случаях рак связан с хромосомными и микросателлитными нестабильностями, которые увеличивают возможность приобретения добавочных повреждений генов, значимых для канцерогенеза.

Существуют несколько факторов риска развития РКТ: возраст старше 50 лет, особенности

питания, генетические синдромы, предшествующие заболевания и т.д. К группе генетических синдромов с полипозом относятся диффузный семейный полипоз, синдром Гарднера-Тернера, синдром Пейтца-Джигерса, болезнь Тюрка [4].

Диффузный семейный полипоз обуславливается мутациями в гене *APC*, белок которого отвечает за уровень в-катенина в цитозоле. Синдром является наиболее распространенным наследственным фактором развития рака толстой кишки. Это заболевание передается по аутосомно-доминантному типу. Диффузный полипоз рассматривается как облигатный предрак, и если его не лечить, то он в 98% случаев перерождается в рак [5]. Остальные вышеперечисленные синдромы проявляются развитием диффузного колоректального полипоза в сочетании с другой онкологической патологией или иными клиническими проявлениями. Например, болезнь Тюрка характеризуется диффузным полипозом толстой кишки и опухолями центральной нервной системы [4]. Синдром Линча связывают с возникновением наследственного неполипозного колоректального рака обусловленного мутациями в генах *MSH2*, *MLH1*, *PMS1*, *PMS2*, *MSH6*, продукты которых участвуют в репарации ДНК [6].

Рассмотрим термины протоонкоген, онкоген и ген-онкосупрессор часто используемые в онкогенетике. Протоонкогены встречаются во всех нормальных клетках, они являются генами белков, многие из которых передают сигнал от мембраны в ядро в процессах клеточной дифференцировки, деления, апоптоза. После мутаций вызывающих онкогенез их называют онкогенами. К онкогенам относятся и гены вирусов, которые

встраиваются в геном хозяина. Первый онкоген был обнаружен в опухоли курицы, который являлся встроенным вирусным геном. Гомологи таких генов были найдены у человека, которые тоже относят к онкогенам. К онкогенам человека относятся следующие гены *RAS*, *SRC*, *BRAF*, *MYC*. *v-myc* – онкоген вируса миелоцитомы курицы, *v-src* – онкоген вируса саркомы Рауса. Многие гены-онкосупрессоры осуществляют контроль процессов клеточного деления и повреждения ДНК. Гены-онкосупрессоры в норме экспрессируются на определенном уровне, снижение их экспрессии может привести к неопластическим превращениям. К генам-онкосупрессорам относятся *MSH2*, *MLH1*, *PMS1*, *PMS2*, *MSH6*, *APC*, *TP53*, *DCC*, *PDGFRL*.

Генетические и эпигенетические изменения, которые могут привести к развитию опухоли, следующие: точечные мутации, изменение ploидности, вставки или делеции, транслокации и абберантное метилирование, модификация гистонов (ацетилирование и метилирование гистонов).

Метилирование цитозина в промоторной CpG области генов-онкосупрессоров опухоли подавляет транскрипцию и является причиной развития РТК [7]. По некоторым данным изменения отпечатка метилирования (геномный импринтинг) переданного от родителей может играть важную роль в малигнизации. Геномный импринтинг – эпигенетический феномен, характеризующийся моноаллельной экспрессией генов в зависимости от их родительского происхождения. Молекулярную основу такой экспрессии составляют ковалентные модификации ДНК и гистоновых белков, происходящие при созревании половых клеток. Аномалии формирования геномного импринтинга в гаметогенезе или его поддержания на различных этапах онтогенеза являются причинами развития опухоли. Потеря импринтинга в локусе *IGF2* обнаружена при раке толстой кишки [8]

Уровень спорадических мутаций в клетках с хромосомными и микросателлитными нестабильностями гораздо выше по сравнению с нормальными клетками [9]. Причины возникновения хромосомных нестабильностей разные. Мутации в генах *BUB1*, *BUB1B* белков точки сверки митоза могут быть причиной развития хромосомных нестабильностей при РТК [10]. Абберантное число центросом тоже могут быть причиной возникновения хромосомных нестабильностей, например амплификация гена *AURKA*, центро-

сома ассоциированной серин-треонин киназы [11]. Генами кандидатами возникновения хромосомной нестабильности является *APC* [12] и *TP53* [13]. Высокий уровень микросателлитных нестабильностей обнаружен в 15% случаев РТК [14]. Причиной микросателлитной нестабильности может быть Синдром Линча [15], а также мутации в генах *TGFRB* и *BAX* [16].

Существует предположение, согласно которому накопление генетических и эпигенетических мутаций приводит к образованию раковых стволовых клеток из стволовых клеток взрослого организма [17]. Эти клетки являются причиной малигнизации тканей, а также причиной развития метастазов. После образования таких клеток химиотерапия и лучевая терапия, как правило, малоэффективны, так как у стволовых раковых клеток множество защитных механизмов.

Ряд работ посвящен разработке вакцин против раковых стволовых клеток. Большинство опухолевых антигенов ассоциировано с антигенами семенников или эмбриональными антигенами. Моно- или мультипротивоопухолевые вакцины должны взаимодействовать с молекулами экспрессирующимися только на опухолевых клетках. Например, гены *Oct-4*, *TDGF-1* и *REX1*, экспрессируемые в эмбриональных стволовых клетках [18], белки которых могут быть использованы как антигены для иммунизации.

Предполагается, что развитие рака всех локализаций ассоциировано со своим набором ключевых генов [18]. Для РТК это члены *Wnt*/*β*-катенин и фосфотидилинозитол-3-киназных путей, онкоген *KRAS*, ген-онкосупрессор *TP53* и др. Ключевые гены нарушены в 50–60% случаев и обнаруживаются у больных с прогрессирующей болезнью на поздних стадиях.

2006 году была опубликована работа, в которой провели секвенирование 13 023 генов в 11 опухолевых линиях РТК. Выявлено 519 генов с мутациями, которые в разных комбинациях присутствуют в этих линиях, так что в среднем в каждой линии опухоли найдено около 90 генов с мутациями. Из 519 генов только 69 генов были ассоциированы с развитием рака толстой кишки [19]. Кроме этих генов по данным литературы и другие гены участвуют в онкогенезе РТК. Следовательно, можно предположить, что количество ключевых генов ассоциированных с раком толстой кишки гораздо больше. Например, в базе HuGE Navigator (www.hugenavigator.org) 491 ген

ассоциирован с развитием рака толстой кишки. Поэтому разработать селективные молекулярные маркеры для диагностики очень сложно.

Надежды в этой области связаны с изучением микроРНК. Обнаружение микроРНК одно из самых крупных открытий конца XX века. На настоящее время в геноме человека предсказано более 3000 микроРНК, из которых аннотировано более 700 микроРНК [20]. На микроРНК сфокусировано большое внимание, потому что изменения в их функционировании непосредственно связаны с возникновением, прогрессией и метастазированием злокачественных опухолей. Предполагается, что нарушение синтеза микроРНК является одной из первопричин изменений во многих патологиях, в том числе при раке.

МикроРНК – это малые не белок-кодирующие молекулы, которые регулируют экспрессию генов на уровне процессинга пре-мРНК и трансляции мРНК [21]. МикроРНК, обычно состоящие из 19-30 нуклеотидов, входят в семейство малых РНК, которое включает малые ядерные РНК, участвующие в сплайсинге пре-мРНК (snRNA) [22], малые ядерные РНК, модифицирующие рибосомную РНК (snoRNA) [23], и короткие интерферирующие РНК (siRNA) [24].

Понятие экспрессия гена для белок-кодирующих генов включает период от начала транскрипции пре-мРНК с ДНК и до окончания синтеза белка на рибосоме. После открытия микроРНК было установлено, что эти молекулы могут участвовать в экспрессии генов на стадиях от транскрипции до окончания трансляции. Это влияние проявляется в действии микроРНК на процессинг пре-мРНК путем изменения вариантов полиаденилирования, альтернативного сплайсинга, разрушения мРНК до или после трансляции, а также подавления или ускорения трансляции. Следовательно, микроРНК регулируют экспрессию генов на уровне функционирования продукта гена в виде РНК. Учитывая, что гены микроРНК локализованы как в межгенных участках, так и в белок-кодирующих генах (в интронах, экзонах, в 5'-UTR и 3'-UTR), взаимодействие продуктов генов может осуществляться на стадии предшествующей синтезу белка. Благодаря этому значительно расширяются возможности взаиморегуляции экспрессии генов до энергетически затратной и длительной стадии синтеза белка. Изучение взаимодействия продуктов

белок-кодирующих генов с помощью микроРНК фактически только начинается, однако полученные результаты дают основание не только выявить новые пути регуляции экспрессии генов, но и на ранних стадиях экспрессии генов контролировать этот процесс.

Эндогенная микроРНК встречается в геноме у животных [25], растений [26], беспозвоночных [27] и вирусов [28]. Обнаружено, что микроРНК занимают приблизительно около 3% генома человека и регулируют примерно 30% всех генов [25]. Одна микроРНК может контролировать более ста различных генов [29]. МикроРНК осуществляют регуляторную функцию в процессах развития, клеточной пролиферации и дифференцировки, апоптозе и т.д. [30].

Впервые микроРНК была открыта в 1993 году Викором Амброс и его коллегами Розалинд Ли и Ронда Феинбаум. Генетический скрининг кольчатого червя *Caenorhabditis elegans* выявил гены, работающие в период развития этого организма. Один из генов названный *lin-4* не кодировал белок, но кодировал 22-нуклеотидную малую РНК. Спустя семь лет Рейнхарт с соавторами открыли вторую РНК этого типа, *let-7*, также участвующую в развитие организма *C. elegans*. Затем были обнаружены гомологи *let-7* у других организмов и у человека, что указывало на важность этих РНК. После открытия механизма РНК интерференции стало ясно, что функционирование микроРНК и РНК интерференция имеют сходные черты и общие компоненты [31].

Нарушение регуляция функционирования микроРНК может повлиять на канцерогенез, если микроРНК действуют на мРНК онкогенов и генов-онкосупрессоров. По профилю экспрессии микроРНК можно классифицировать опухоль. Впервые связь микроРНК с раком нашли Калин с соавторами, когда обнаружили, что гены *miR-16* и *miR-15*, расположенные в ломком сайте на 13 хромосоме, делетированы в 65% случаев хронической лимфоцитарной лейкемии [31]. Гиперэкспрессия, понижение или полное подавление экспрессии специфичных микроРНК влияет на канцерогенез РТК [20].

Для описания проявления функции различных генов микроРНК и соответствующих микроРНК можно использовать термины, принятые в онкологии. Гены микроРНК проявляющие свое действие как белок-кодирующие онкогены можно

называть тоже онкогенами. МикроРНК, проявляющие себя подобно белок-кодирующим генам-онкосупрессорам, можно называть соответственно генами-онкосупрессорами, то есть у первых экспрессия понижена в норме, а у вторых повышена. Такая терминология позволяет описывать функцию микроРНК независимо от локализации их генов в межгенных участках, в белок-кодирующих генах (в том числе в белок-кодирующих онкогенах и генах-онкосупрессорах), либо в других участках нуклеиновых кислот.

МикроРНК работающие как онкогены подавляют экспрессию белок-кодирующих генов-онкосупрессоров. Например, семейства miR17-92, miR-21, miR-155, miR-372, miR-373. В результате повышенной экспрессии гена *mir-17-92* соответствующая микроРНК проявляет себя как онкоген. Она подавляет активность гена, белок которого должен обеспечить синтез белка-супрессора опухоли или белка, стимулирующего апоптоз опухолевых клеток [32]. МикроРНК функционирующие как гены-онкосупрессоры подавляют экспрессию кодирующих онкогенов. Например, let-7, miR-15a, miR-16-1, miR-143, miR-145 [33]. Из-за множественного действия микроРНК некоторые микроРНК действуют в некоторых случаях как онкогены, в других случаях как онкосупрессоры рака. Например, miR-21 и miR-24. В клеточной линии HeLa ингибирование экспрессии этих микроРНК приводит к усилению пролиферации, а в клеточной линии A549 ингибирование экспрессии miR-24 приводит к угнетению клеточного роста. Супрессия miR-21 в культуре глиобластомы активирует каспазы апоптоза, тогда как в гепатоме miR-21 ингибирует онкосупрессор PTEN [34]. МикроРНК связанные с онкогенозом называют – oncomirs [35].

Синтез многих белков участвующих в ключевых сигнальных путях развития РТК, таких как белки Wnt/в-катенин и фосфотидилинозитол-3-киназных путей, KRAS, p53 [36], регулируется посредством микроРНК. Изучение этих микроРНК важно для лучшего понимания патогенеза РТК, определения маркеров для диагностики и для выявления новых терапевтических мишеней.

Wnt/в-катениновый путь играет центральную роль в начальной стадии развития рака толстой кишки. Инактивация гена *APC* - главное инициирующее событие при РТК в 60% случаях аденомы и карциномы толстой кишки и сопровождается

стимуляцией Wnt пути посредством освобождения в-катенина [36]. Считается, что это основное событие в большинстве случаев трансформации нормального эпителия в раннюю аденому. В работе Ногеля с соавторами открыт новый путь регуляции *APC* при РТК. MiR-135a и miR135-b уменьшают транскрипцию *APC* in vitro. При аденоме и карциноме толстой кишки увеличивается экспрессия miR-135a и miR135-b in vivo, что коррелирует с уменьшением продукта гена *APC* [37].

Сигнальный путь рецептора эпидермального фактора роста (ЭФР-R) стимулирует прогрессию широкого спектра солидных форм рака и перспективен в качестве мишени для противораковой терапии. Активация ЭФР-R и KRAS инициирует каскад эффекторов, которые стимулируют рост, выживание, ангиогенез и метастазы опухоли [38]. В 30-60% аденокарцином имеются мутации в гене *KRAS* [39]. Продукт этого гена белок (21 kDa) расположенный на внутренней стороне плазматической мембраны, который участвует в передаче митогенных сигналов от рецептора внутрь клетки [40]. Предполагается, что мутации в этом гене способствуют переходу начальной аденомы в позднюю аденому или аденокарциному [41].

Онкоген *KRAS* является прямой мишенью для микроРНК семейства let-7 [42]. Когда в культуру DLD-1 раковых клеток, которые слабо экспрессируют микроРНК let-7, вводили прекурсор let-7a-1, рост опухоли значительно супрессировался с параллельным уменьшением белка KRAS, в то время как уровень мРНК *KRAS* оставался неизменным [43]. В регуляции синтеза KRAS при РТК участвует и miR-143. В клинических образцах опухоли уровень белка KRAS коррелирует с miR-143. Экспрессия *KRAS* in vitro значительно уменьшается во время обработки прекурсорами miR-143 [44]. Было обнаружено, что и miR-18a регулирует синтез KRAS, но не N- и HRAS уровни в клетках HT-29 аденокарциномы [45].

Другой сигнальный путь, связанный с рецептором эпидермального фактора роста и важный в развитии РТК, фосфотидилинозитол-3-киназный (PI-3-K) путь. Исследования, основанные на анализе профиля экспрессии микроРНК, обнаружили потерю экспрессии miR-126 в линиях рака толстой кишки, тогда как восстановление экспрессии miR-126 в эпителии толстой кишки приводит к значительному уменьшению роста опухоли [46].

Было доказано, что P85в регуляторная субъединица самой фосфотидилинозитол-3-киназы участвует в стабилизации и распространении PI-3-К сигнала посредством miR-126. Кроме того уменьшение P85в регулируется miR-126 и сопровождается значительным уменьшением фосфорилированного уровня белка онкогена *AKT* в раковых клетках, приводящего к торможению PI-3-К пути. В опухоли отмечено уменьшение miR-126 вместе с увеличением p85в белка [46]. Другой важный регуляторный компонент PI-3-К пути ген-онкосупрессор *PTEN*, экспрессия которого сильно угнетается miR-21, что было продемонстрировано на карциноме печени [47]. При РТК также показано нарушение регуляции miR-21 [48]. Итак, супрессия *PTEN* контролируется miR-21 и ассоциируется с усилением PI-3-К пути и прогрессией РТК.

Хорошо известный супрессорный ген *TP53* мутирован в 50–75% случаях РТК. *TP53* участвует в контроле ДНК репарации и регулирует митогенные онкогены через индукцию белков точек сверки клеточного цикла, апоптоза, клеточного старения [36]. Многочисленные исследования показали, что транскрипционный активатор *TP53* прямо или косвенно супрессирует экспрессию специфичных генов [49]. Было обнаружено, что *TP53* контролирует экспрессию микроРНК, которая позволяет косвенно регулировать транскрипцию гена мишени на посттранскрипционном уровне [50]. На линии опухолевых клеток толстой кишки НСТ-116 показано, что семейство miR-34a-с является транскрипционной мишенью для *TP53* [51]. Экспрессия miR-34a является достаточным условием для запуска апоптоза через *TP53* зависимый и независимый пути. Ген микроРНК miR-34b/c эпигенетически выключен у 9 из 9 клеточных линий РТК и 101 из 111 первичных опухолей РТК [52].

Изучение экспрессии микроРНК может быть полезным для определения и предсказания причины развития рака. С использованием real-time PCR метода была идентифицирована экспрессия большой группы микроРНК для выявления отличия рака поджелудочной железы от нормальной железы и от доброкачественной опухоли [53]. Был определен профиль экспрессии более 200 микроРНК прекурсоров. Более ста прекурсоров микроРНК абберантно экспрессируются в опухолях поджелудочной железы, среди них микроРНК

уже ассоциированные с раком в предшествующих работах: miR-155, miR-21, miR-221 и miR-222. MiR-376a и miR-301 были впервые ассоциированы с онкозаболеваниями. По панели экспрессии микроРНК были правильно определены 28 из 28 опухолей поджелудочной железы, 11 из 15 доброкачественных опухолей и 6 из 6 нормальных тканей поджелудочной железы [53]. Большинство дифференциально экспрессируемых микроРНК в опухолях поджелудочной железы показали повышенную экспрессию микроРНК. Высоко экспрессируемые микроРНК могут быть терапевтическими мишенями при использовании антисмысловых олигонуклеотидов, а также как маркеры для диагностики рака.

Обнаружено, что при РТК у 21 микроРНК уровень экспрессии повышен, а экспрессия одной микроРНК понижена. Было зарегистрировано нарушение экспрессии miR-17-5p, miR-20a, miR-21, miR-92, miR-106a, miR-155 [54].

В другой работе проанализировано 156 микроРНК и для 13 микроРНК были значительные изменения в экспрессии. Уровень экспрессии miR-31 коррелировал со стадией опухоли [55].

Еще одним применением микроРНК является противораковая терапия. Основная цель лекарств будущего поколения - индуцировать клеточную смерть исключительно опухолевых клеток. МикроРНК проявляют регуляторную роль в малигнизации и апоптозе, поэтому их можно использовать в модуляции чувствительности опухолей к терапии. Например, miR-145 проявляет проапоптотный эффект, который зависит от активации *TP53*. MiR-145 подавляет экспрессию альфа рецептора к эстрогену. Предлагается терапия с возобновлением экспрессии miR-145, которую можно использовать для опухолей с диким типом гена *TP53* и с рецепторами к эстрогену [56].

MiR-15b и miR-16 проявляют модулирующую чувствительность к пяти из шести протестированных лекарств при раке желудка. Гиперэкспрессия обеих микроРНК наблюдается вместе с увеличением винкрестин индуцированного апоптоза в клетках рака желудка. Обнаружено, что эти микроРНК регулируют уровень противоапоптотного белка BCL-2. Уменьшение экспрессии miR-15 и miR-16 вызывает устойчивость к лечению [57].

Показано, что глобальная репрессия микроРНК приводит к прогрессированию рака через быстрый рост опухоли и метастазирование.

На модели *KRAS* индуцированного рака легких мыши установлено, что делеция гена белка DICER1, участвующего в биогенезе микроРНК, приводит к быстрой прогрессии опухоли. Восстановление нормального уровня экспрессии микроРНК может ингибировать рост опухоли [58].

В заключение необходимо отметить, что изучение функционирования микроРНК приведет к решению проблемы ранней молекулярной диагностики и будет способствовать разработке новых способов лечения рака.

ЛИТЕРАТУРА

1. Земляной В.П., Трофимова Т.Н., Непомнящая С.Л., Деметьева Т.В. Современные методы диагностики и оценки степени распространенности рака ободочной и прямой кишки // Практическая онкология. 2005. Т. 6, № 2. С. 71-80.
2. Neklason D.W., Kerber R.A., Nilson D.B., Anton-Culver H., Schwartz A.G., Griffin C.A., Lowery J.T., Schidkraut J.M., Evans J.P., Tomlinson G.E., Strong L.C., Miller A.R., Stopfer J.E., Finkelshtein D.M., Nadkarni P.M., Kasten C.H., Mineau G.P., Burt R.W. Common familial colorectal cancer linked to chromosome 7q31: A genome-wide analysis // Cancer research. 2008. V. 68, N 21. P. 8993-8997.
3. Ogino S., Brahmandam M., Kawasaki T., Kirkner G.J., Loda M., Fuchs C.S.: Epigenetic profiling of synchronous colorectal neoplasias by quantitative DNA methylation analysis // Mod Pathol. 2006. N 19. P. 1083-1090.
4. Мартынюк В.В. Рак ободочной кишки (заболеваемость, смертность, факторы риска, скрининг) // Практическая онкология. 2000. № 1. С. 3-9.
5. Luchtenborg M., Weijenberg M.P., Roemen M. J. M., Bruine P., Brandt P., Lentjes H. F.M., Brink M., Engeland M., R. Goldbohm A., Goeij A. APC mutation in sporadic colorectal carcinomas from The Netherlands Cohort Study // Carcinogenesis. 2004. V. 25. P. 1219-1226.
6. Todor V., Chirila D., Tompa S. Familial colorectal cancer: The Lynch syndrome // Chirurgia. 1998. V. 93. P. 427-432.
7. Chen J., Rocken C., Lofton-Day C., Schulz H-U., Muller O., Kutzner N., Malfertheiner P., Ebert M. Molecular analysis of APC promoter methylation and protein expression in colorectal cancer metastasis // Cancirogenesis. 2005. V. 26, N 1. P. 37-43.
8. Takano Y., Shiota G., Kawasaki H. Analysis of genomic imprinting of insulin-like growth factor 2 in colorectal cancer // Oncology. 2000. N 59. P. 210-216.
9. Grady W.M. Genomic instability and colon cancer // Cancer Metastasis Rev. 2004. N 23. P. 11-27.
10. Cahill D.P., Lengauer C., Yu J., Riggins G.J., Willson J.K., Markowitz S.D., Kinzler K.W., Vogelstein B. Mutations of mitotic checkpoint genes in human cancers // Nature. 1998. N 392. P. 300-303.
11. Nishida N., Nagasaka T., Kashiwagi K., Boland C.R., Goel A. High copy amplification of the Aurora-A gene is associated with chromosomal instability phenotype in human colorectal cancers // Cancer Biol Ther. 2007. N 6. P. 525-533.
12. Fodde R., Kuipers J., Rosenberg C., Smits R., Kielman M., Gaspar C., van Es J.H., Breukel C., Weigant J., Giles R.H., Clevers H. Mutation in APC tumour suppressor gene cause chromosomal instability // Nat Cell Biol. 2001. N 3. P. 433-438.
13. Gualberto A., Aldape K., Kozakiewicz K., Tlsty T.D. An oncogenic form of p53 confers a dominant, gain-of-function phenotype that disrupts spindle checkpoint control // Proc Natl Acad Sci USA. 1998. N 95. P. 5166-5171.
14. Arnold C.N., Goel A., Boland C.R. Role of MLH1 promoter hypermethylation in drug resistance to 5-fluorouracil in colorectal cancer cell lines // Int J Cancer. 2003. N 106. P. 66-73.
15. de la Chapelle A. Genetic predisposition to colorectal cancer // Nat Rev Cancer. 2004. N 4. P. 769-780.
16. Rampino N., Yamamoto H., Lonov Y., Li Y., Sawai H., Reed J.C., Perucho M.: Somatic frameshift mutations in the BAX gene in colon cancers of the microsatellite mutator phenotype // Science. 1997. N 275. P. 967-969.
17. Croker A.K., Allan A.L. Cancer stem cells: implications for the progression and treatment of metastatic disease // J. Cell. Mol. Med. 2008. V. 12, N 2. P. 374-390.
18. Jian-Xin Gao. Cancer stem cells: the lessons from pre-cancerous stem cells // J. Cell. Mol. Med. 2008. V. 12, N 1. P. 67-96.
19. Sjoblom T., Sian J., Laura D.W., Williams Parsons D., Jimmy L. et al. The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers // Science. V. 314. P. 268-274.
20. Slaby O., Svoboda M., Michalek J., Vyzula R. MicroRNAs in colorectal cancer: translation of molecular biology into clinical application // Molecular Cancer. 2009. V. 8, N 102. P. 1-13.
21. Vasudevan S., Tong Y., Steitz J.A. Switching from repression to activation: microRNAs can up-regulate translation // Science. 2007. N 318. P. 1931-4.
22. Mattaj J.W., Tollervey D., Seraphin B. Small nuclear RNAs in messenger RNA and ribosomal RNA processing // The FASEB Journal 1993. N 7. P. 47-53.
23. Bachellerie J.P., Cavaille J., Huttenhoffer A. The expanding snoRNA world // Biochimie 2002. N 84. P. 775-90.
24. Ambros V., Lee R.C., Lavanway A., Williams P.T., Jewell D. MicroRNA and other tiny endogenous RNAs in *C.elegans* // Curr Biol. 2003. N 13. P. 807-18.
25. Lim L.P., Glasner M.E., Yekta S., Burge C.B., Bartel D.P. Vertebrate microRNA genes // Science. 2003. N 299. P. 1540.
26. Reinhart B.J., Weinstein E.G., Rhoades M.W., Bartel B., Bartel D.P. MicroRNAs in plants // Genes Dev. 2002. N 16. P. 1616-1626.
27. Lim L., Lau N., Weinstein E. et al. The microRNAs of *C. elegans* // Genes Dev. 2003. V. 17. P. 991-1008.
28. Pfeffer S., Zavolan M., Grasser F.A., Chein M., Russo J.J., Ju J., John B., Enright A.J., Marks D., Sander C., Tuschl T. Identification of virus-encoded microRNAs // Science. 2004. N 304. P. 734-736.
29. Garzon R., Calin G.A., Croce C.M. MicroRNAs in cancer // Annur Rev Med. 2009. N 60. P. 167-179.
30. Enquela-Kerscher A., Slack F.J. Oncomirs – microRNAs with a role in cancer // Nat Rev Cancer. 2006. N 6. P. 259-269.
31. Lynam-Lennon N., Staphen G., Reynold M., Reynold J. The role of microRNA in cancer and apoptosis // Biol. Reviews. 2009. N 84. P. 55-71.
32. He L., Thomson J.M., Hemann M.T., Hernando-Monge E., Mu D., Goodson S., Powers S., Cordon-Cardo C., Lowe S.W., Hannon G.J., et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene // Nature. 2005. N 435. P. 828-833.

33. Griffiths-Jones S., Enright A.J., Farazi T.A. et al. MicroRNA research. The 2008 Collection booklet: Exiqon, 2008. 136 p.
34. Ryazansky S.S., Gvozdev V.A. Small RNAs and Cancerogenesis // *Biochemistry*. 2008. V. 73, N 5. P. 514-527.
35. Esquela-Kerscher A., Slack F.J. Oncomirs – microRNA with a role in cancer // *Nat Rev Cancer*. 2006. N 6(4). P. 259-269.
36. Fearon ER., Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis // *Cell*. 1990. N 61. P. 759-767.
37. Nagel R., Le Sage C., Diosdado B., Waal M., Oude Vrielink JA., Boligin A., Meijer GA., Agami R. Regulation of the adenomatous polyposis coli gene by the miR-135 family in colorectal cancer // *Cancer Res*. 2008. N 68. P. 5795-5802.
38. Cierdiello F., Tortora G. EGFR antagonists I cancer treatment // *N Engl J Med*. 2008. N 358. P. 1160-1174.
39. Kressner U., Bjorheim J., Westring S., Wahlberg S.S., Pahlman L., Glimelius B., Lindmark G., Lindblom A., Borresen-Dale A.L. Ki-ras mutation and prognosis in colorectal cancer // *Eur. J. Cancer*. 1998. N 34. P. 518-521.
40. Shields J.M., Pruitt K., McFall A., Shaub A., Der C.J. Understanding ras: 'it ain't over 'til it's over' // *Trends Cell Biol*. 2000. N 10. P. 147-154.
41. Campbell S.L., Khosravi-Far R., Rossman K.L., Clark G.J., Der C.J. Increasing complexity of Ras signaling // *Oncogene*. 1998. N 17. P. 1395-1413.
42. Johnson SM., Grosshans H., Shingara J., Byrom M., Jarvis R., Cheng A., Labourier E., Reinert KL., Brown D., Slack F.J. RAS is regulated by the let-7 microRNA family // *Cell*. 2005. N 120. P. 635-647.
43. Akao Y., Nakagawa Y., Naoe T. let-7 microRNA functions as a potential growth suppressor in human colon cancer cells // *Biol Pharm Bull*. 2006. N 29. P. 903-906.
44. Chen X., Guo X., Zhang H., Xiang Y., Cheng J., Yin Y., Cai X., Xang K., Wang G., Ba Y., Zhu L., Wang J., Yang R., Zhang Y., Ren Z., Zen K., Zhang J., Zhang CY. Role of miR-143 targeting KRAS in colorectal tumorigenesis // *Oncogene*. 2009. N 28. P. 1385-1392.
45. Tsang WP., Kwok TT. The miR-18a* microRNA functions as a potential tumor suppressor by targeting on K-RAS // *Carcinogenesis*. 2009. N 30. P. 953-959.
46. Guo C., Sah JF., Beard L., Willson JK., Markowitz SD., Guda K. The non-coding RNA, miR-126, suppresses the growth of neoplastic cells by targeting phosphatidylinositol 3-kinase signaling and is frequently lost in colon cancers // *Genes Chromosomes Cancer*. 2008. N 47. P. 939-946.
47. Meng F., Henson R., Wehbe-Janek H., Groshal K., Jacob ST., Patel T. MicroRNA-21 regulated expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer // *Gastroenterology*. 2007. N 133. P. 647-658.
48. Krichevsky AM., Gabriely G. miR-21: a small multifaceted RNA // *J Cell Mol Med*. 2009. N 13. P. 39-53.
49. He L., He X., Lowe SW., Hannon GJ. microRNAs join the p53 network-another piece in the tumour-suppression puzzle // *Nat Rev Cancer*. 2007. N 7. P. 819-822.
50. Hermeking H. p53 enters the microRNA world // *Cancer Cell*. 2007. N 12. P. 414-418.
51. Chang T.C., Wentzel E.A., Kent O.A., Ramachandran K., Mullendore M., Lee K.H., Feldmann G., Yamakuchi M., Ferli-
- to M., Lowenstein C.J., Arking D.E., Beer M.A., Maitra A., Mendell J.T. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis // *Mol Cell*. 2007. N 26. P. 745-752.
52. Toyota M., Suzuki H., Sasaki Y., Maruyama R., Imai K., Shinomura Y., Tokino T. Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell Tanslocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer // *Cancer Res*. 2008. N 68. P. 4123-4132.
53. Lee E.J., Gusev Y., Jiang J., Nuovo G.J., Lerner M.R., Frankel W.L., Morgan D.L., Postier R.G., Brackett D.J., Schmittgen T.D. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer // *Int. J. Cancer*. 2007. N 120. P. 1046-1054.
54. Volinia S., Calin GA., Liu CG., Ambs S., Cimmino A., Petrocca F., Visone R., Iorio M., Roldo C., Ferracin M., Harris CC., Croce CM. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets // *Proc Nati Acad Sci USA*. 2006. N 103. P. 2257-2261.
55. Bandres E., Cubedo E., Agirre X., Malumbres R., Zarate R., Ramirez N., Abajo A., Navarro A., Moreno I., Monzo M., Garcia-Foncillas J. Identification by Real-time PCR of 13 mature microRNAs differentially expressed in colorectal cancer and non-tumoral tissues // *Mol. Cancer*. 2006. N 5. P. 29.
56. Spizzo R., Nicoloso M.S., Lupini L. et al. miR-145 participates with TP53 in a death-promoting regulatory loop and targets estrogen receptor-alpha in human breast cancer cells // *Cell death differ*. 2010. N 17(2). P. 246-54.
57. Xia L., Zhang D., Du R., Pan Y., Zhao L., Sun S., Hong L., Liu J., Fan D. MiR-15 and miR-16 modulate multidrug resistance by targeting BCL2 in human gastric cancer cells // *Int J Cancer*. 2008. N 123. P. 372-9.
58. Kumar M.S., Lu J., Mercer K.L., Golub T.R., Jacks T. Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis // *Nat Genet*. 2007. N 39. P. 673-7.

Резюме

Канцерогенез генетикалық және эпигенетикалық бұзылыстарды жинақтайтын көп сағылы процесс, оның барысында ақуыздар мен микроРНК гендерінде өзгерістер байқалады. Тоқ ішек ісінде онкогендер мен онкосупрессорлардың ауытқулары қарастырылды, диагностика үшін молекулалық маркерлерді табудың күрделілігі атап өтілуде. Тоқ ішек ісігінің даму жолдарында микроРНК қатысуы талданды. МикроРНК негізінде молекулалық маркерлерді жасау болашағы негізделуде.

Summary

Carcinogenesis is a multistage process of accumulating of genetic and epigenetic violations that accompanied by alteration in protein-coding genes and microRNA genes. During colon cancer anomalies in oncogenes and tumor-suppressor genes have viewed, it is difficult to select the molecular markers for early diagnostics. MicroRNA participation in pathways of development of a colon cancer was analyzed. It is reliable to use microRNAs for molecular markers.