

Алексеева Е.А.

Медицинская генетика

Фармация Курс 3 ЦИОП «Медицина будущего»

# Молекулярные основы канцерогенеза

# Рак

- группа заболеваний, характеризующая ненормальным и неконтролируемым ростом клеток;
- возникает в результате потери контроля над нормальным ростом клетки
- в нормальных тканях уровень размножения клеток и уровень клеточной смерти находится в равновесии;
- при раке это равновесие нарушается в результате:
  - 1) неконтролируемого деления клеток
  - 2) потери клетками способности к апоптозу

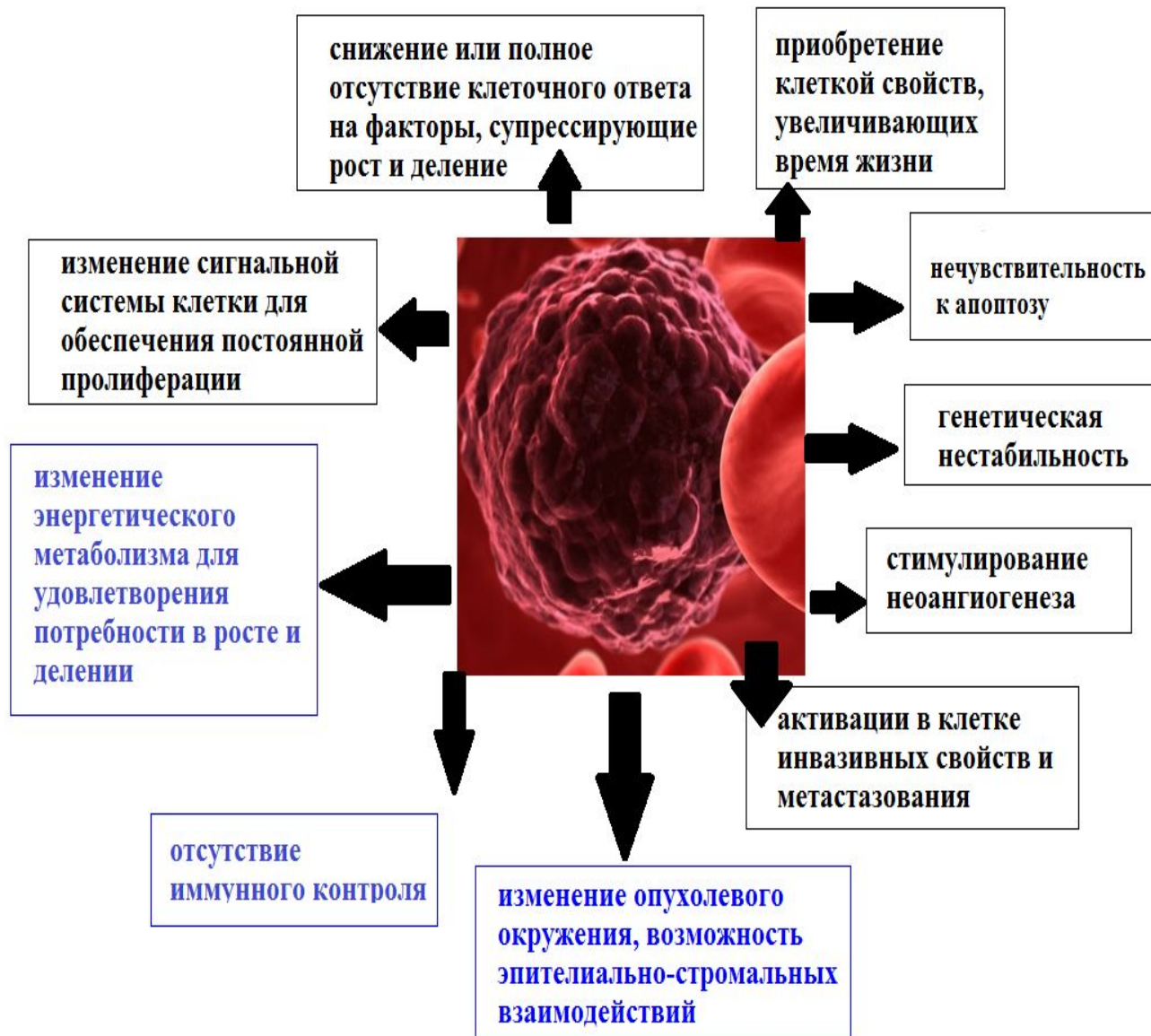
# Рак

- группа, состоящая из больше чем 100 различных особых заболеваний;
- процессы происходящие в различных типах опухолей могут быть совершенно различными, что касается их возникновения, развития, диагностики, лечения;
- рейтинг встречаемости злокачественных опухолей в России (2015 год):
  1. рак кожи – 14,2%;
  2. рак молочной железы – 11,4%;
  3. рак легкого – 10,2%;
  4. рак ободочной кишки – 6,6%;
  5. рак предстательной железы – 6,6%;
  6. Рак желудка – 6,4%

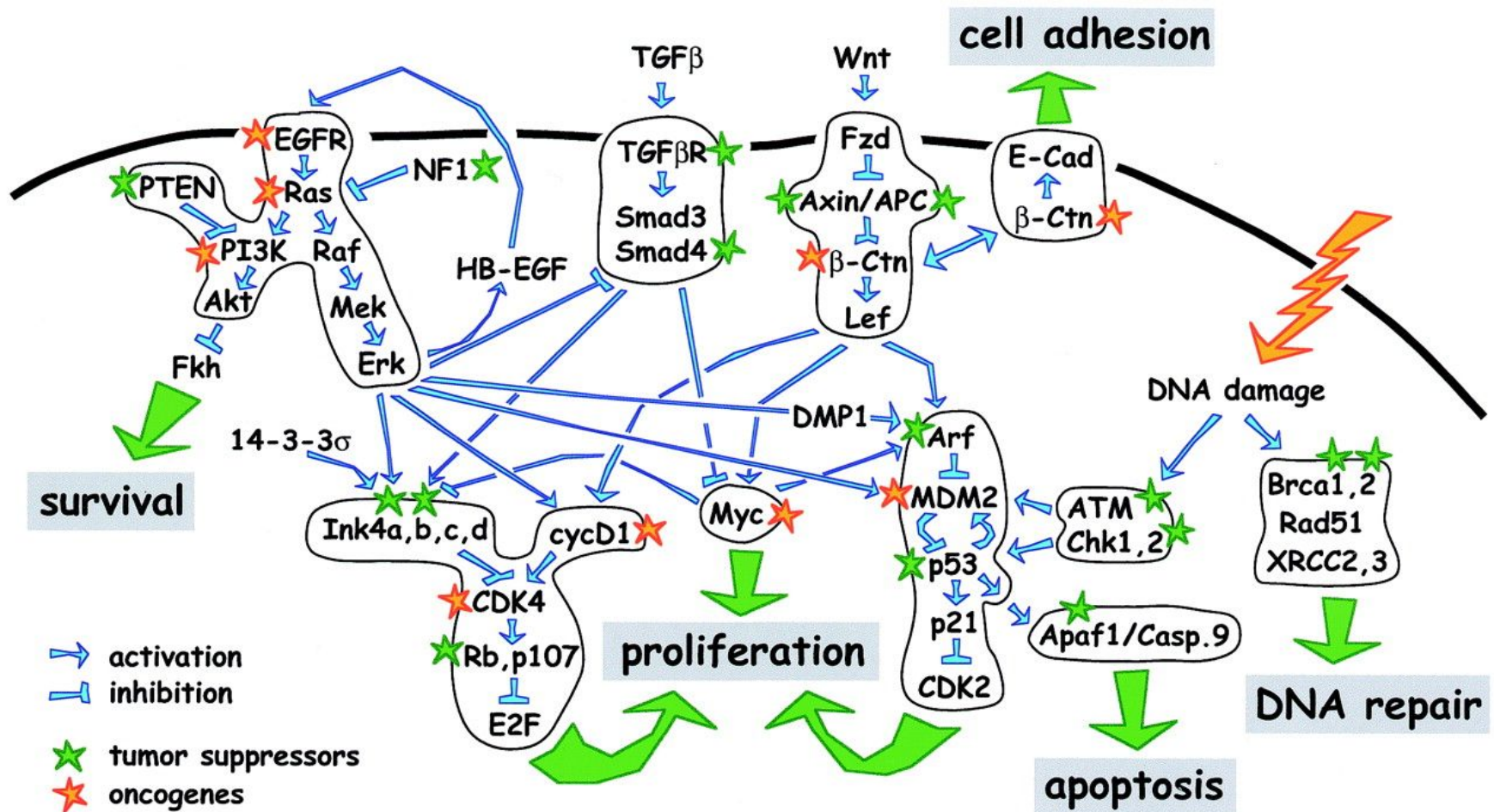
# Рак – заболевание генома

- наличие в опухолевых тканях большого числа хромосомных перестроек, как численных изменений числа хромосом, так и их структурных повреждений;
- наличие в опухолевых тканях большого числа мутаций в генах;
- существование наследственных форм рака;
- онкогенное действие ряда вирусов, способных взаимодействовать с геномом хозяина и встраиваться в молекулы ДНК;
- химические вещества и физические воздействия, обладающие мутагенным эффектом, имеют также и канцерогенный эффект;

# Отличительные признаки злокачественных клеток



# Генные каскады в процессах пролиферации, репарации ДНК, клеточных контактов, апоптоза



По экспериментальным оценкам около 200 генов мутируют в злокачественных опухолях молочной железы и толстого кишечника, со средним показателем – 11 мутаций в каждой опухоли. Аномально метилированные промоторные районы (CpG-островки) составляют 100-400 в каждой опухоли.

# Нестабильность генома – общее фундаментальное свойство опухолевых клеток

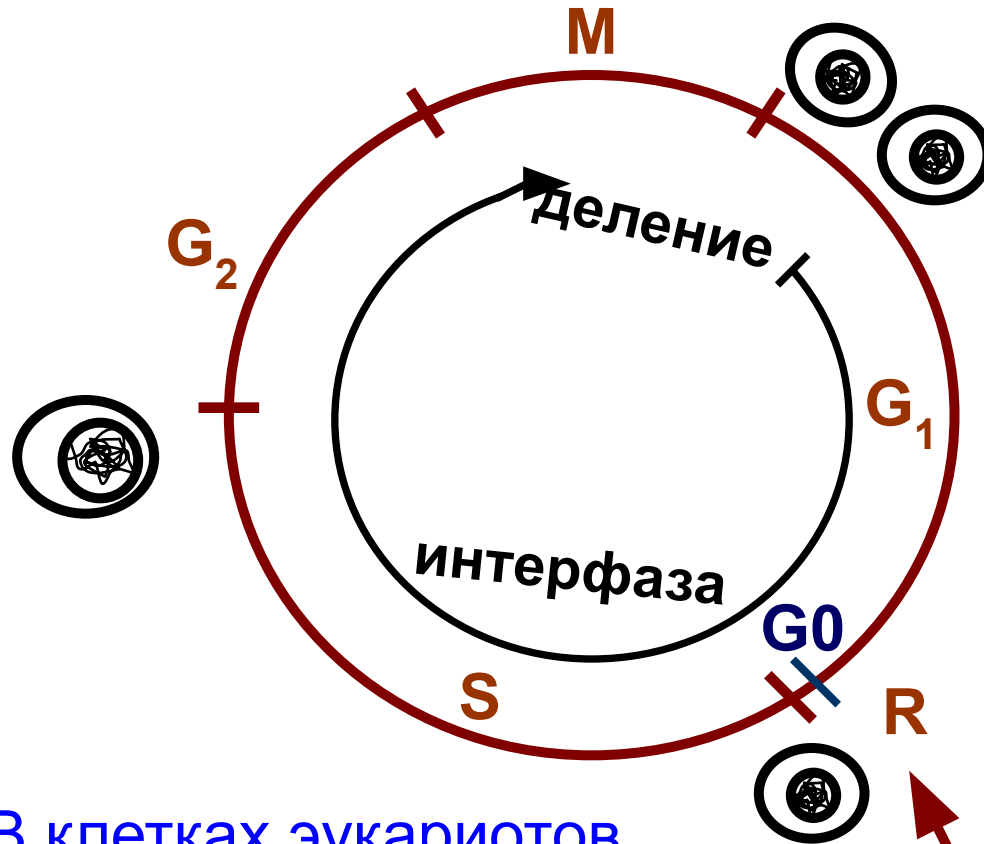
## Генетическая нестабильность:

- наличие изменений в хромосомах, как числа хромосом (анеуплоидия и полиплоидия), так и внутренних хромосомных перестроек (делеций, инсерций, транслокаций);
- наличие точковых мутаций в генах, приводящих к активации или инактивации генной функции;
- существование нестабильности микросателлитных повторов.

## Эпигенетическая нестабильность:

- нарушение баланса метилирования/деметилирования:
- ✓ деметилирование транспозонов и вирусных частиц, инактивированных в нормальной клетке
- ✓ деметилирование гетерохроматина, в том числе и центромерного, что приводит к нарушению распределения хромосом при делении клетки
- ✓ гиперметилирование регуляторных районов генов-супрессоров, приводящее к отсутствию их экспрессии.

# Клеточный цикл



Все фазы клеточного цикла регулируются **специфическими белками**, кодируемыми генами клеточного цикла (cdc-генами)

**Ключевые регуляторы клеточного цикла:**

- циклин-зависимые киназы,
- циклины,
- ингибиторы циклин-зависимых киназ.

В клетках эукариотов средняя продолжительность

S-фазы – 8 часов

G<sub>2</sub>-фазы – 4 часа

M-фазы – около 1 часа

G<sub>1</sub>-фазы – переменна по длительности

**Точка рестрикции**

# Регуляторы клеточного цикла

| ПРООТОНКОГЕНЫ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | ГЕНЫ-СУПРЕССОРЫ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Позитивные регуляторы, способные индуцировать деление клетки                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Негативные регуляторы, препятствующие делению клетки                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| В нормальных тканях имеют фоновый уровень экспрессии                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | В норме экспрессируются почти во всех тканях                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Действие проявляется в результате активации протоонкогена даже в гетерозиготном состоянии (достаточно активации одного аллеля)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Действие проявляется только при наличии повреждения обоих аллелей (полная инактивация функции)                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <p><b>АКТИВАЦИЯ</b></p> <p>1. Нарушение экспрессии:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- гиперэкспрессия;</li> <li>- эктопическая экспрессия</li> </ul> <p>2. Производство нового химерного белка с аномальной функцией</p> <p>Механизм:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- точковая активирующая мутация</li> <li>- амплификация гена</li> <li>- переход гена под более активный промотор, или активация промотора старого</li> </ul> | <p><b>ИНАКТИВАЦИЯ</b></p> <p>1. Мутации</p> <p>гетерозиготы по мутантным аллелям генов-супрессоров имеют повышенную предрасположенность к опухолям</p> <p>2. Потеря гетерозиготности</p> <p>в опухолевых тканях - делеции районов локализации генов-супрессоров</p> <p>3. Метилирование регуляторных районов, приводящее к отсутствию экспрессии гена</p> |

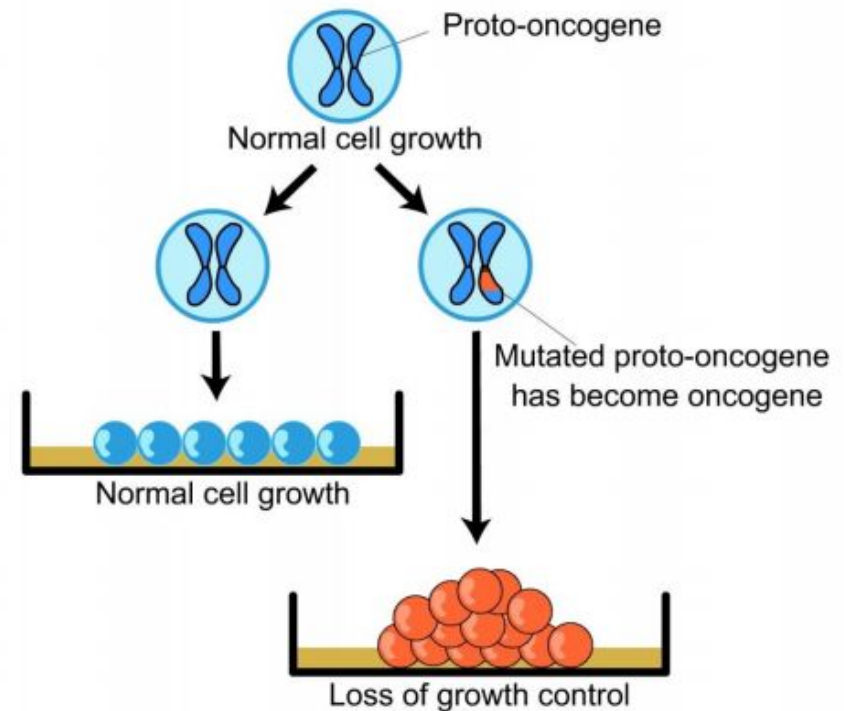
# Онкогены

## Вирусные онкогены:

- вирус папилломы → рак шейки матки;
- вирус Эпштейн-Барр → рак носоглотки;
- вирус гепатита В → рак печени.

## Онкогены:

- мутантные формы клеточных протоонкогенов;
- протоонкогены кодируют белки, регулирующие нормальный клеточный рост и дифференцировку;
- онкогены являются мутированными генами, чьё присутствие может стимулировать развитие рака;
- Обладают способностью к передачи сигнала, индуцирующего клетку к делению, в отсутствии внешнего стимула



# Онкогены

## Клеточные онкогены(протоонкогены):

- Факторы роста
- Тирозинкиназы
- Некиназные рецепторы
- G-белки ассоциированные с мембраной
- Цитоплазматические регуляторы
- Факторы транскрипции
- Белки, контролирующие клеточный цикл

# Некоторые важные онкогены

## HER-2/neu

- кодирует клеточный рецептор, стимулирующий клеточное деление;
- амплифицирован в 30% случаев рака груди;

## RAS

- продукт гена вовлечён в сигнальный киназный путь, который строго контролирует транскрипцию генов регулирующих клеточное деление и дифференциацию;

## MYC

- белок Мус является транскрипционным фактором и контролирует экспрессию нескольких важных генов;

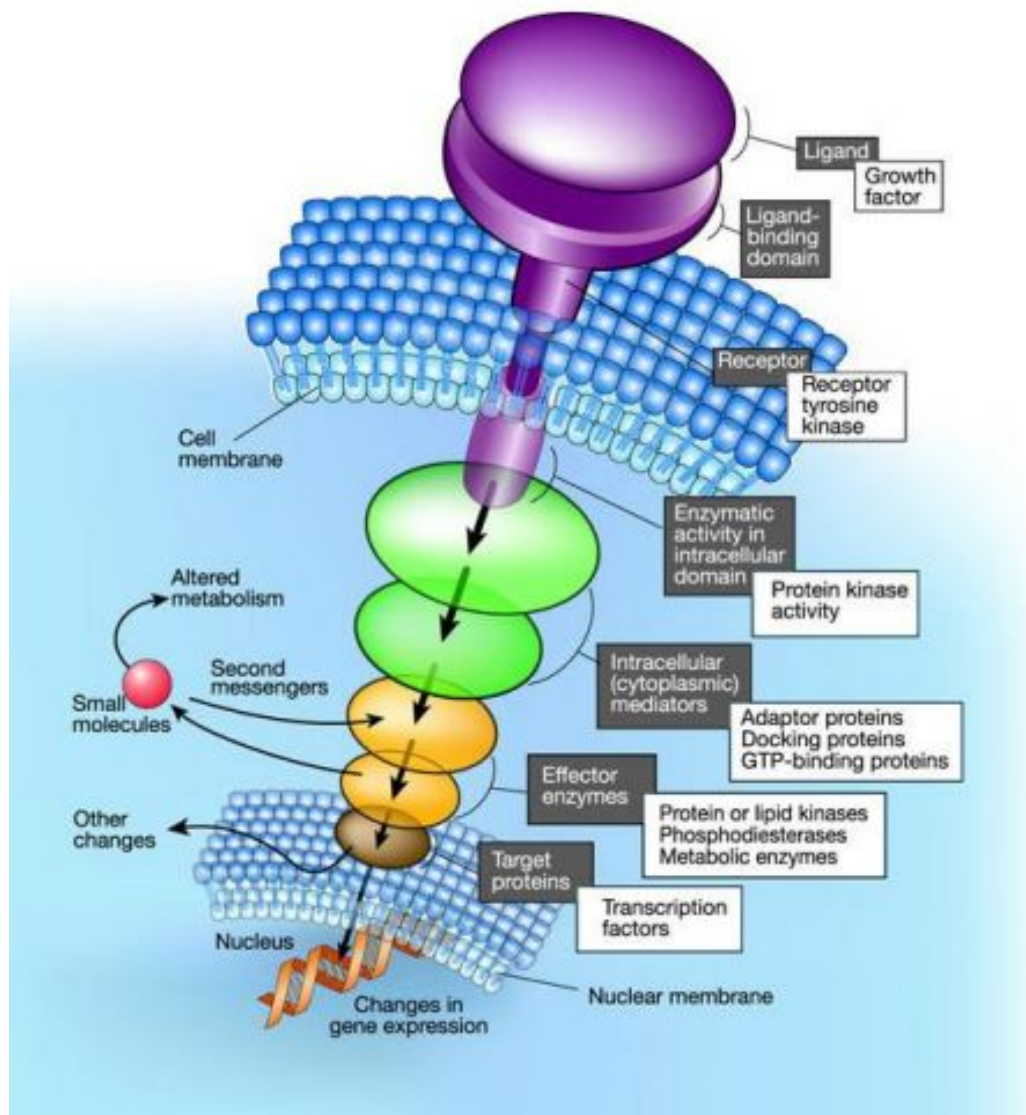
## SRC

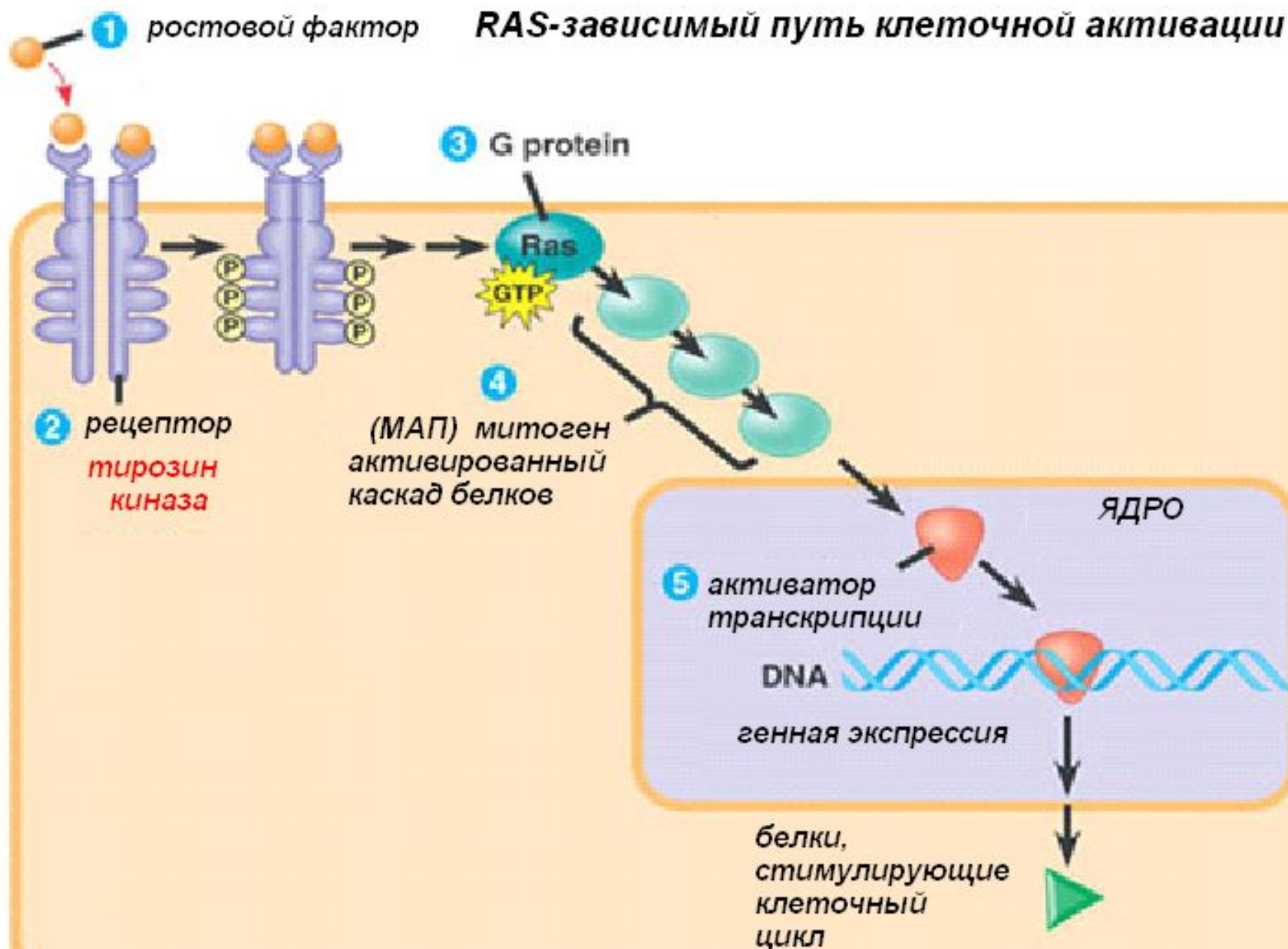
- был первым открытым онкогеном;
- белок Src является тирозин киназой, регулирующей клеточную активность;

## hTERT

- кодирует фермент – теломеразу.

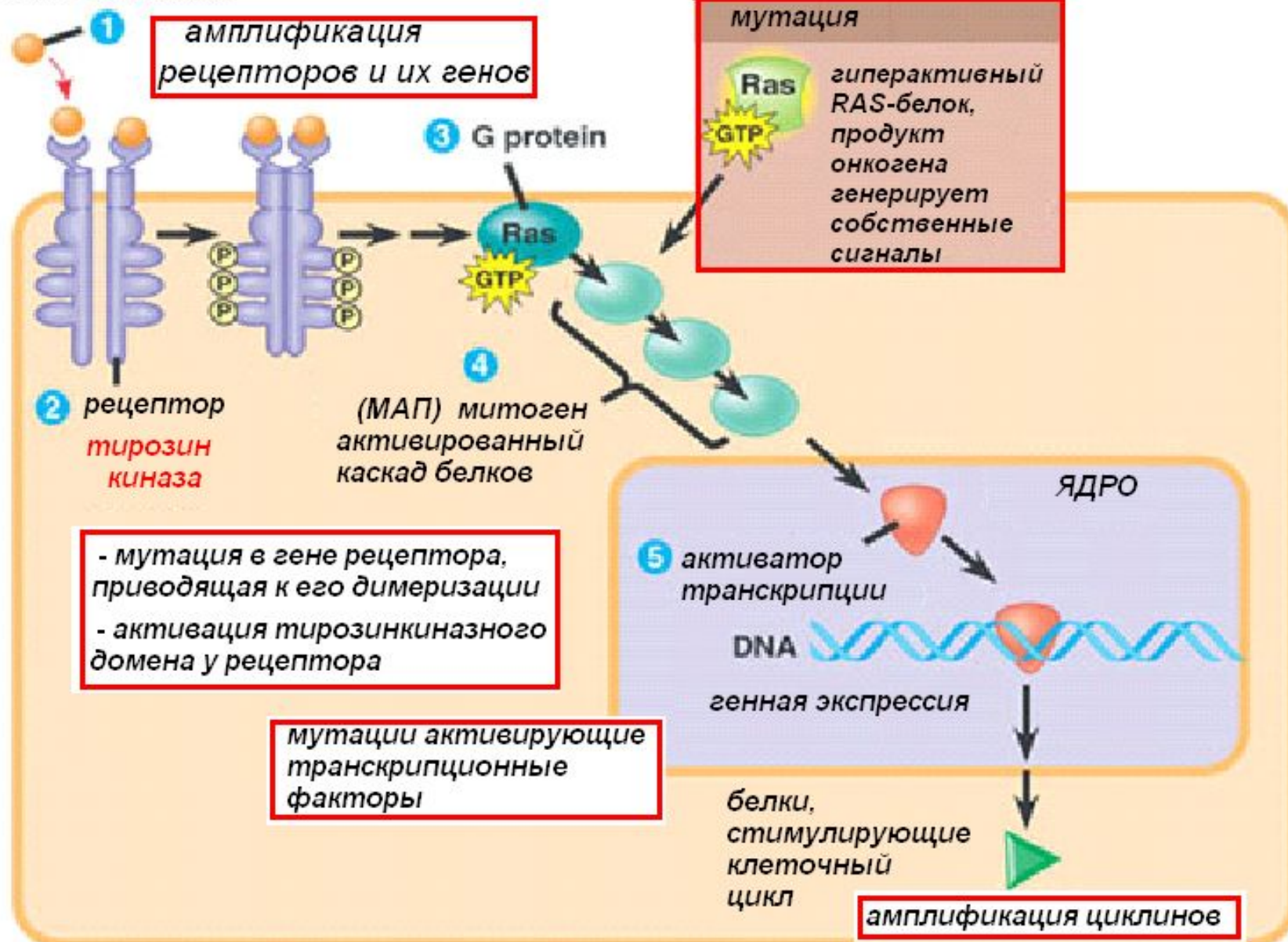
# Онкогены



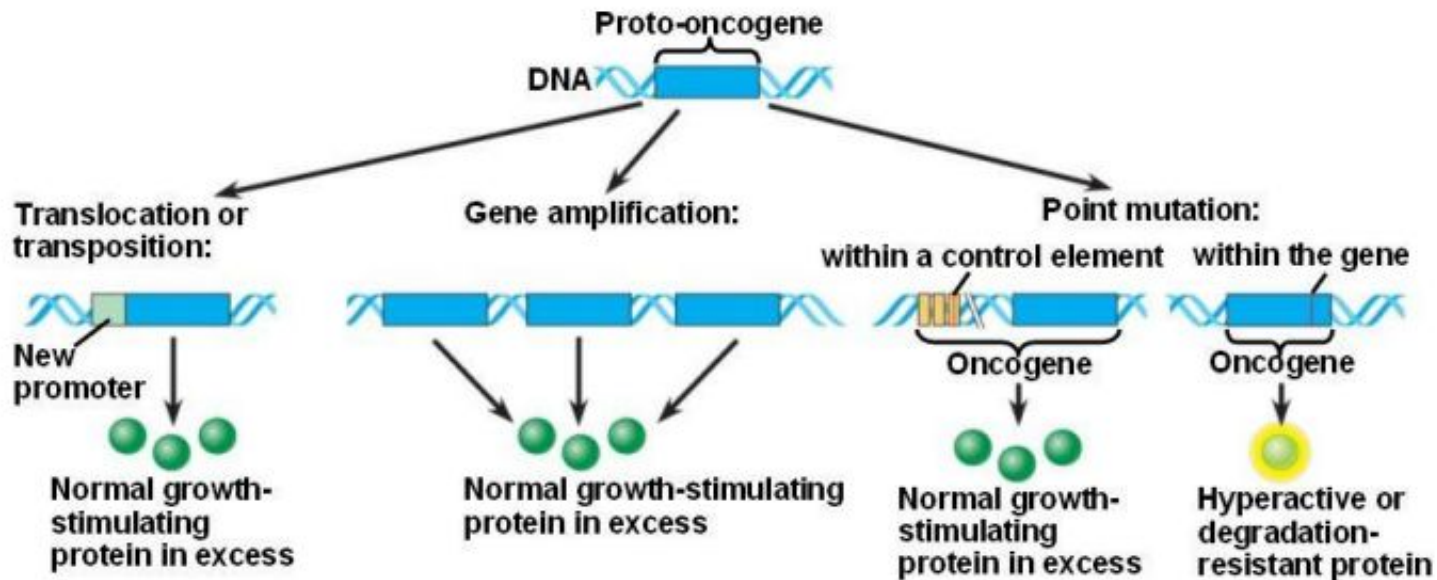


# RAS-зависимый путь клеточной активации

ростовой фактор



# Механизмы активации онкогенов

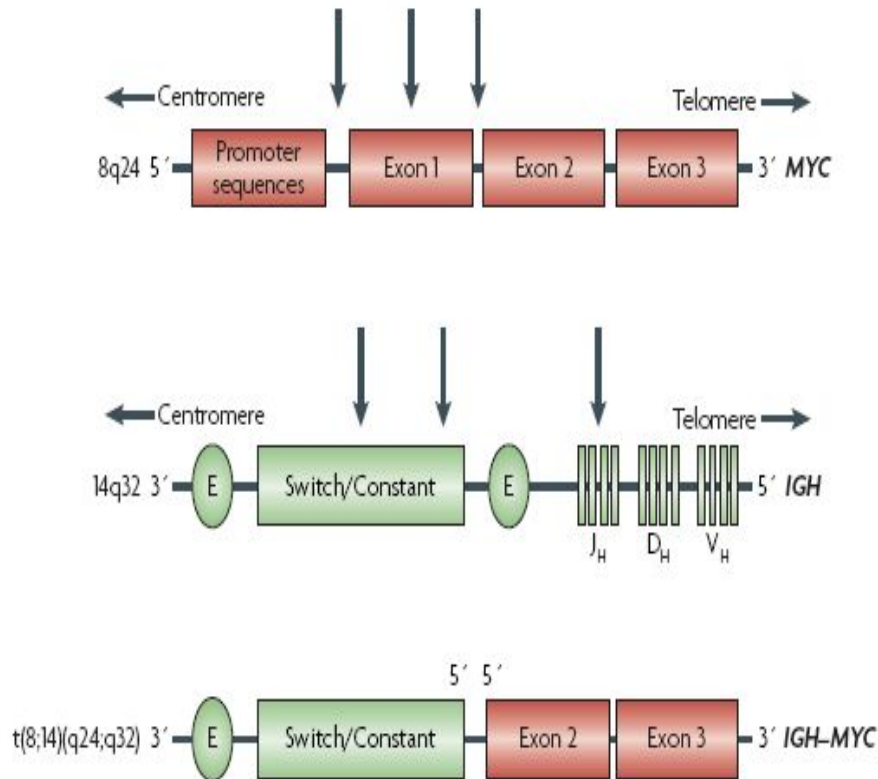


1. Перемещение гена в другой локус, под более активный регуляторный элемент, с образованием химерных генов;
2. Амплификация онкогенов;
3. Мутации в собственном регуляторном элементе;
4. Активирующие мутации самого протоонкогена.

# Механизмы активации онкогенов

- *Перемещение гена в другой локус под более активный регуляторный элемент:*
  - без изменения структуры протоонкогена

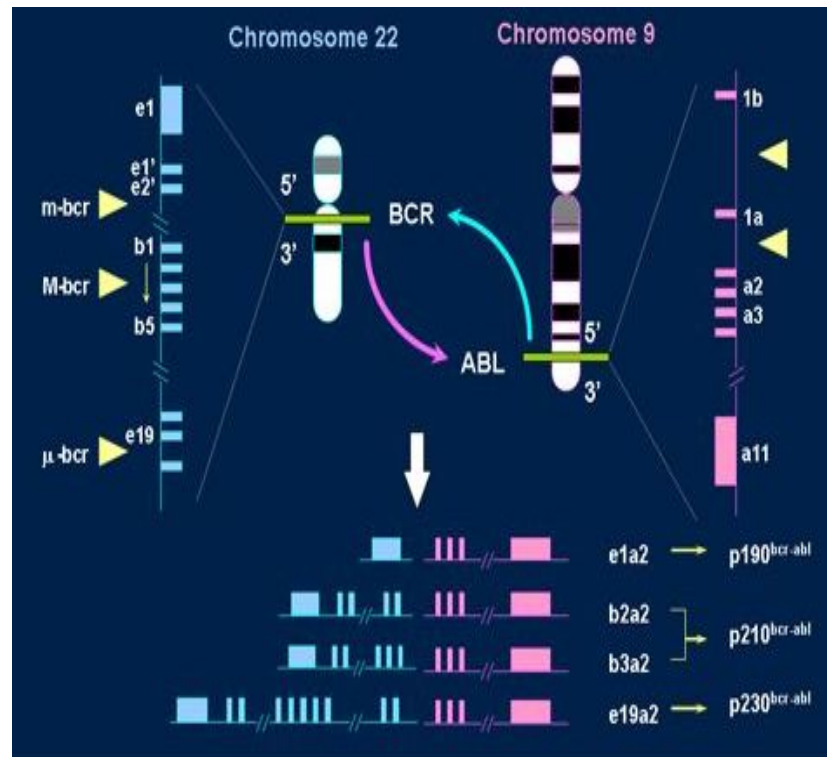
Лимфома Беркита: транслокация гена *MYC* (8q24) в область генов иммуноглобулинов *IGH* (14q32), *IGK* (2p12), *IGL* (22q11) )



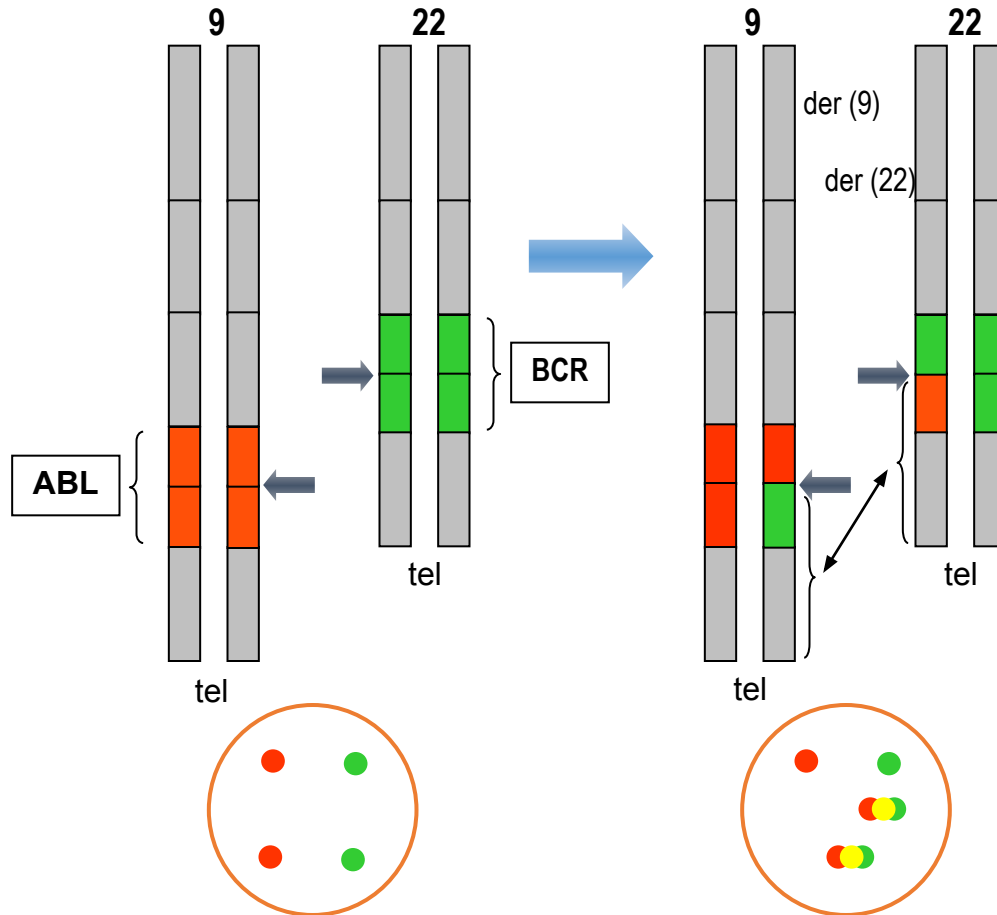
# Механизмы активации онкогенов

- Перемещение гена в другой локус под более активный регуляторный элемент:
  - с образованием химерных генов (транслокации, инверсии, небольшие делеции)

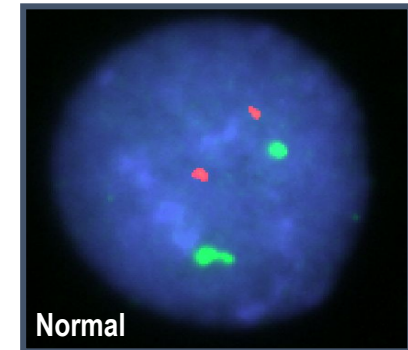
Хроническая миелоидная лейкемия: транслокация хромосом 9 и 22, приводящая к появлению филадельфийской хромосомы (химерный ген *ABL-BCR*)



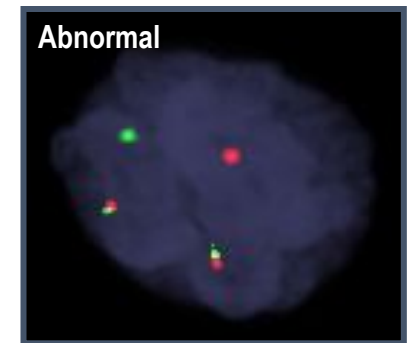
# Транслокация BCR/ABL (хронический миелоидный лейкоз)



- Probe designed to flank both sides of breakpoints on chromosome 9 and both sides of breakpoints on chromosome 22
- Used for diagnosis / prognosis, minimum residual disease detection or monitoring



- Chromosome 9
- Chromosome 22



- Chromosome 9
- der(9): 1 fusion
- Chromosome 22
- der(22): 1 fusion

← = Breakpoint

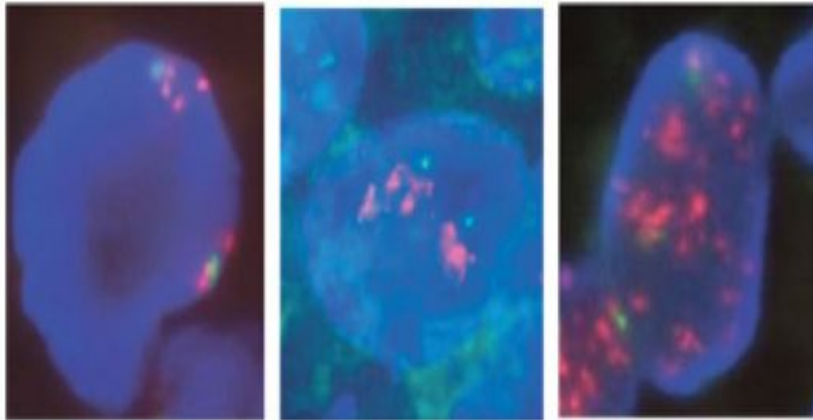
# Химерные онкогены

- Многие из перестроек характерны только для определенного типа заболевания:
  - саркома Юинга (*FLI1-EWSR1*);
  - неходжкинская лимфома (*REL-NRG*);
- Существуют химерные гены, которые могут провоцировать опухоли различных гистогенетических типов:
  - ✓ (*ETV6-NTRK3* t(12;15)(p13;q25)): острая миелоидная лейкемия, мезобластная нефрома почек, фибросаркома мягких тканей, аденокарцинома молочной железы.

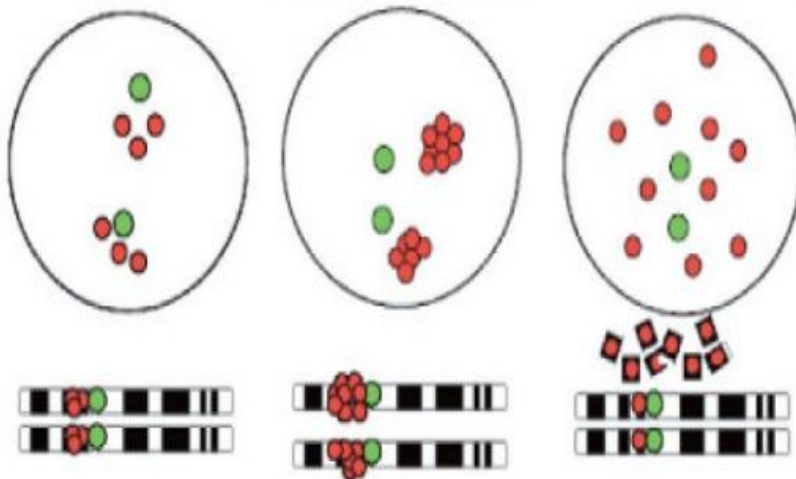
# Механизмы активации онкогенов

- Амплификация онкогенов:

Амплификация гена EGFR (7 хромосома)



Оценка количественного статуса гена EGFR при помощи FISH. В качестве референсного использован центромерный зонд CEP7 (зеленый цвет)

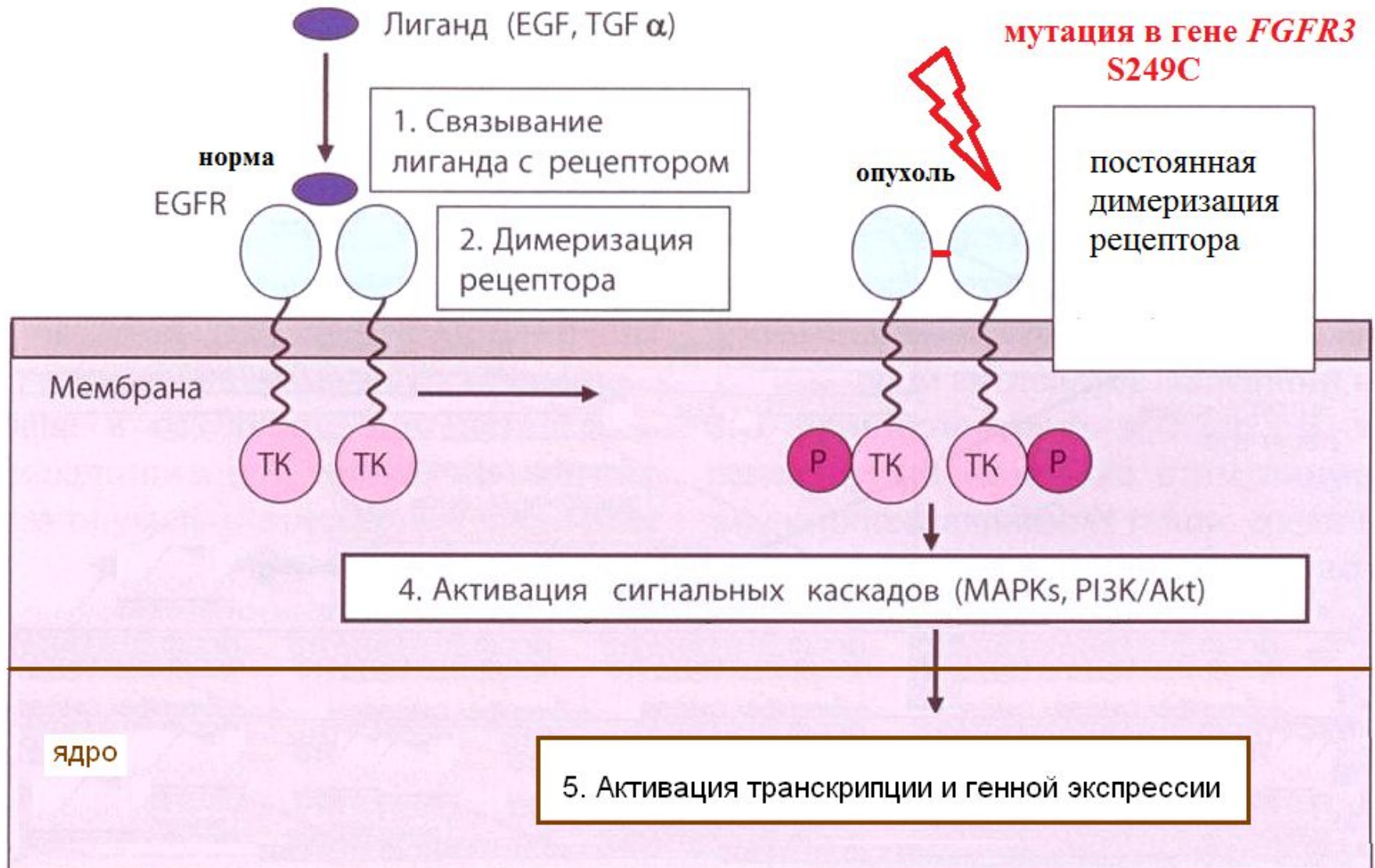
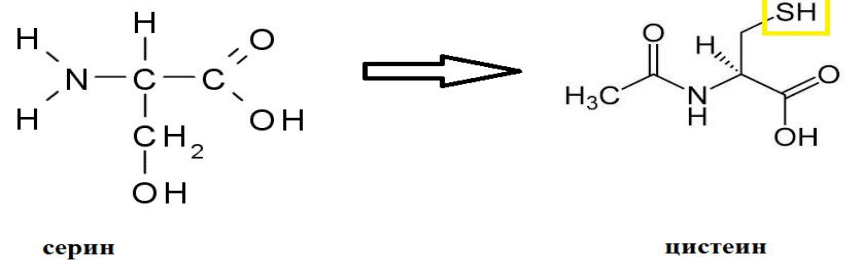


# Механизмы активации онкогенов

- Мутации в собственном регуляторном элементе
- Активирующие мутации самого протоонкогена

| Онкоген          | Характер мутации | Функция продукта                 | Тип опухоли                                                                         |
|------------------|------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| HST, EGFR        | TM, АГ, TM, АГ   | ФР, РФР                          | Рак желудка, карциномы, глиомы                                                      |
| NEU              | ГА               | РФР                              | Рак молочной железы, яичника, желудка                                               |
| KIT              | TM               | РФР                              | Меланома, стромальная опухоль желудка или кишечника                                 |
| K-RAS            | TM               | ГТФаза                           | Карциномы разных органов                                                            |
| H-RAS            | TM               | ГТФаза                           | Рак мочевого пузыря                                                                 |
| N-RAS            | TM               | ГТФаза                           | Миелоидный лейкоз                                                                   |
| MDM-2            | АГ               | P53-связывающий белок            | Саркома                                                                             |
| Bcl-2            | ХТ               | Антиапоптотический белок         | В-клеточная лимфома                                                                 |
| CYCD1            | АГ, ХТ           | Контроль клеточного цикла        | Рак молочной железы и другие карциномы, В-клеточная лимфома, паратиреоидная аденома |
| bcr-abl          | ХТ               | Химерная тирозинкиназа           | Хронический миелопейкоз, острый лимфоблейкоз                                        |
| RET*             | ХТ, TM           | Рецепторная тирозинкиназа        | Рак щитовидной железы                                                               |
| MET              | TM, АГ           | Рецепторная тирозинкиназа        | Карциномы желудка, кишечника, легких                                                |
| CDK4*            | АГ, TM           | Циклинзависимая киназа           | Саркома (семейная меланома)                                                         |
| c-Myc            | ХТ, АГ           | ТФ                               | В-клеточная лимфома                                                                 |
| L-Myc            | АГ               | ТФ                               | Нейробластома,                                                                      |
| N-Myc            | АГ               | ТФ                               | мелкоклеточный рак легких                                                           |
| ERG-ETV          | ХТ               | ТФ                               | Карцинома предстательной железы                                                     |
| Notch            | ХТ, TM           | ТФ и рецептор                    | Т-клеточный острый лимфоблейкоз                                                     |
| GLI              | АГ               | ТФ                               | Саркома, глиома                                                                     |
| PML-RAR $\alpha$ | ХТ               | Химерный ТФ                      | Острый промиелоцитарный лейкоз                                                      |
| W2A-PBX1         | ХТ               | Химерный ТФ                      | Пре-В-клеточный острый лейкоз                                                       |
| $\beta$ CAT      | TM, делеция      | Ко-активатор транскрипции        | Меланома, рак кишечника                                                             |
| SMO              | TM               | Трансмембранный сигнальный белок | Базально-клеточный рак кожи                                                         |
| BRAF             | TM               | Киназа пути RAS                  | Меланома, рак кишечника                                                             |

# Мутация в 249 кодоне гена *FGFR3* приводит к



# Ген *RET*

- кодирует рецепторную тирозинкиназу;
- экспрессия обнаруживается в тканях – производных нервного гребня, включая симпатические ганглии, мозговое вещество надпочечников, С-клетки щитовидной железы и почек, а также в некоторых опухолях – нейробластоме, феохромоцитоме и медуллярной тиреокарциноме ;
- существует зависимость функционального выражения мутаций этого гена от тканевой специфичности его экспрессии и сайта мутации.

## Злокачественные опухоли щитовидной железы:

- Папиллярная тиреокарцинома ~ 70-80%
  - относительно благоприятная форма рака
  - возникает в результате радиоактивного загрязнения
- Фолликулярная тиреокарцинома ~ 10-20%
  - агрессивная форма рака
- Медуллярная карцинома ~ 5-10%
  - имеет С-клеточное (парафолликулярное) происхождение
  - составляют 20-30% всех случаев МРЩЖ
  - Наследственные формы, аутосомно-доминантный тип наследования
  - 3 клинических синдрома (МЭН-2А, МЭН-2Б, СМРЩЖ)
- Анапластическая тиреокарцинома ~ 5%

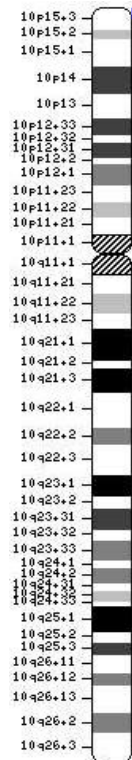
Классификация опухолей щитовидной железы  
и частота встречаемости генетических мутаций в опухолях человека [4; 5]

| Тип опухоли                                                                                                             | Мутации генов                                  | Частота, %                                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Папиллярная карцинома<br>(выделяют 12 гистопатологических вариантов, включая фолликулярный вариант)                     | BRAF (V600E)<br>RET/PTC<br>RAS<br>NTRK1        | 40–45<br>20–30<br>10–20<br>10                     |
| Фолликулярная карцинома<br>(различают две категории по степени инвазивности и два варианта по цитологическим критериям) | RAS<br>PAX8/PPAR<br>PIK3CA<br>PTEN             | 40–50<br>35<br>< 10<br>< 10                       |
| Семейная медуллярная карцинома                                                                                          | RET                                            | > 95                                              |
| Спорадическая медуллярная карцинома                                                                                     | RET                                            | 50                                                |
| Низкодифференцированная карцинома                                                                                       | RAS<br>TP53<br>BRAF<br>CTNNB1<br>AKT1<br>RET   | 35–55<br>20–38<br>12–20<br>20–25<br>15<br>13      |
| Недифференцированная (анapластическая) карцинома                                                                        | T53<br>CTNNB1<br>RAS<br>BRAF<br>PIK3CA<br>PTEN | 70–88<br>60–66<br>50–52<br>20–29<br>16–20<br>> 14 |
| Фолликулярная аденома                                                                                                   | RAS<br>PAX8/PPAR                               | 20–40<br>2–10                                     |

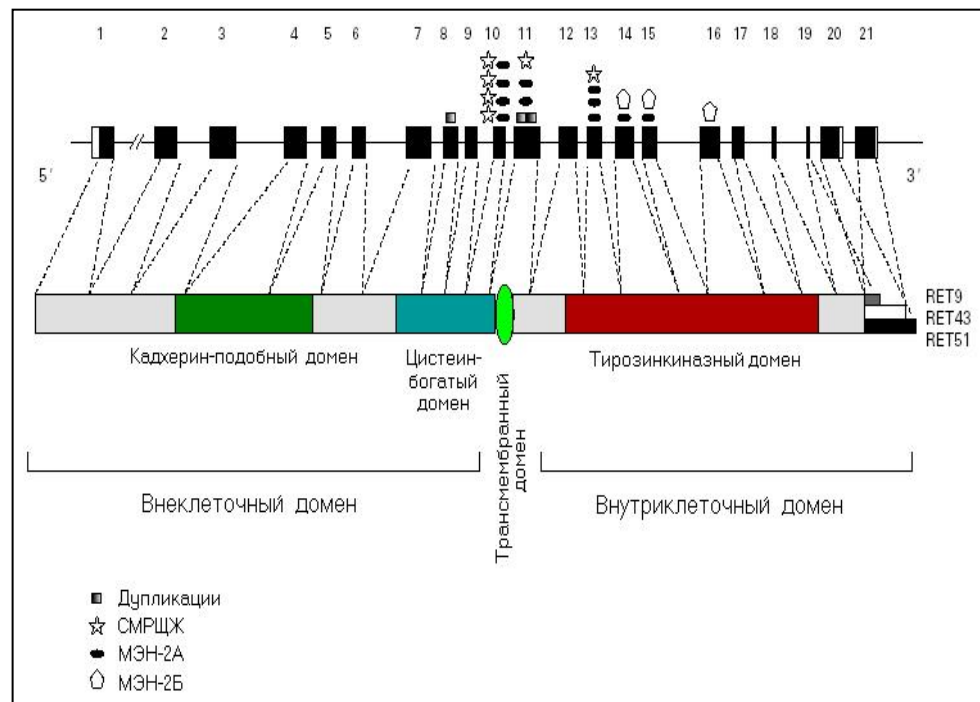
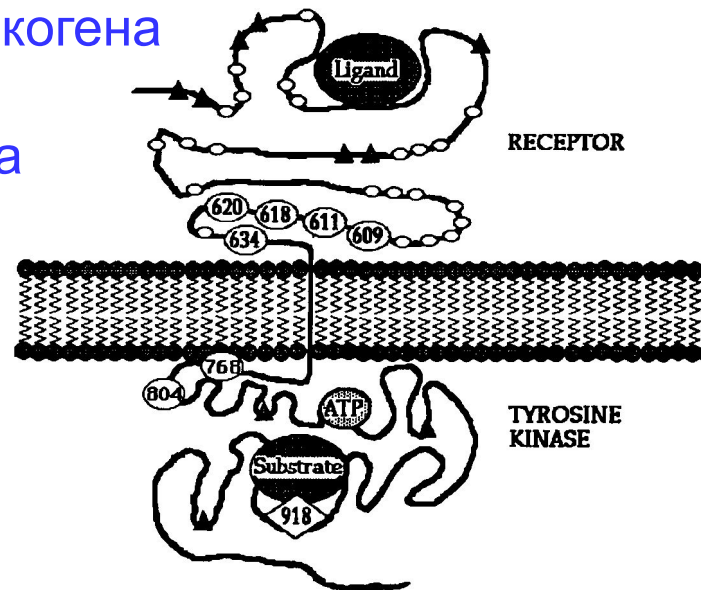
# Схема строения протоонкогена

*RET*,

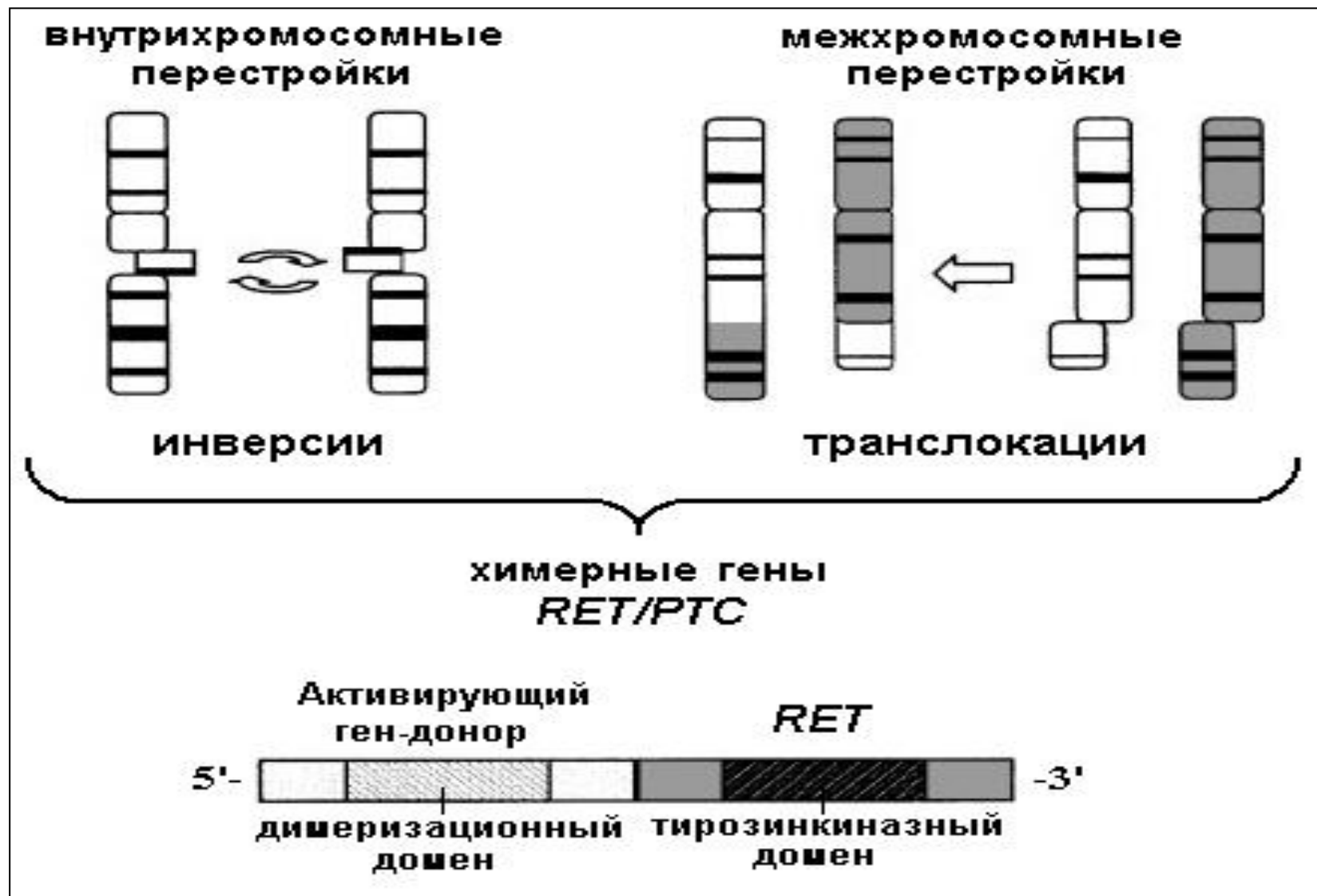
доменная структура  
кодируемого  
белка RET



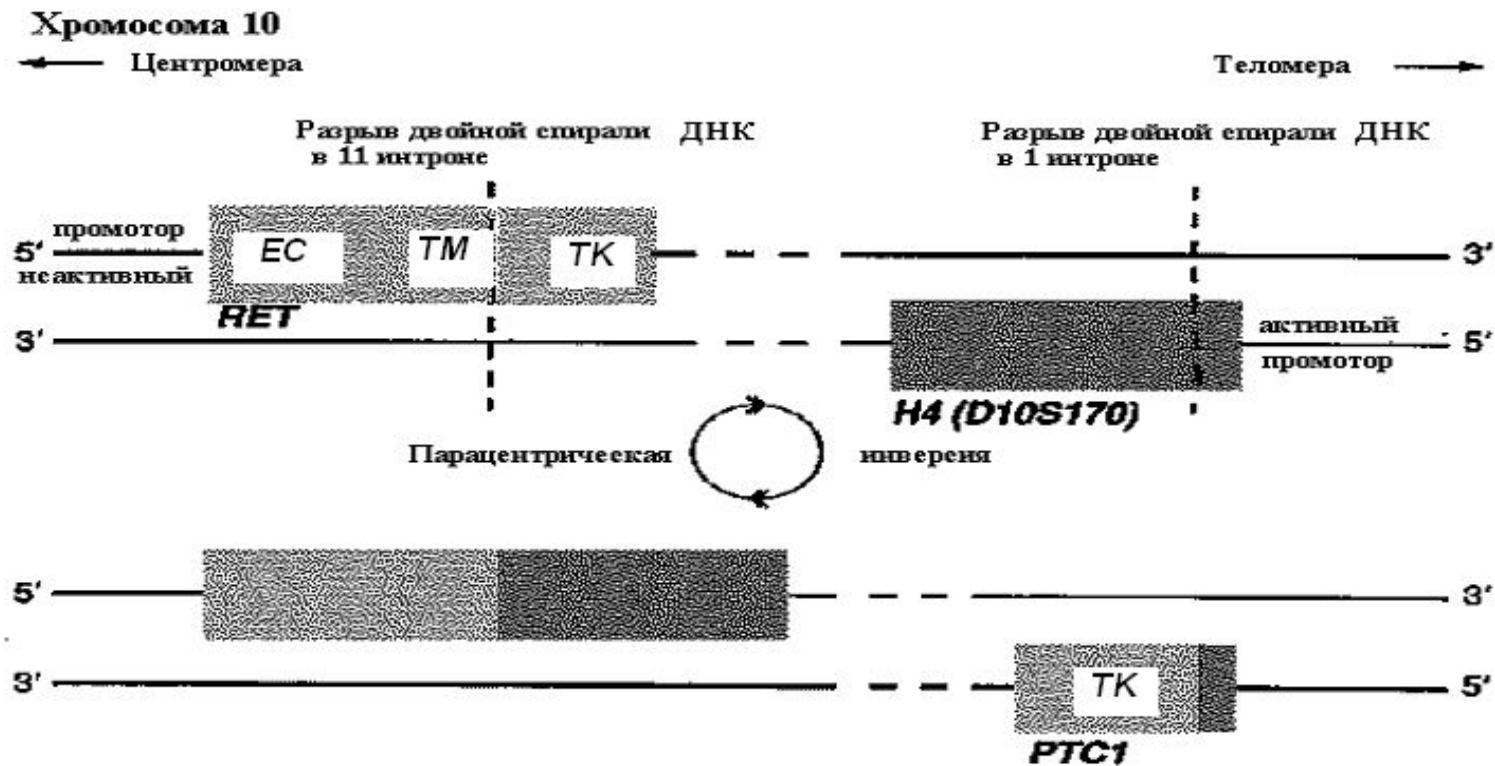
***RET***  
**10q1**  
**1.2**



# Механизмы образования химерных генов, определяемых в папиллярном раке щитовидной железы



# RET/PTC1



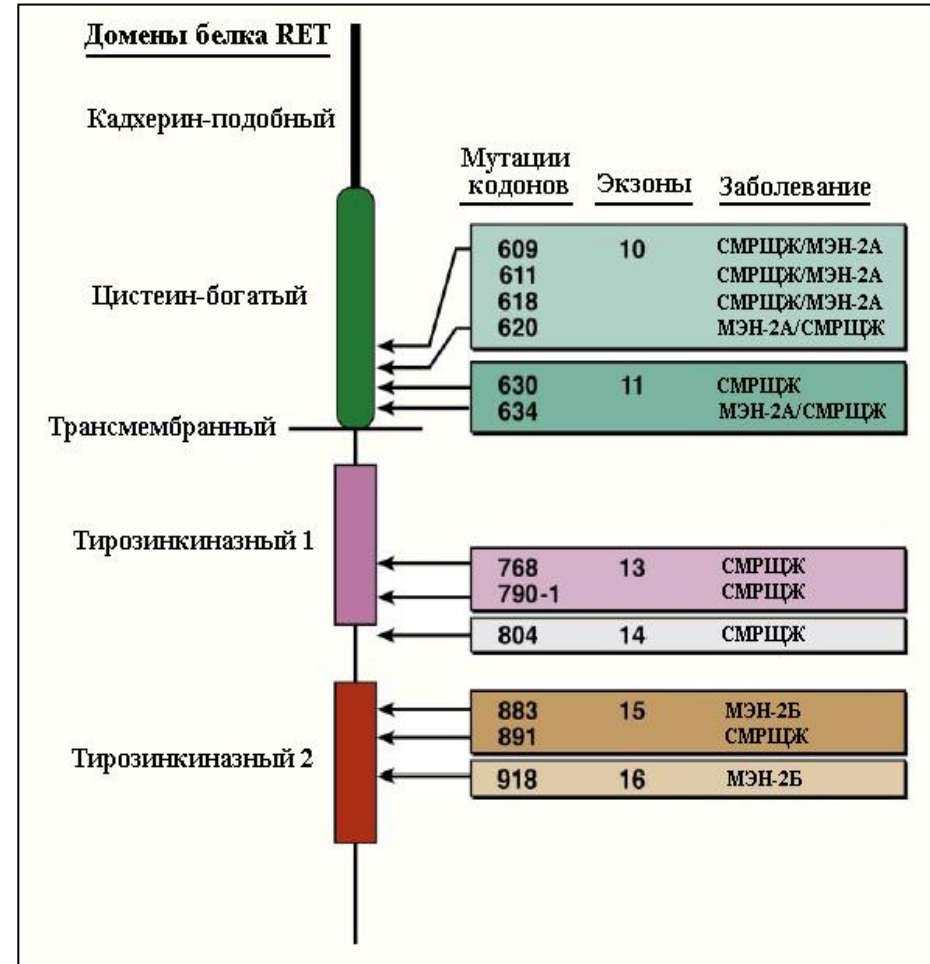
В результате парацентрической инверсии длинного плеча хромосомы 10, происходит слияние тирозинкиназного домена RET с 5'-последовательностью гена H4. Продуктом слияния является химерный трансформированный ген RET/PTC1. Экстрацеллюлярный домен (EC); трансмембранный домен (TM); тирозинкиназный домен (TK).

# Наследственные формы медуллярного рака щитовидной железы

- составляют 20-30% всех случаев медуллярного рака щитовидной железы,
- 5-10% всех злокачественных опухолей
- происходит из парафолликулярных (кальцитонинпродуцирующих) С-клеток
- - аутосомно-доминантный тип наследования

## 3 клинических синдрома

- **МЭН-2А** (синдром Сиппла)- МРЩЖ, феохромацитома (50%), гиперпаратиреоз (10-25%)
- **МЭН-2Б** (синдром Горлина) - МРЩЖ, феохромацитома, ганглионейроматоз, марфаноидные изменения скелета
- **СМРЩЖ**- изолированная тиреокарцинома



Точковые мутации в кодонах 609, 611, 618, 620, 634, 768, 804 в 10-14 экзонах гена *RET* характерны для синдрома **МЭН-2А**

Мутация в 918 кодоне 16 экзона гена *RET* является маркером синдрома **МЭН-2Б**

## МЭН-2А ( Синдром Сиппла)

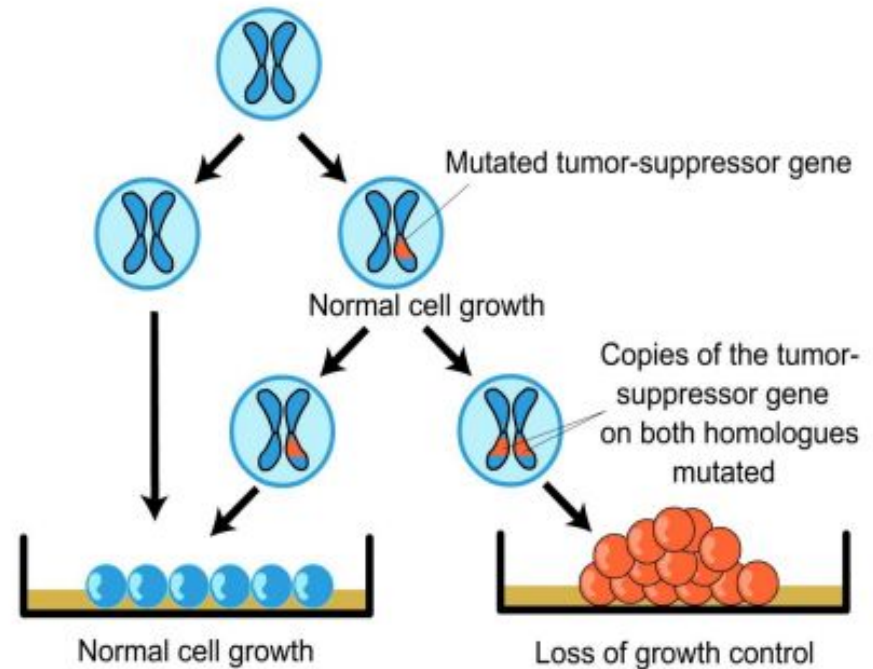
- Синдром характеризуется наличием медуллярной карциномы щитовидной железы, феохромоцитомы (единичной, билатеральной или множественной) и гиперпаратиреоза
- Клиническая картина: одним из первых проявлений синдрома МЭН-2А типа является медуллярная карцинома щитовидной железы, которая имеет длительный латентный доклинический период, характеризующийся С-клеточной гиперплазией с микроочагами медуллярного рака. Клинический период медуллярной карциномы при МЭН 2А типа варьирует у разных лиц от 3—5 до 10 лет.
- Медуллярная карцинома щитовидной железы — самая частая патология у больных с МЭН 2А типа. Соотношение лиц мужского и женского пола — 1:1. Возраст пациентов при установлении диагноза лежит в пределах 30—40 лет.
- Следующей по частоте патологией при МЭН-2А типа является феохромоцитома, ранним клиническим проявлением которой может быть умеренная транзиторная или постоянная гипертензия. Возраст больных, у которых диагностировали ранние стадии опухолей из хромаффинной ткани коры надпочечников при МЭН 2А типа, в 62% случаев был менее 40 лет.
- Ранние клинические признаки гиперпаратиреоза при синдроме МЭН-2А типа заключаются в жалобах больных на отсутствие аппетита, незначительное снижение массы тела, подташнивание, неприятные ощущения в мезогастрии.

# МЭН-2Б

- При синдроме МЭН - 2Б, наряду с медуллярной карциномой щитовидной железы и феохромоцитомой наблюдаются множественные ганглионейромы слизистой оболочки всего желудочно-кишечного тракта, начиная от губ и слизистой полости рта, заканчивая анусом.
- Для большинства больных характерен марфаноподобный внешний облик - удлиненные конечности и пальцы, чрезмерная подвижность суставов, тремы между зубами, деформация митрального клапана сердца

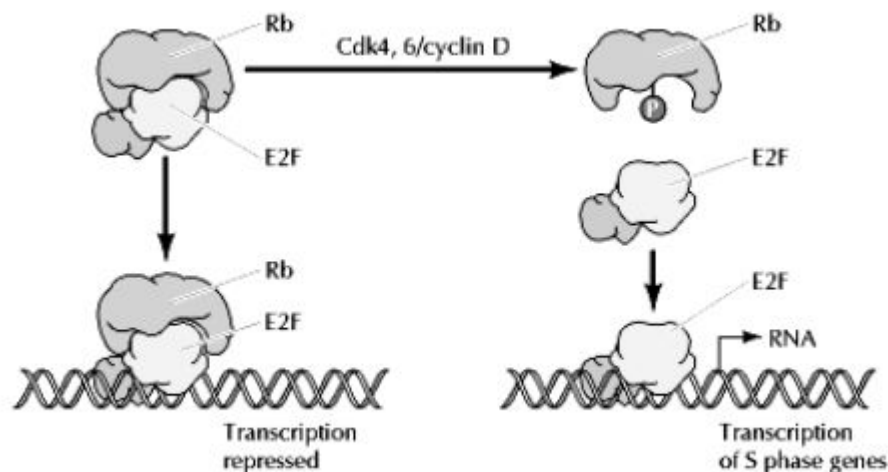
# Гены-супрессоры опухолевого роста

- в нормальной клетке действуют как замедляющие сигналы:
- ✓ в течении G1 фазы клеточного цикла;
- ✓ для остановки или замедления клеточного цикла перед S фазой;
- отсутствие этих генов приводит к возникновению рака, обычно для этого необходимо возникновение мутаций в обоих аллелях гена;
- одни из известных генов-супрессоров опухолевого роста: *p53*, *Rb*, *APC*

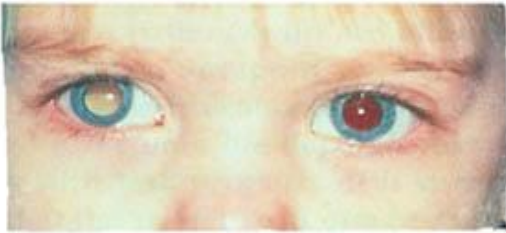


# Гены-супрессоры опухолевого роста: ген *RB1*

- ген ретинобластомы;
- располагается на 13 хромосоме;
- этот ген был найден первым в числе подавляющих опухоль;
- с гена считывается белок, негативный регулятор клеточного цикла;
- активная, гипофосфорилированная форма белка, связывает фактор транскрипции E2F1;
- влияя на активность транскрипционных факторов контролирует клеточное деление



# Ретинобластома

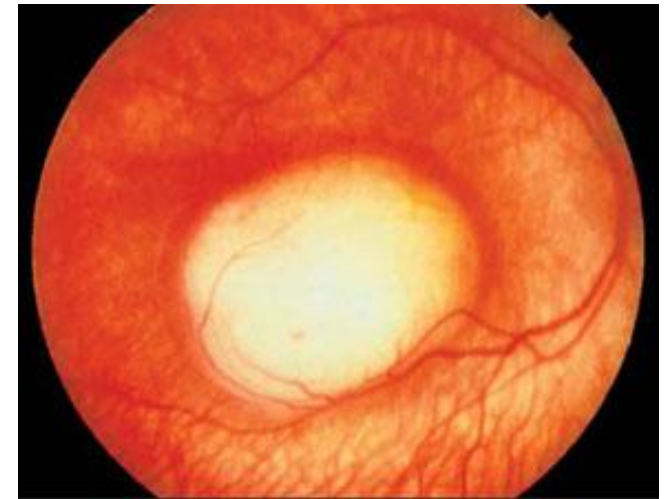


Лейкокория (белый цветовой рефлекс) в правом глазу.

злокачественная опухоль глаза, развивается преимущественно в детском возрасте из тканей эмбрионального происхождения. Пик заболевания приходится на 2 года. Почти все случаи заболевания выявляются до 5-летнего возраста. Распространенность ретинобластомы небольшая – примерно 1 случай на 20 000 новорожденных.

односторонняя  
двусторонняя

спорадическая форма  
семейная форма



Глазное дно при экзофитно растущей опухоли.

# Формы ретинобластомы

## Наследственная форма РБ:

(10%)— мультифокальная опухоль;  
(2/3 случаев билатеральная), ранняя манифестация (до 1 года)

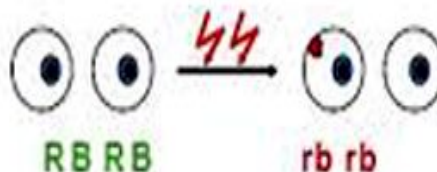
## Спорадическая форма РБ:

(около 60% случаев) — односторонняя опухоль, манифестация после 2 лет;

30% случаев впервые в семье, билатеральная опухоль

Спорадическая  
(ненаследственная) РБ

первая и вторая  
соматическая мутации



Наследственная ретинобластома

первая мутация

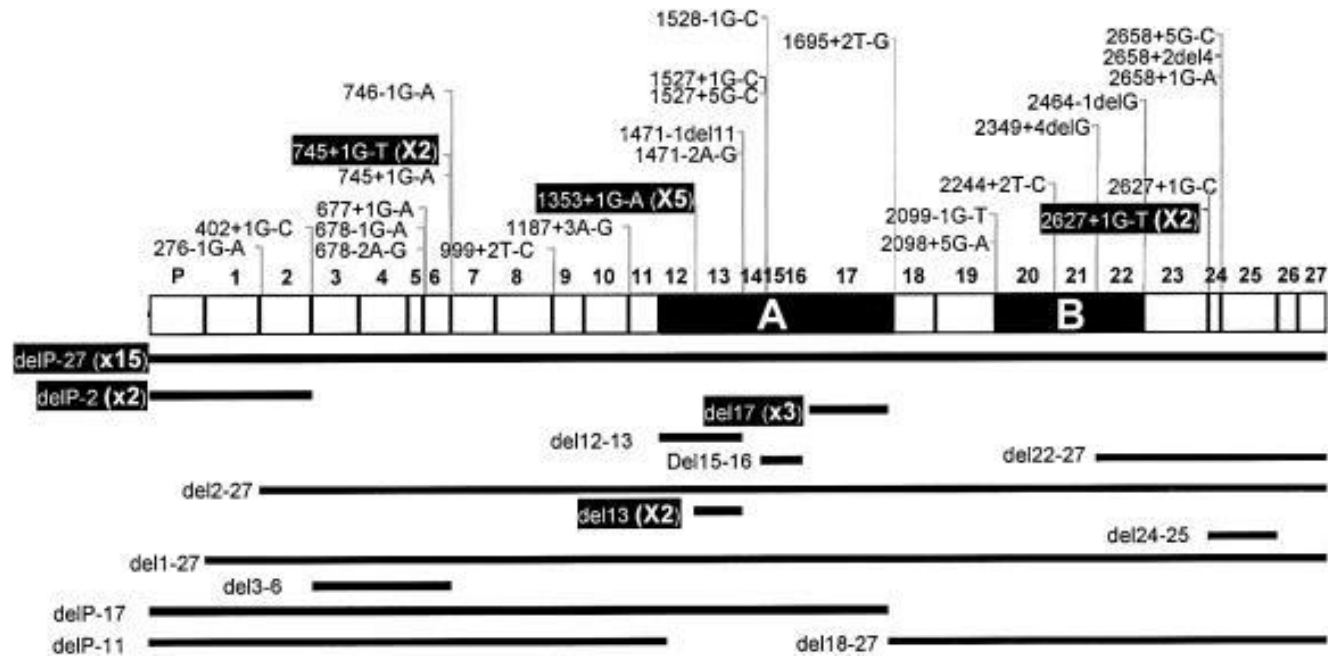
вторая мутация



герминальная

соматическая

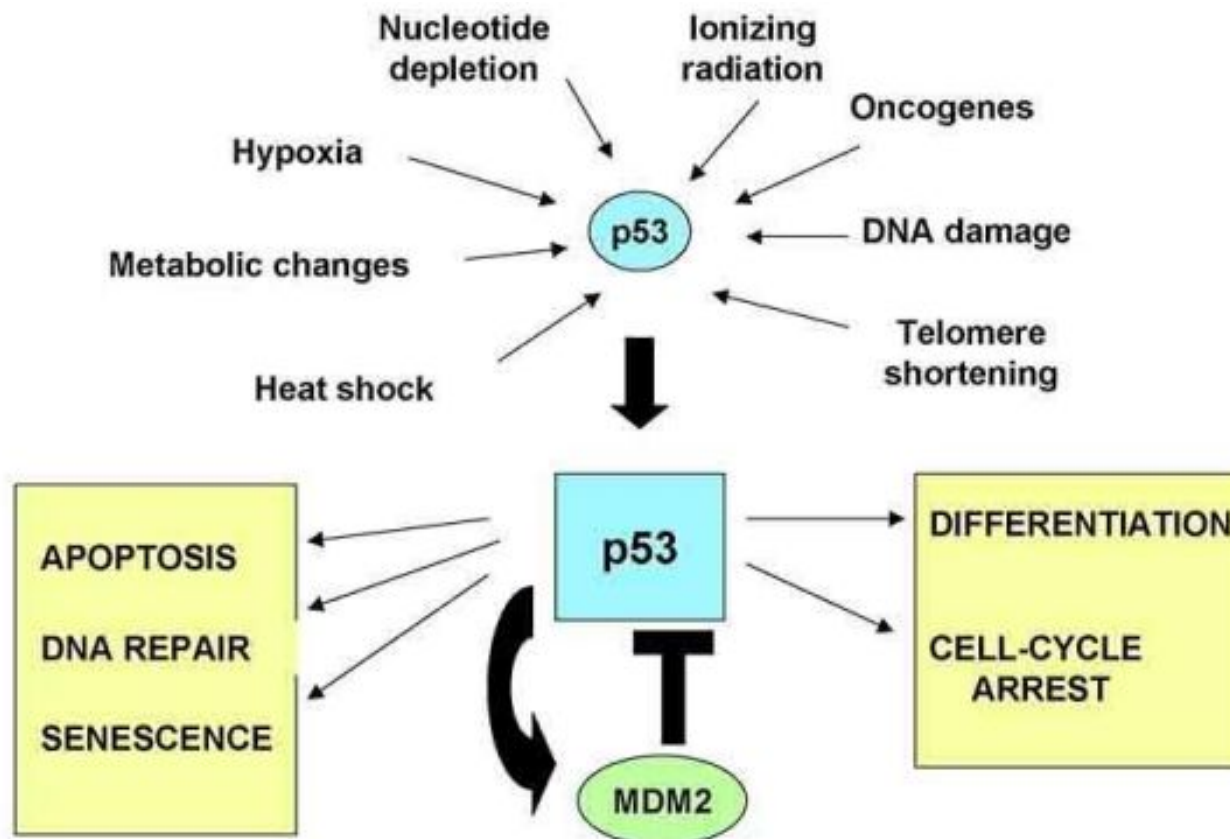
# Структура гена *RB1* и варианты его делеций.



Ген *RB1* расположен в проксимальном отделе длинного плеча хромосомы 13q14.1, и, занимает 180 т.п.н. геномной ДНК. Он включает промоторную область около 1,5 т.п.н. и состоит из 27 экзонов. Разброс размеров интронов от 80 п.н. (15 интрон) до 70,5 т.п.н. (17 интрон). Экзоны содержат от 31 нуклеотида (24 экзон) до 1889 оснований (27 экзон, содержащий стоп-кодон и сигнал к полиаденилированию). Ген кодирует мРНК длиной 4,7 тысяч нуклеотидов экспрессирующуюся в норме во всех клетках организма.

# Гены-супрессоры опухолевого роста: ген *p53*

- является транскрипционным фактором, регулирующим клеточное деление и смерть

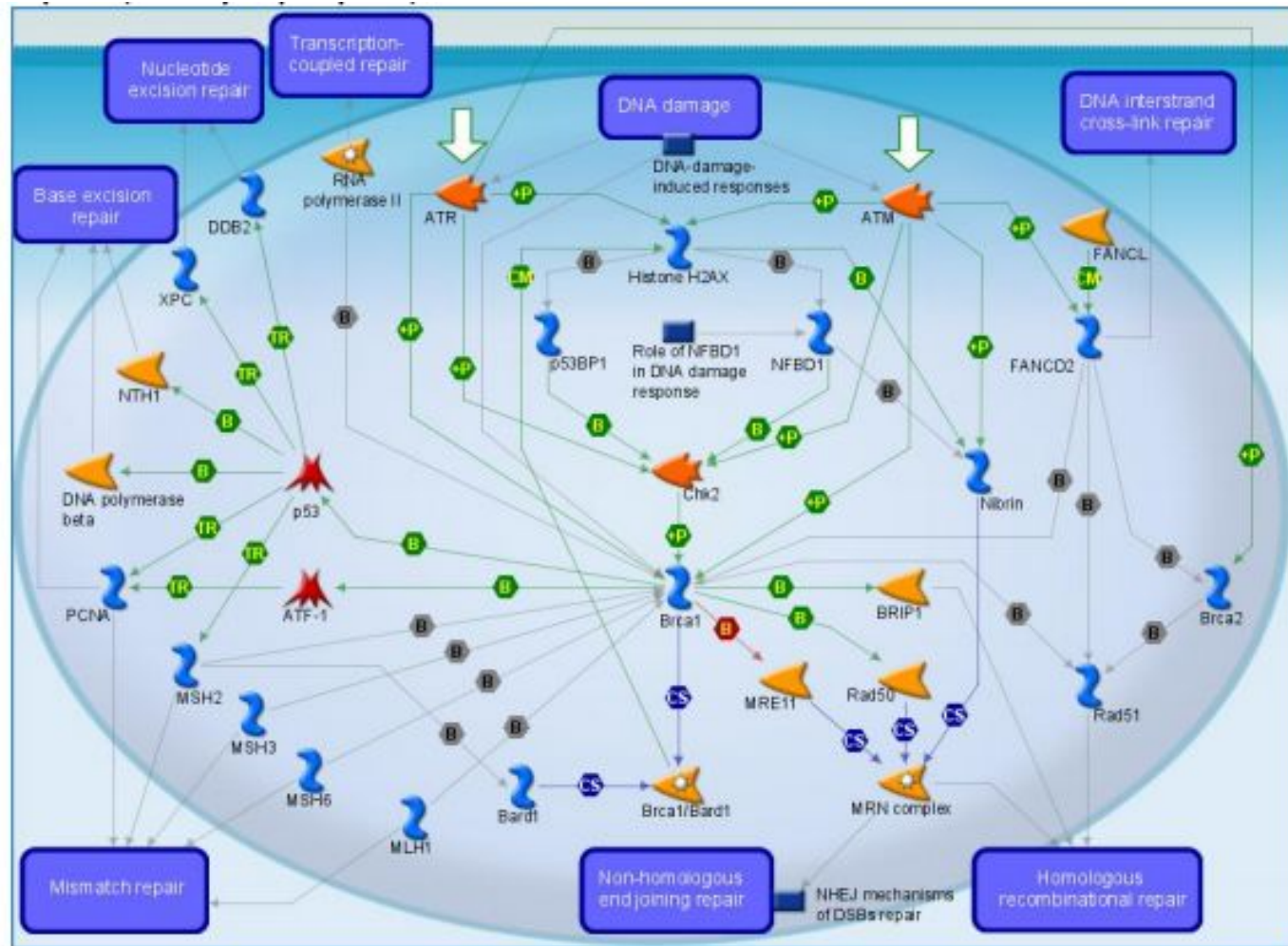


# Гены репарации ДНК

- эти гены обеспечивают аккуратное копирование каждой цепи ДНК во время деления клетки;
- мутации в генах репарации ДНК приводят к увеличению частоты мутаций в других генах, таких как протоонкогены и гены-супрессоры опухолевого роста;
- вовлечены в репарацию ДНК:
  - ✓ гены, участвующие в развитии рака груди (*BRCA1* и *BRCA2*);
  - ✓ гены, участвующие в развитии наследуемого неполипозного рака кишечника (*MSH2*, *MLH1*, *PMS1*, *PMS2*);
- мутации в этих генах вызывают опухолеобразование

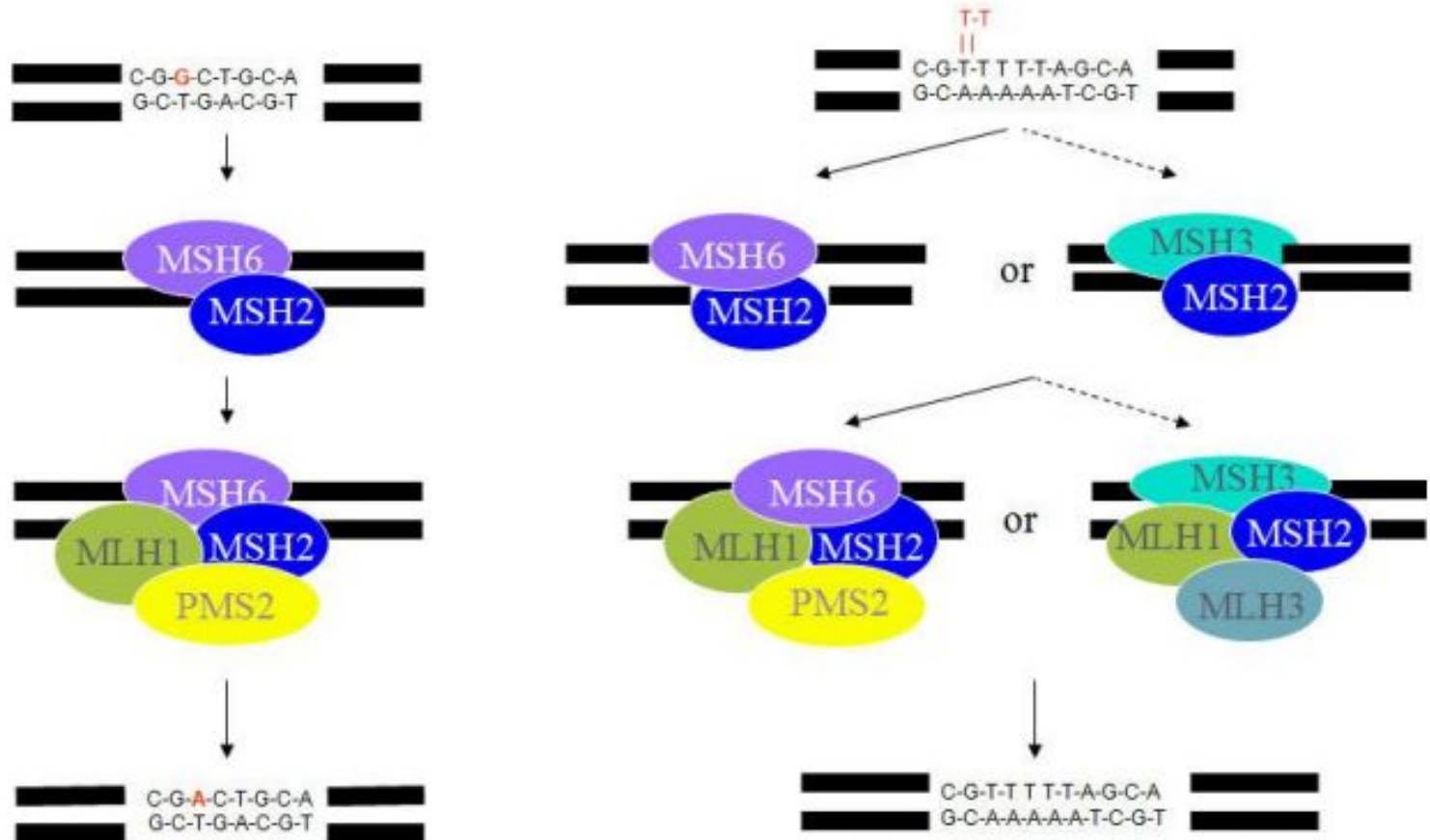
# Гены репарации ДНК: ген *BRCA1*

*BRCA1* является важным компонентом клеточных путей, регулирующих ДНК-репарацию, прохождение клеточного цикла, убитиквилирование, и транскрипционную регуляцию.

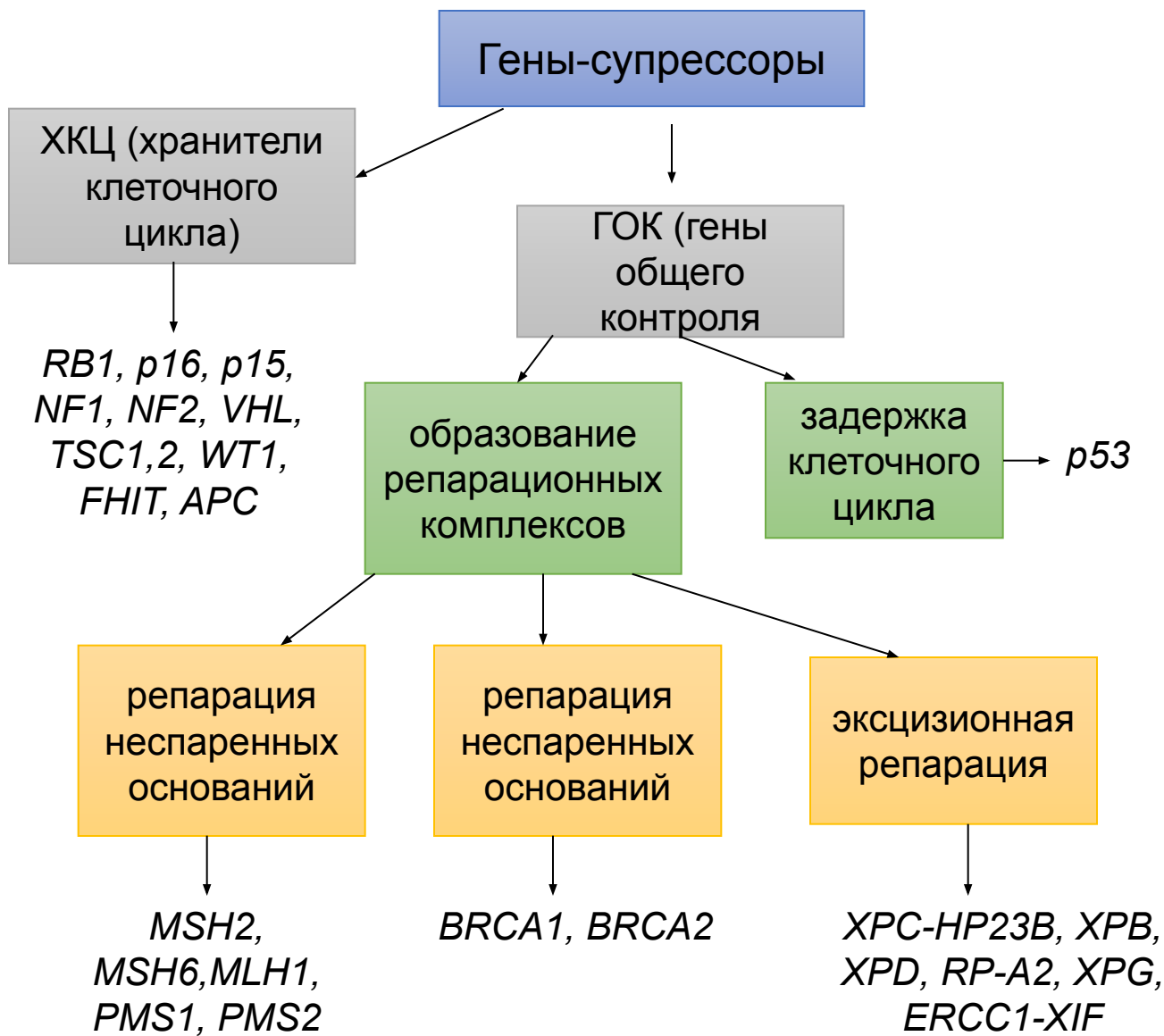


# Гены репарации ДНК: ген *MSH2*

*MSH2* является геном-супрессором опухолевого роста, который участвует в mismatch репарации в форме гетеродимера с *MSH6* белком



# Гены-супрессоры опухолевого роста

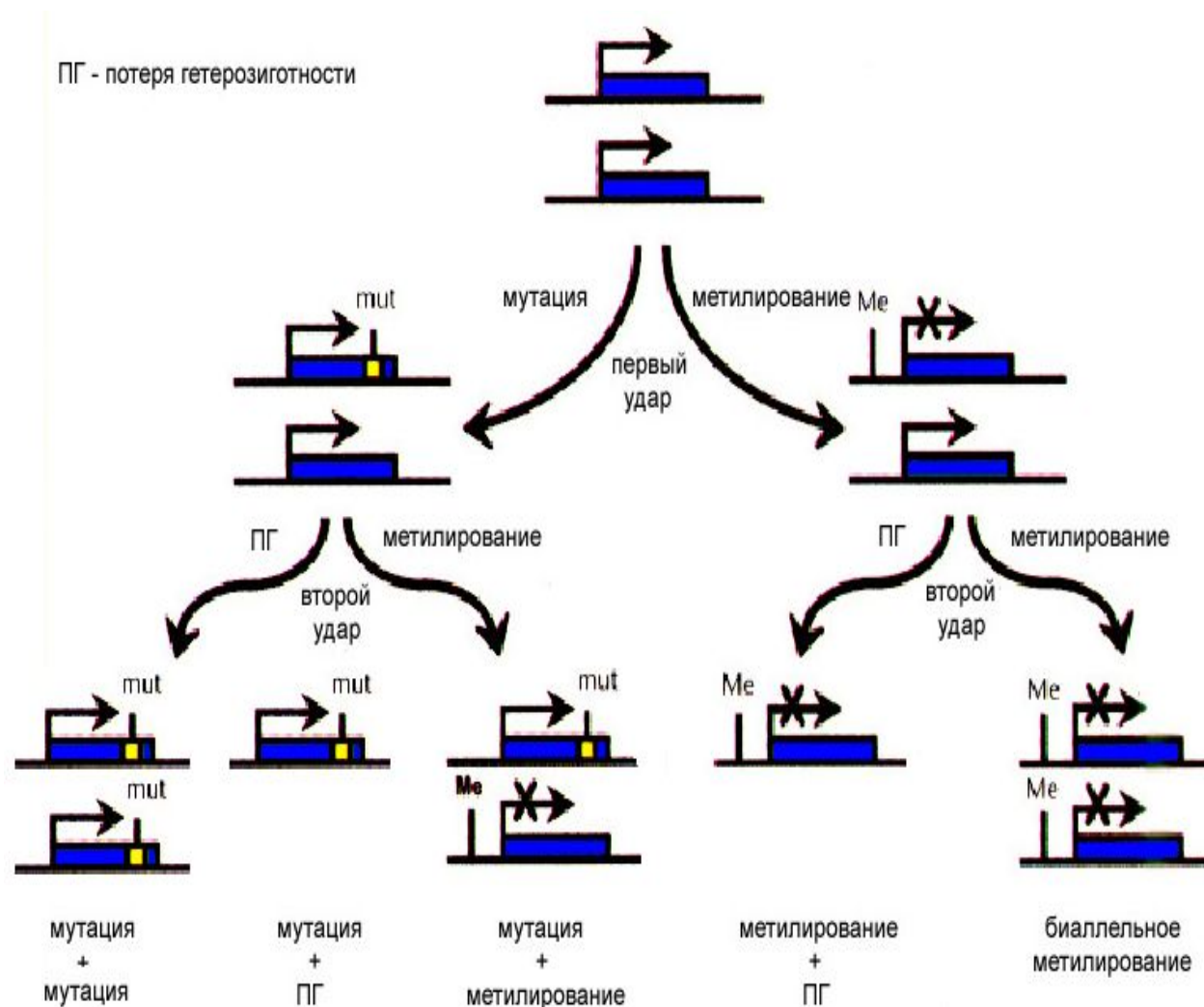


# Гены-супрессоры опухолевого роста

| Ген                                 | Функция продукта                                    | Тип опухоли или синдром при мутации                                                                   |                                                                                            |
|-------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                     |                                                     | Соматическая                                                                                          | Зародышевая                                                                                |
| <i>RB51</i>                         | Регулятор транскрипции                              | Остеосаркома, ретинобластома, мелкоклеточный рак легких, простаты, мочевого пузыря, молочной железы   | Семейная ретинобластома                                                                    |
| <i>APC</i>                          | Регуляция функции $\beta$ -катенина                 | Рак кишечника                                                                                         | Семейный полипоз кишечника, синдром Гарднера, синдром Туркота, семейная десмоидная болезнь |
| <i>CDKN2A</i>                       | Ингибитор киназы p16-INK4a                          | Более 20% опухолей эмбрионального происхождения                                                       | Семейная меланома, семейная карцинома поджелудочной железы                                 |
| <i>NF1</i>                          | Регуляция АТФазы RAS                                | Меланома, нейробластома                                                                               | Нейрофиброматоз I типа                                                                     |
| <i>NF2</i>                          | Связь с цитоскелетом                                | Шваннома, менигиома, эпендимома                                                                       | Нейрофиброматоз II типа                                                                    |
| <i>TP53</i>                         | Транскрипционный фактор                             | Около 50% злокачественных опухолей                                                                    | Синдром Ли-Фраумени                                                                        |
| <i>WT-1</i>                         | Транскрипционный фактор                             | Опухоль Вильмса                                                                                       | Опухоль Вильмса, аниридия, аномалии мочеполовой сферы                                      |
| <i>VHL</i>                          | Регуляция стабильности белков                       | Гемангиобластома почки                                                                                | Болезнь фон Гиппеля-Линдау                                                                 |
| <i>MSH2, MSH6, MLH1, PMS1, PMS2</i> | Репарация поврежденного ДНК                         | Опухоли кишечника, эндометрия, желудка                                                                | Наследственный неполипозный рак кишечника                                                  |
| <i>BRCA1</i>                        | Репарация поврежденного ДНК, регуляции транскрипции | Рак яичника                                                                                           | Наследственный рак яичника и молочной железы                                               |
| <i>BRCA2</i>                        | Репарация поврежденного ДНК                         | Неизвестно                                                                                            | Неизвестно                                                                                 |
| <i>PTEN</i>                         | Фосфатаза липидов                                   | Глиома, рак молочной железы, предстательной железы, головы и шеи, фолликулярный рак щитовидной железы | Болезнь Коудена                                                                            |
| <i>MEN1</i>                         | Метилирование генов                                 | Аденомы паразитовидной железы и гипофиза, эндокринные опухоли поджелудочной железы                    | Множественные эндокринные неоплазии                                                        |
| <i>STK11</i>                        | LKB1-киназа (регуляция роста и полярности клеток)   | Карцинома легкого, чешуйчатоклеточная карцинома                                                       | Синдром Пейтца-Егерса                                                                      |

Наиболее изученные гены-супрессоры, мутация которых ассоциирована с канцерогенезом

# Современная двухударная модель канцерогенеза

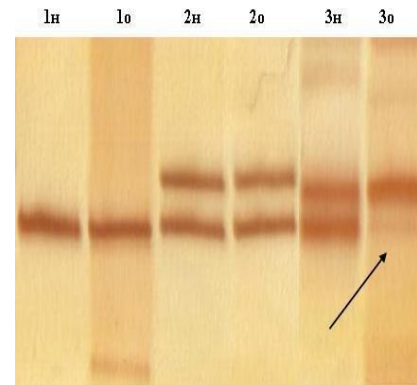
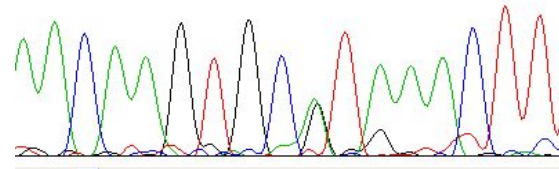


# Пути инактивации генов-супрессоров

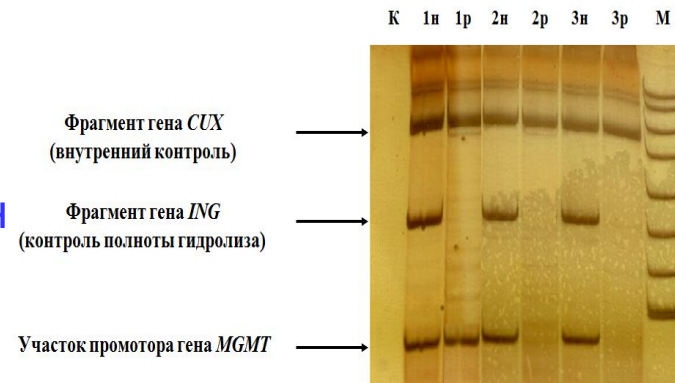
- Инактивирующие мутации: гетерозиготы по мутантным аллелям генов-супрессоров – повышенная предрасположенность к опухолям;
- Потеря гетерозиготности в опухолевых тканях - делеции районов локализации генов-супрессоров;
- Метилирование регуляторных районов, приводящее к отсутствию экспрессии

A A C A A G T G C T T A A A C T T

IVS9+5G→A интрон 9 *WT1*



Результаты анализа ПГ по внутригенному микросателлитному маркеру MGMT-AC-1i гена *MGMT*.



Фрагмент гена *CUX*  
(внутренний контроль)

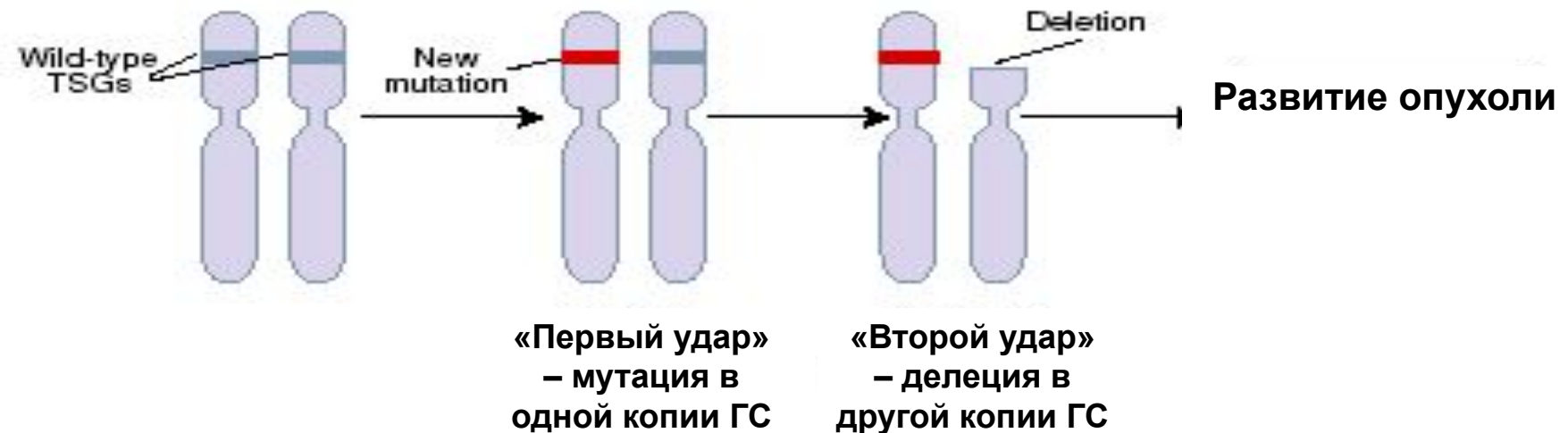
Фрагмент гена *ING*  
(контроль полноты гидролиза)

Участок промотора гена *MGMT*

Результаты анализа метилирования промоторной области гена *MGMT* методом МЧ-ПЦР

# Потеря гетерозиготности

Мутации ГС в соматических клетках приводят к спорадическим ракам



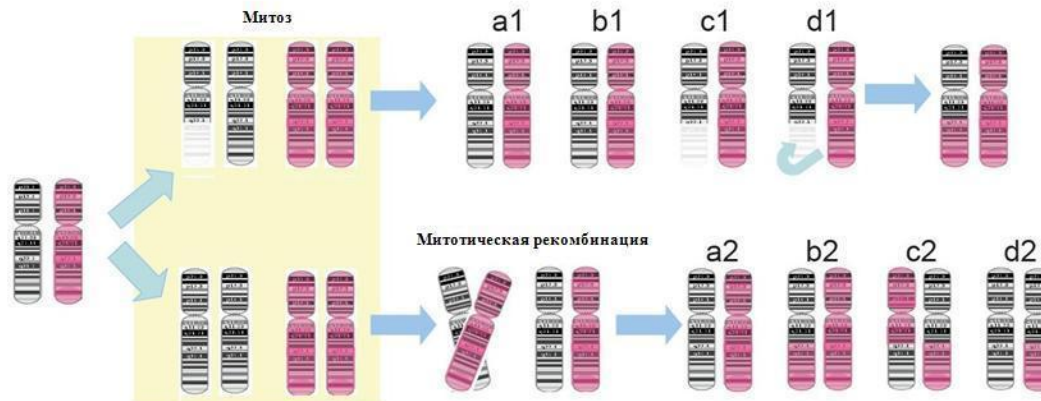
Герминальные мутации ГС в приводят к семейным ракам



Knudson's two-hit hypothesis for tumourigenesis involving a tumour suppressor gene (TSG)

# Потеря гетерозиготности

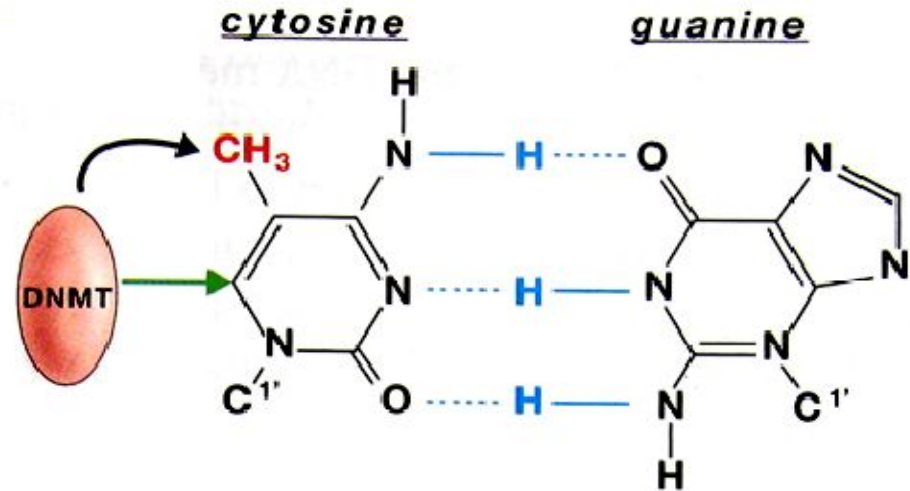
- ПГ связывали исключительно с утратой одной из копий участка хромосомы (делеция);
- при некоторых типах рака (миелоидный лейкоз, миеломоноцитарный лейкоз, колоректальный рак, рак легкого) выявляются случаи, так называемой, **копий-нейтральной ПГ**, или **однородительской дисомии (ОРД)**;
- при ОРД происходит утрата одной копии участка хромосомы и восстановление ее нормальной копийности за счет дупликации участка оставшейся хромосомы.
- считается, что, как правило, делятируется нормальный аллель, а измененный аллель удваивается, что приводит к инактивации генов-супрессоров, расположенных в таких участках;
- Механизм:
  - ✓ митотическая гомологичная рекомбинация
  - ✓ устранение потери хромосомного материала на матрице оставшегося в процессе митоза



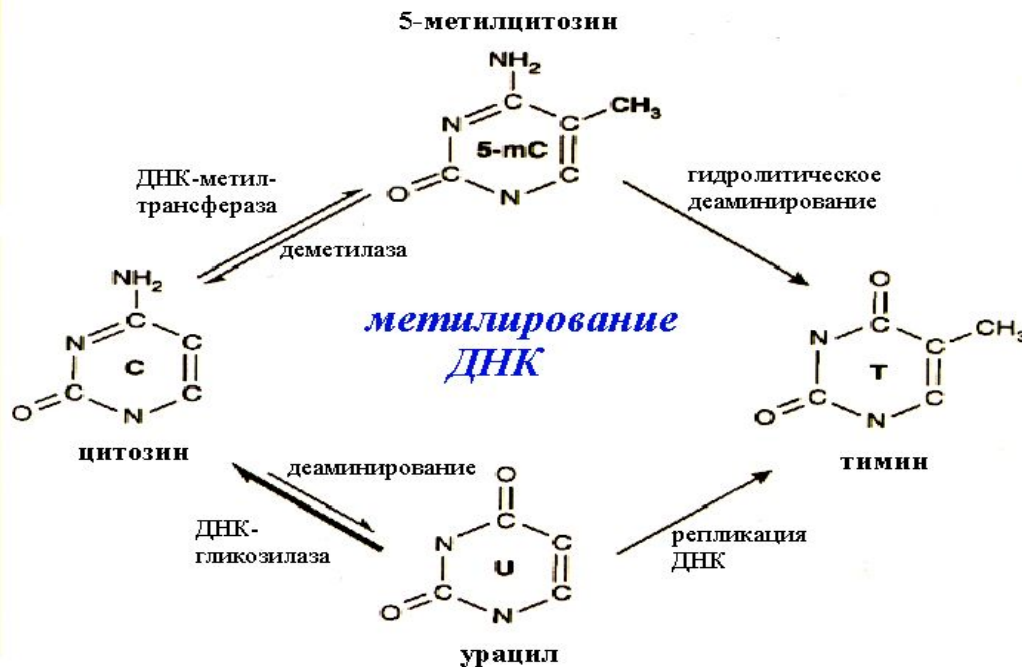
# Метилирование у млекопитающих

1. Поддержание структуры хроматина и стабильности хромосом
2. Инактивация повторов и интегрированной чужеродной ДНК
3. Формирование тканеспецифичного паттерна экспрессии генов
4. Тканеспецифичное подавление генной экспрессии

a



b



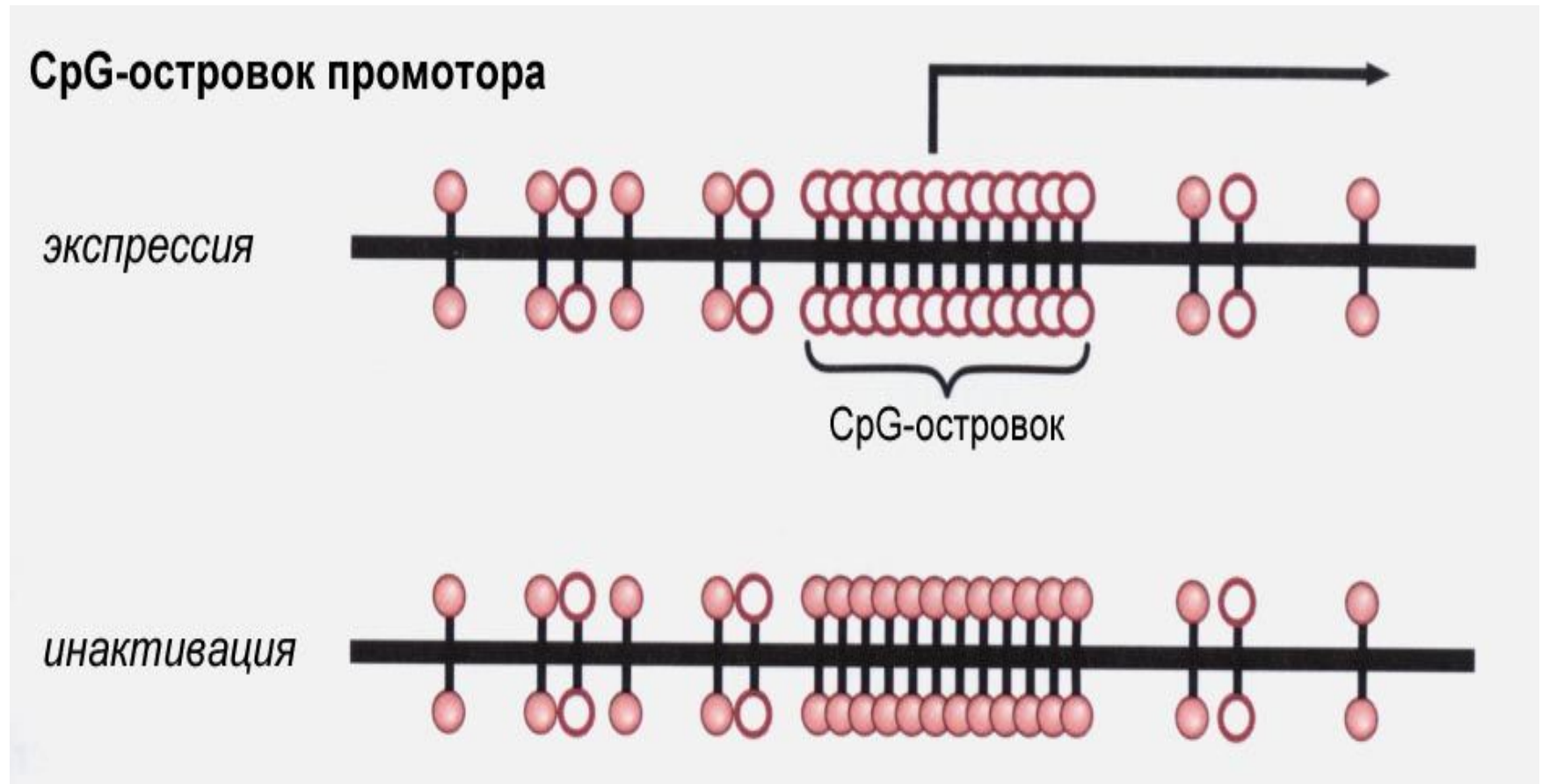
**Гиперметилованы:**

- сателлиты и рассеянные повторы
- провирусные копии и транспозоны
- транскрипционно неактивные гены

**Гипометилованы:**

- транскрипционно активные гены

Аномальное метилирование промоторных областей генов-супрессоров опухолевого роста приводит к их инактивации.



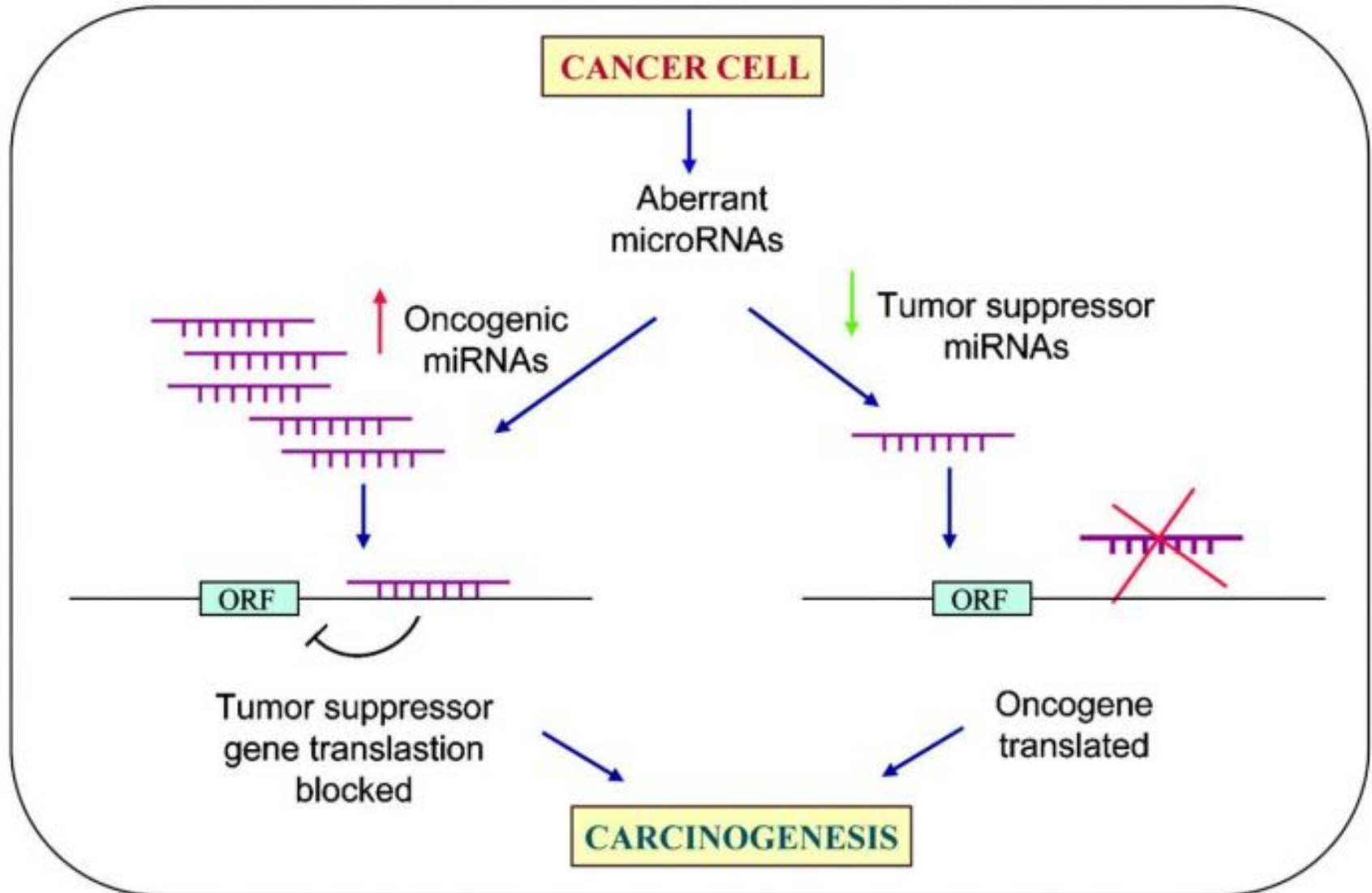
# Механизмы инактивации гена в результате метилирования промоторной области

1. Метильные группы нарушают ДНК-белковые взаимодействия, выступая в большую бороздку ДНК и препятствуя связыванию специфических транскрипционных факторов.
2. Метилированные районы ДНК специфически связывают транскрипционные репрессоры.
3. Метилирование ДНК влияет на структуру хроматина.

## Молекулярные маркеры, определяемые на ранних стадиях канцерогенеза.

| Злокачественная опухоль      | Молекулярные маркеры                                          |
|------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Рак простаты                 | Метилирование GSTP1                                           |
| Колоректальный рак           | Метилирование p16, MLH1, APC, микросателлитная нестабильность |
| Рак желудка                  | Метилирование p16, MLH1                                       |
| Рак пищевода                 | Метилирование p16, APC, наличие HPV 16, 18                    |
| Рак мочевого пузыря          | Метилирование p16, DAPK1, RAR- $\beta$                        |
| Рак печени                   | Метилирование p16, p15                                        |
| Рак поджелудочной железы     | Метилирование p16                                             |
| Немелкоклеточный рак легкого | Метилирование p16, MGMT, DAPK1, мутации KRAS                  |
| Рак шейки матки              | Метилирование p16, HIC1, наличие HPV 16, 18                   |
| Рак молочной железы          | Метилирование p16, CCND2, TWIST, RAR- $\beta$                 |

# miРНК – онкогены и гены-супрессоры опухолевого роста



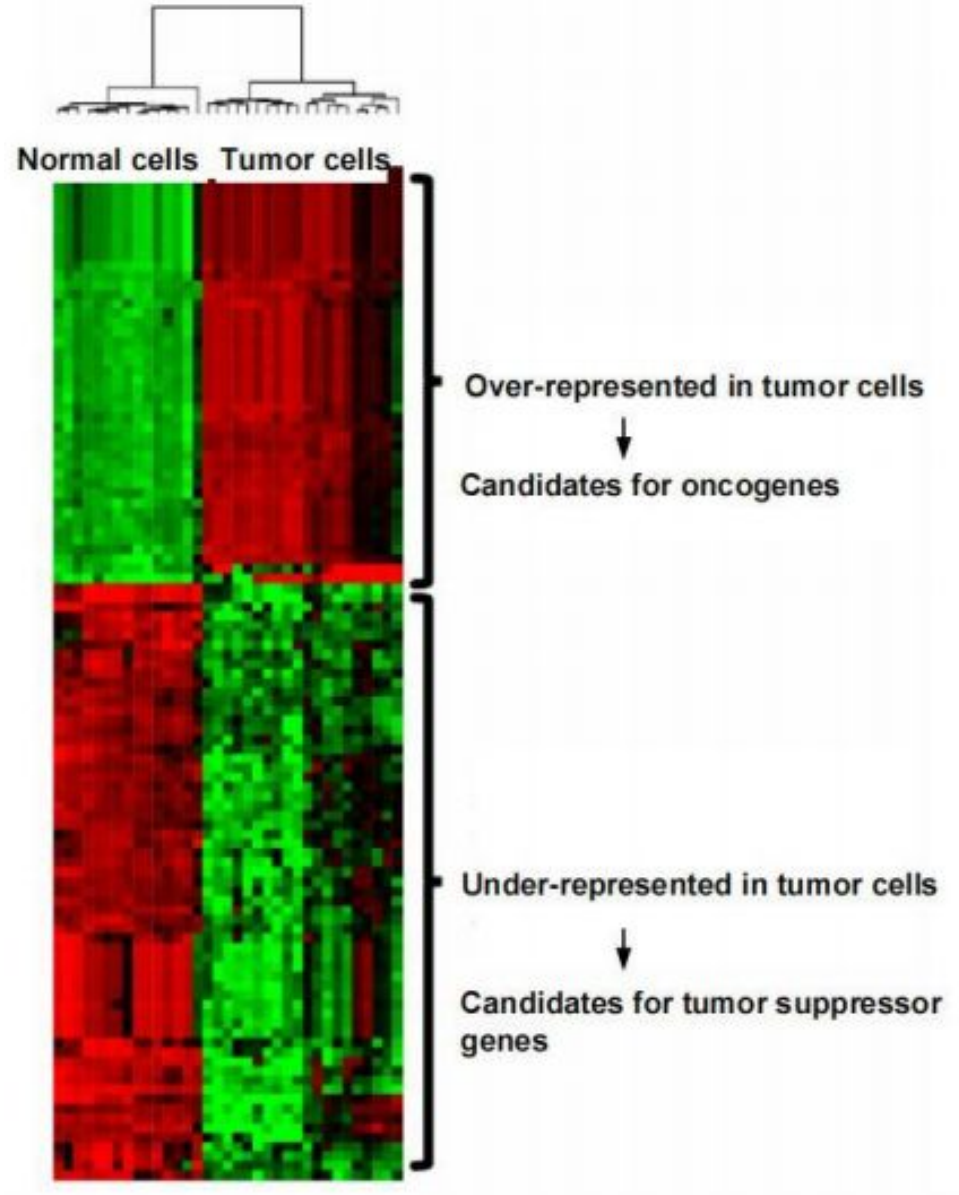
# Канцерогенез

- (в переводе с лат. cancerogenesis; cancro — рак, и с греч. genesis, зарождение, развитие) — сложный патофизиологический процесс зарождения и развития опухоли;
- для возникновения опухоли в клетке должны произойти две последовательные мутации.
- по современным представлениям, от трёх до шести дополнительных генетических повреждений (в зависимости от природы исходной или предрасполагающей мутации, которая может предопределить путь развития заболевания) требуются для того, чтобы завершить процесс образования опухоли
- **Злокачественная трансформация** - это сложный, многоэтапный процесс, включающий случайную активацию онкогенов и (или) сайленсинг генов-супрессоров опухоли и осуществляемый посредством генетических или эпигенетических событий. Все это называют "двухударной теорией Кнудсона"



# Раковые клетки

- Мутации в генах, участвующих в канцерогенезе;
- Изменение экспрессии генов;
- Изменение эпигенетического профиля генома

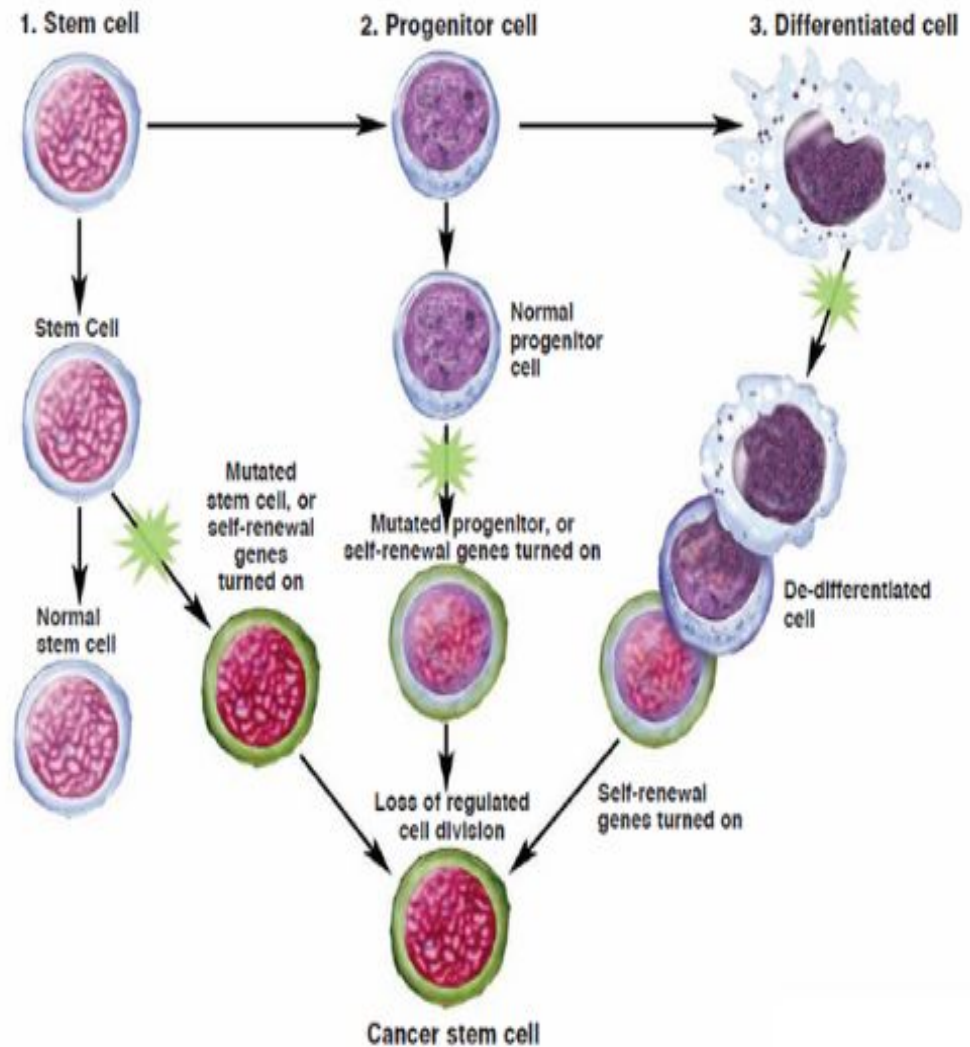


# Стволовые клетки рака (СКР)

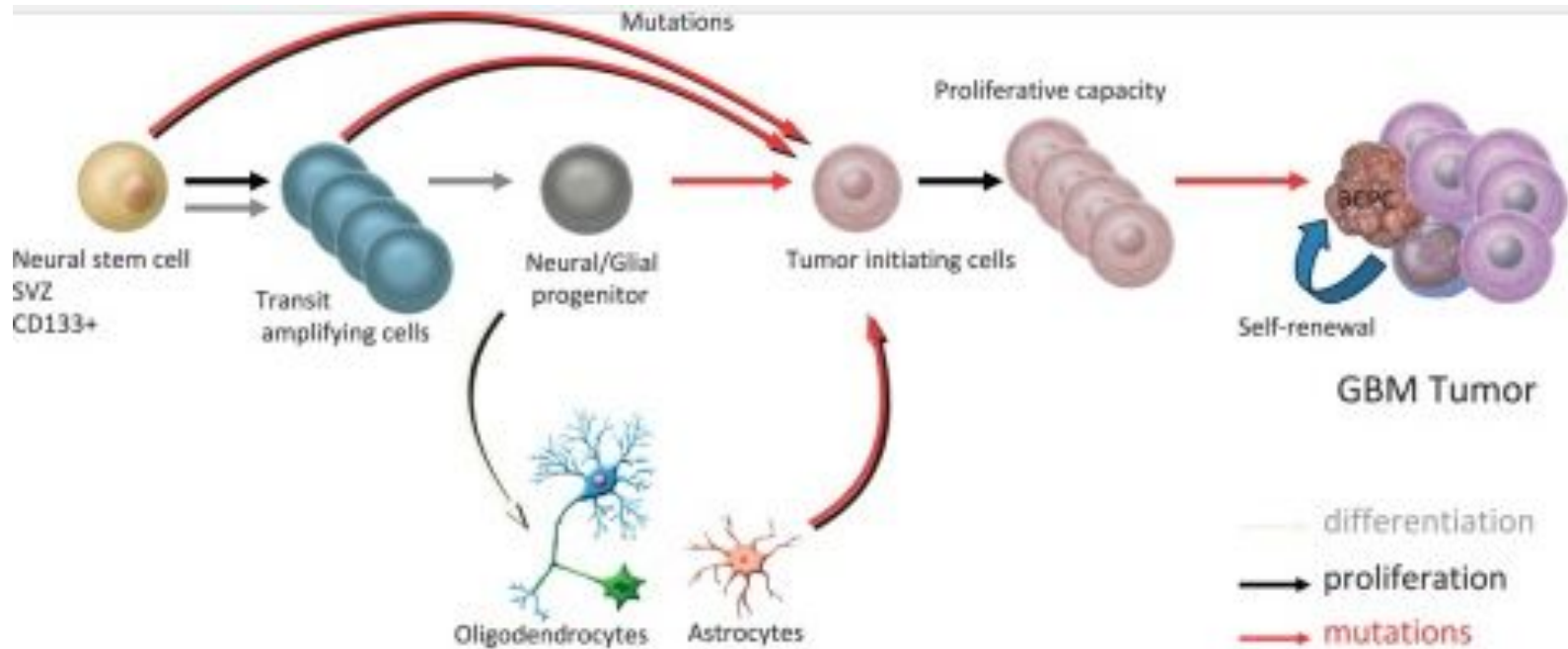
- Джон Дик (Dick J. E., 1997) и его группа из университета Торонто провели опыты на мышах. Они инфицировали мышей кровью больных лейкозом. Однако раком заболели лишь несколько животных, т.е. не все лейкозные клетки способны быть причиной болезни в новом организме
- **Вывод:** при лейкозе в организме имеется множество клеток, но лишь некоторые из них являются раковыми стволовыми клетками
- СКР – редкие клетки, способные к неограниченному самоподдержанию

# Происхождение СКР

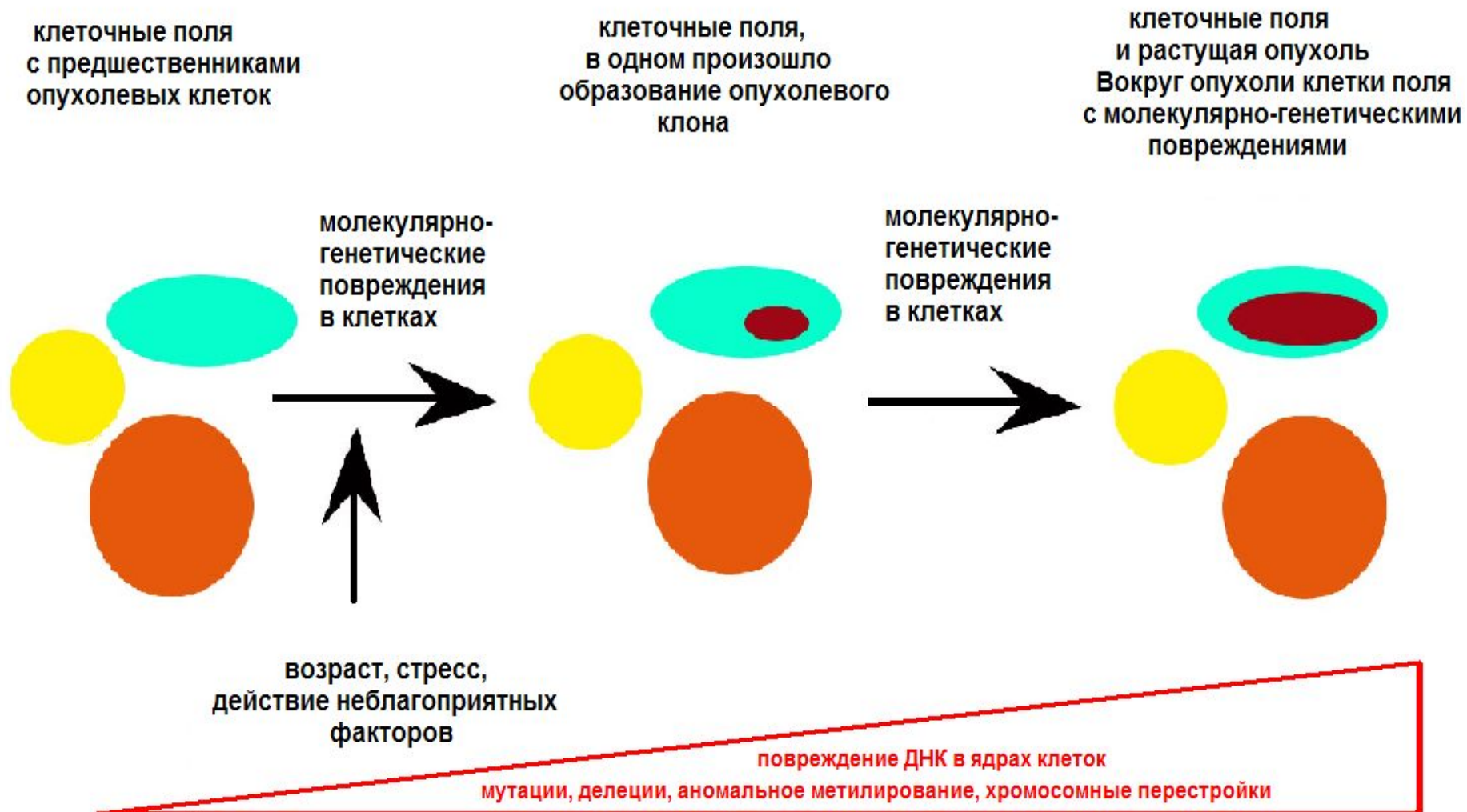
1. СКР возникают из стволовых клеток
2. СКР возникают из клеток-предшественников
3. СКР возникают из зрелых дифференцированных клеток



# Происхождение глиобластомы



# Теория «полей канцеризации»





**Спорадический рак** — рак, возникающий случайно. У людей со спорадическим раком обычно нет родственников, страдающих от рака того же типа.

**Семейный рак** — это рак, по всей вероятности, вызванный сочетанием генетических факторов риска и условий внешней среды. У людей с семейным раком может быть один или несколько родственников с раком того же типа, однако какая-то специфическая схема наследования не отмечается (т.е. рак не обязательно передается от родителей к детям).

**Наследственный рак** возникает, когда измененный ген (генная абберация) передается в семье от родителя к ребенку. У людей с наследственным раком, вероятнее всего, имеются родственники, страдающие от того же или сходного типа рака. У них может развиваться несколько разновидностей рака, причем раковые заболевания зачастую проявляются в возрасте моложе среднего.

**Наследственные опухолевые синдромы** – группа заболеваний, проявление которых заключается в передаче из поколения в поколение предрасположенности к тому или иному виду рака, с высоким риском развития опухоли в течение жизни

### **Клинические признаки наследственной формы рака**

- существование семейного онкологического анамнеза;
- ранняя манифестация заболевания;
- синхронное или метакхронное возникновение нескольких опухолевых очагов;
- существование морфологических или иммуногистохимических характеристик опухоли, свидетельствующих о высокой вероятности наследственного синдрома.

| Ген                          | Локализация     | Опухоли                                                                                | Синдром                                            | Частота           | Типичные опухоли                                                     |
|------------------------------|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------------------------|
| <i>p53</i>                   | 17p13.1         | практически все                                                                        | Ли-Фраумени                                        | 1:50000           | карцинома мол.железы, саркомы, лейкемия, опухоли мозга               |
| <i>RB1</i>                   | 13q14.1         | ретинобластома, остеосаркома, карциномы мол. железы, простаты, мочевого пузыря, легких | Ретинобластома                                     | 1:13000           | ретинобластома и остеосаркома                                        |
| <i>PTEN</i>                  | 10q23.3         | глиобластомы, рак простаты, РМЖ, неходжкинские лимфомы                                 | Ковдена, Банаяна-Зонана, Банаяна-Райли-Рувалкаба   | 1:20000           | рак молочной, щитовидной, предстательной желез, яичников, эндометрия |
| <i>BRCA1</i><br><i>BRCA2</i> | 17q21<br>13q12  | рак молочной, яичников, предстательной и поджелудочной железы, желудка?                | Наследственный рак молочной железы и /или яичников |                   | рак молочной железы, яичников, рак грудной железы у мужчин           |
| <i>WT1</i>                   | 11p13           | нефробластома                                                                          | Нефробластома                                      | 1:10000           | нефробластома                                                        |
| <i>TSC1</i><br><i>TSC2</i>   | 9q34<br>16p13.3 | гамартомы                                                                              | Туберозный склероз                                 | 1:10000           | гамартомы мозга, глаз, кожи, почек, легких, сердца, костей           |
| <i>NF1</i><br><i>NF2</i>     | 17q11<br>22q    | шваннома шванномы и менингиомы                                                         | Нейрофиброматоз I<br>Нейрофиброматоз II            | 1:3000<br>1:30000 | нервные ткани периферические шванномы и менингиомы ЦНС               |
| <i>p16</i>                   | 9p21            | мезотелиомы, меланомы, глиобластомы                                                    | Семейная меланома, диспластический невус           | 1:20000           | меланома                                                             |
| <i>RET</i>                   | 10q21           | медуллярная, папиллярная карциномы щит. железы                                         | МЭН 2А и 2В, семейный медуллярный рак              | 1:30000           | медуллярный рак щит. железы, феохромацитома                          |
| <i>VHL</i>                   | 3p25            | феохромацитома, светлоклеточная карцинома почки                                        | фон Хиппель-Линдау                                 | 1:36000           | гемангиобластома, почечно-клеточная карцинома                        |

**Спасибо за внимание!**

