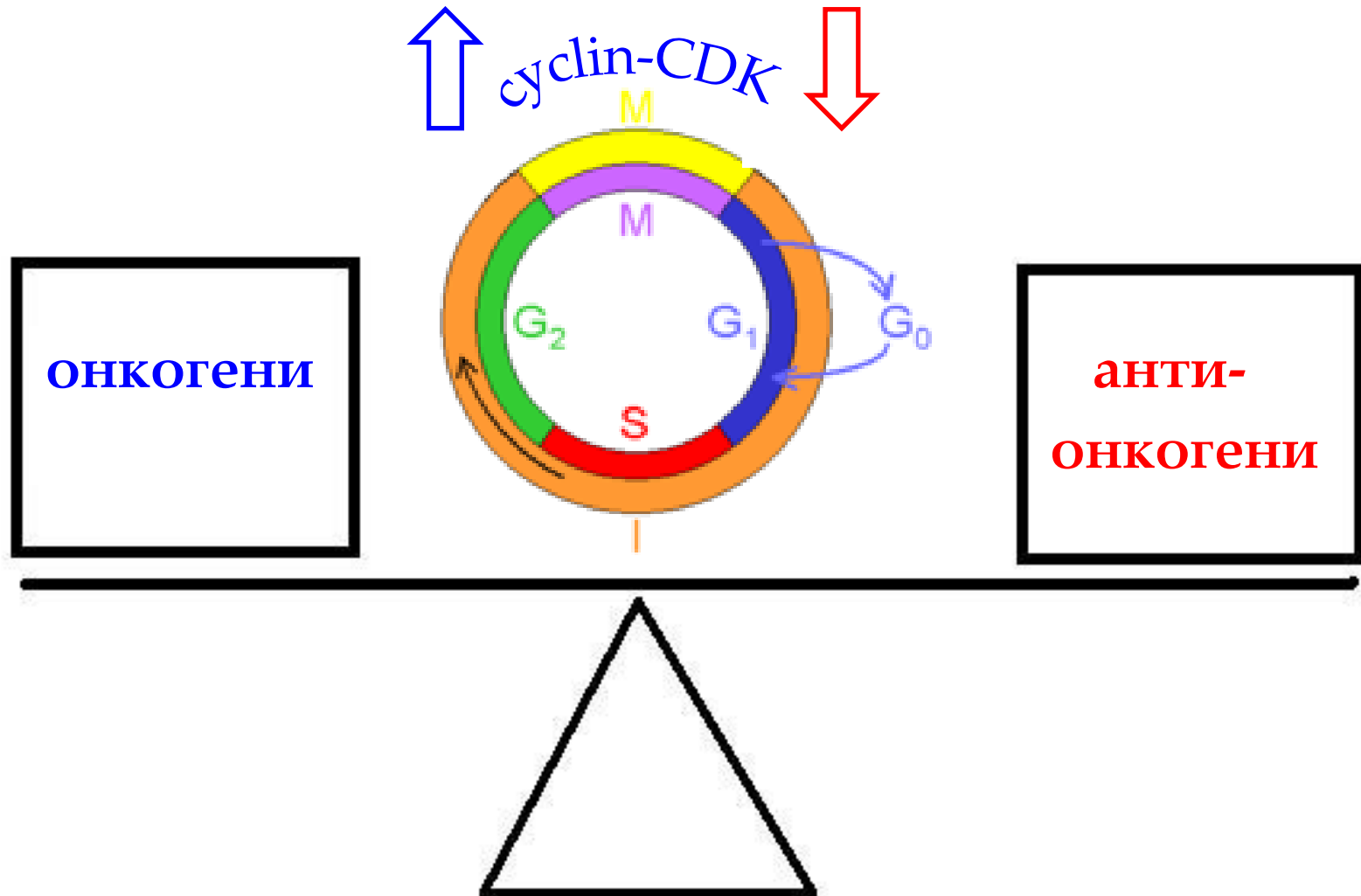


Наставна јединица 05

ТУМОР СУПРЕСОРСКИ ГЕНИ 1

да се подсетимо...



Туморски фенотип

- Вирусни онкоген има способност да диктира понашање ћелије упркос функцији „опозитних“ гена, који имају улогу да осигурају нормалну пролиферацију ћелије
- Синцицијум
- Хетерокарион

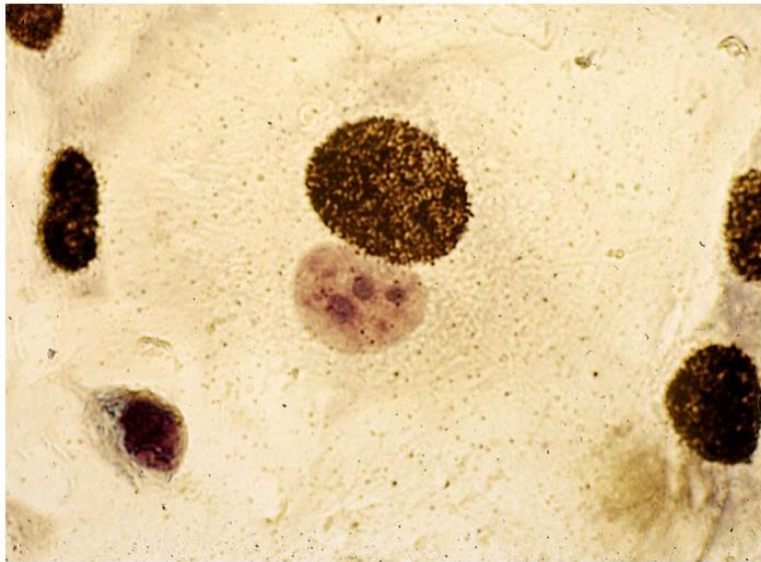


Figure 7.1b The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

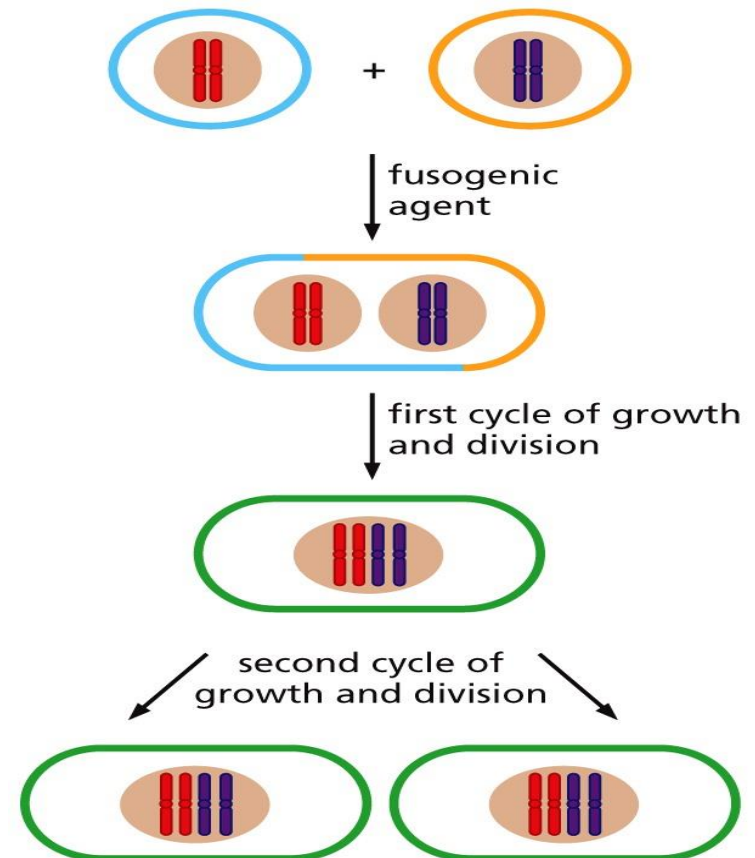
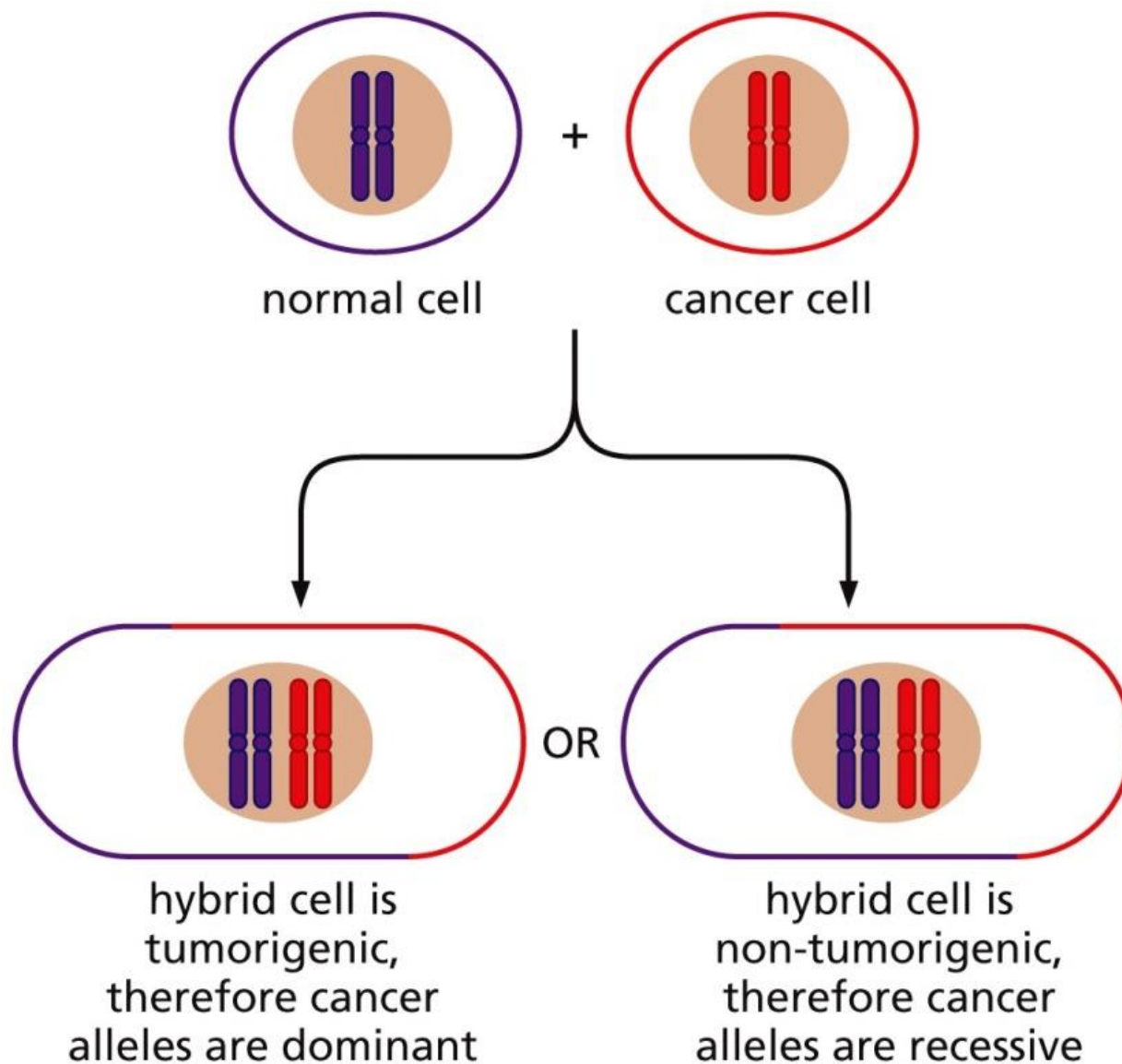


Figure 7.1a The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Доминантност и рецесивност туморског фенотиа



Туморски фенотип

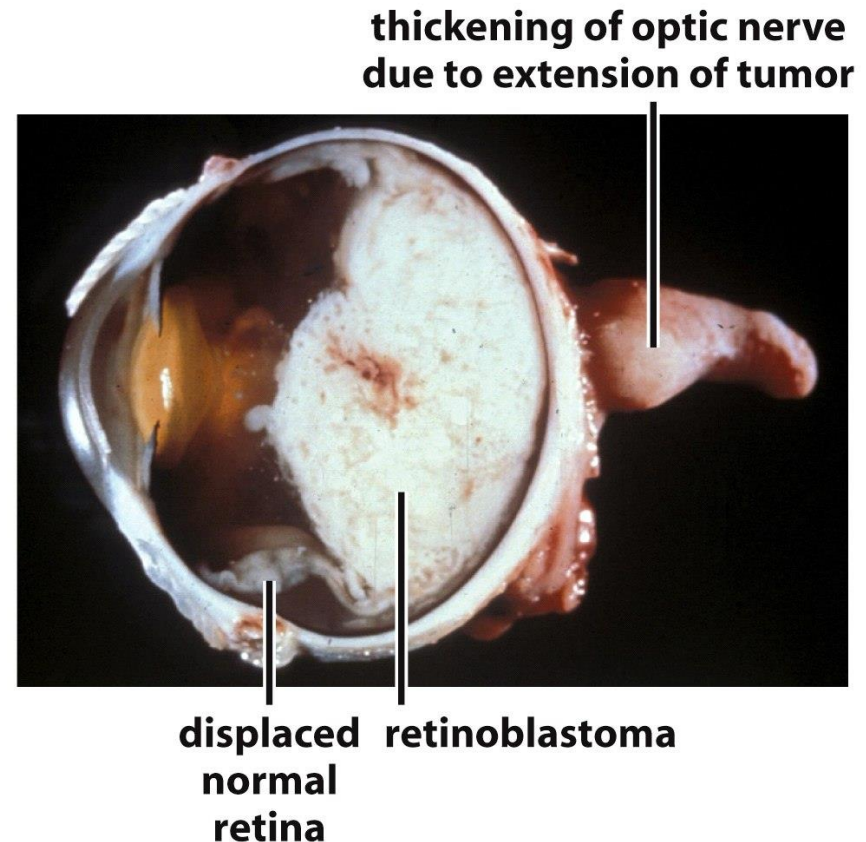
- Нормална ћелија носи гене који супримирају њену пролиферацију.
- Током развоја тумора, канцерске ћелије губе потпуно или функционално један или више ових гена.
- Једном када су гени који супримирају раст изгубљени, канцерске ћелије нису више под њиховим контролом, те се убрзава њихова пролиферација.

Тумор супресорски ген

- сваки ген, који губитком своје функције доприноси развоју тумора.
- Инактивација тумор супресор гена игра улогу у патогенези тумора важну колико и активација онкогена, за многе туморе и важнију.

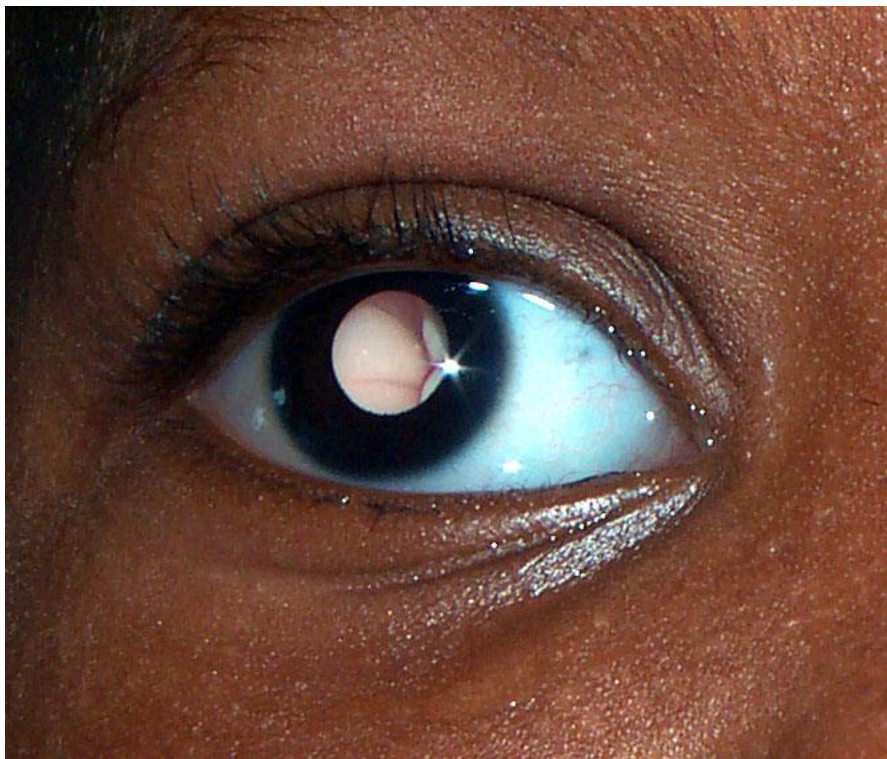
Дечији тумор ока- ретинобластом

- тумор ретине
- настаје из прекурсора фоторецепторских ћелија
- јавља се код 1 на 20.000 деце
- дијагностикује се од рођења до 6-8 године живота, ретко касније





Rb; први тумор супресор ген

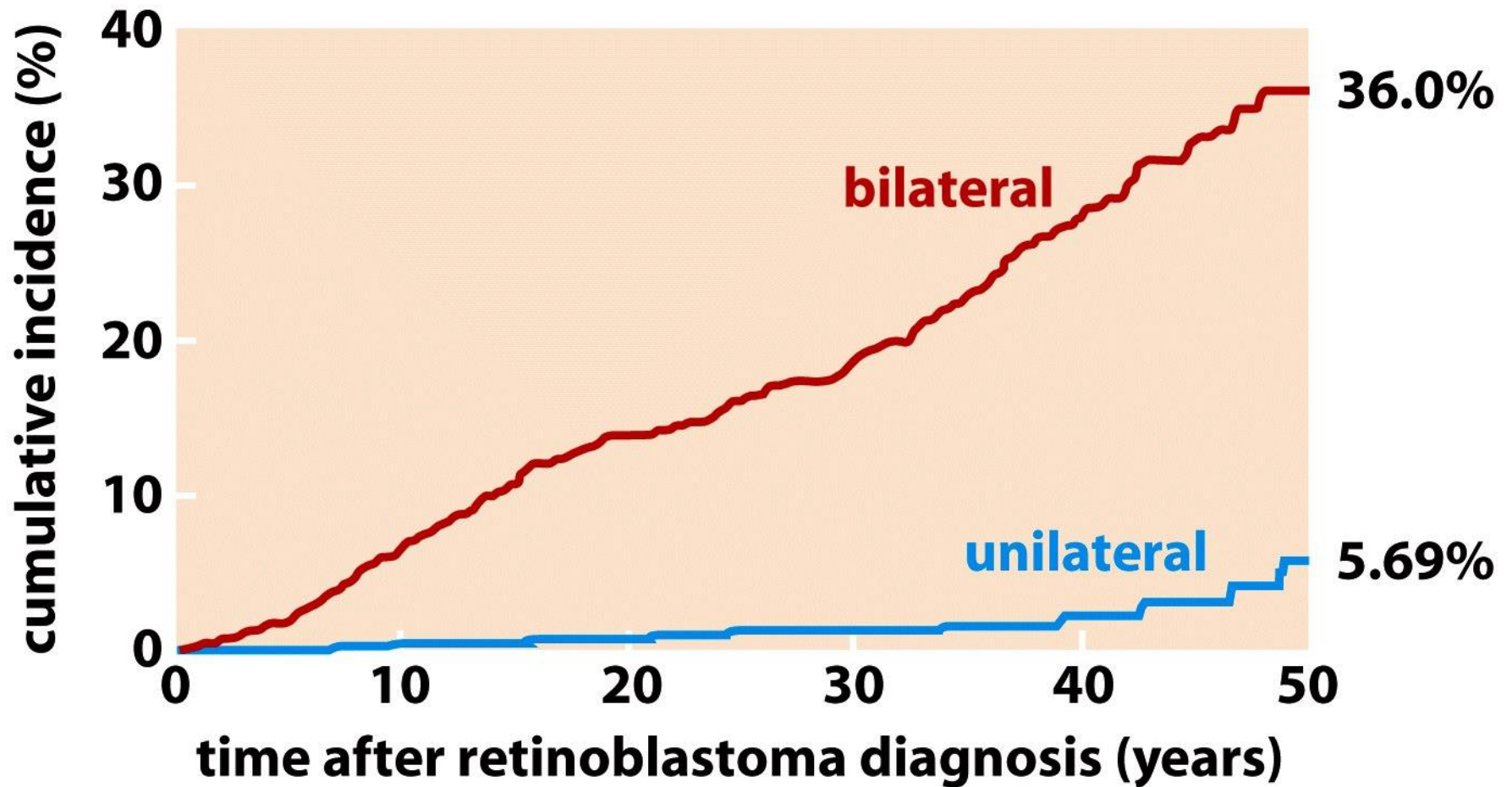


Дечији тумор ока- ретинобластом

Овај „туморски синдром“ се јавља у 2 облика:

- Нека деца (без породичне историје ретинобластома) имају **један тумор у једном оку**. Ако се тумор уклони, зрачењем или хируршком интервенцијом, ова деца немају даљи ризик од ретинобластома или неког другог тумора. Како са тумор јавља код деце без породичне историје ове болести, сматра се спорадичним обликом болести, а обзром да се јавља на једном оку зове се и унилатерални ретинобластом.
- Породични облик ретинобластома јавља се код деце чији су родитељи такође оболели и излечени у детињству. У овом случају региструје се **више тумора у оба ока** (зато се зове билатерални ретинобластом). Излечење тумора ока, зрачењем или хируршком интервенцијом, не штити децу од великог ризика (500 пута већег у односу на нормалну децу) од тумора костију (остеосаркома) током адолесценције нити од повећане осетљивости од развоја многих других тумора током живота.

non-retinal tumors of retinoblastoma patients



Ретинобластом ген-1 (Rb-1)

- мутација одговорна за настанак дечјег ретинобластома
- мутације Rb гена га чине инактивним- рецесивним
- његов продукт (pRb):
 - регулација ћелијског циклуса
 - диференцијација
 - репликација DNA
 - репарација оштећене DNA
 - инхибиција апоптозе.

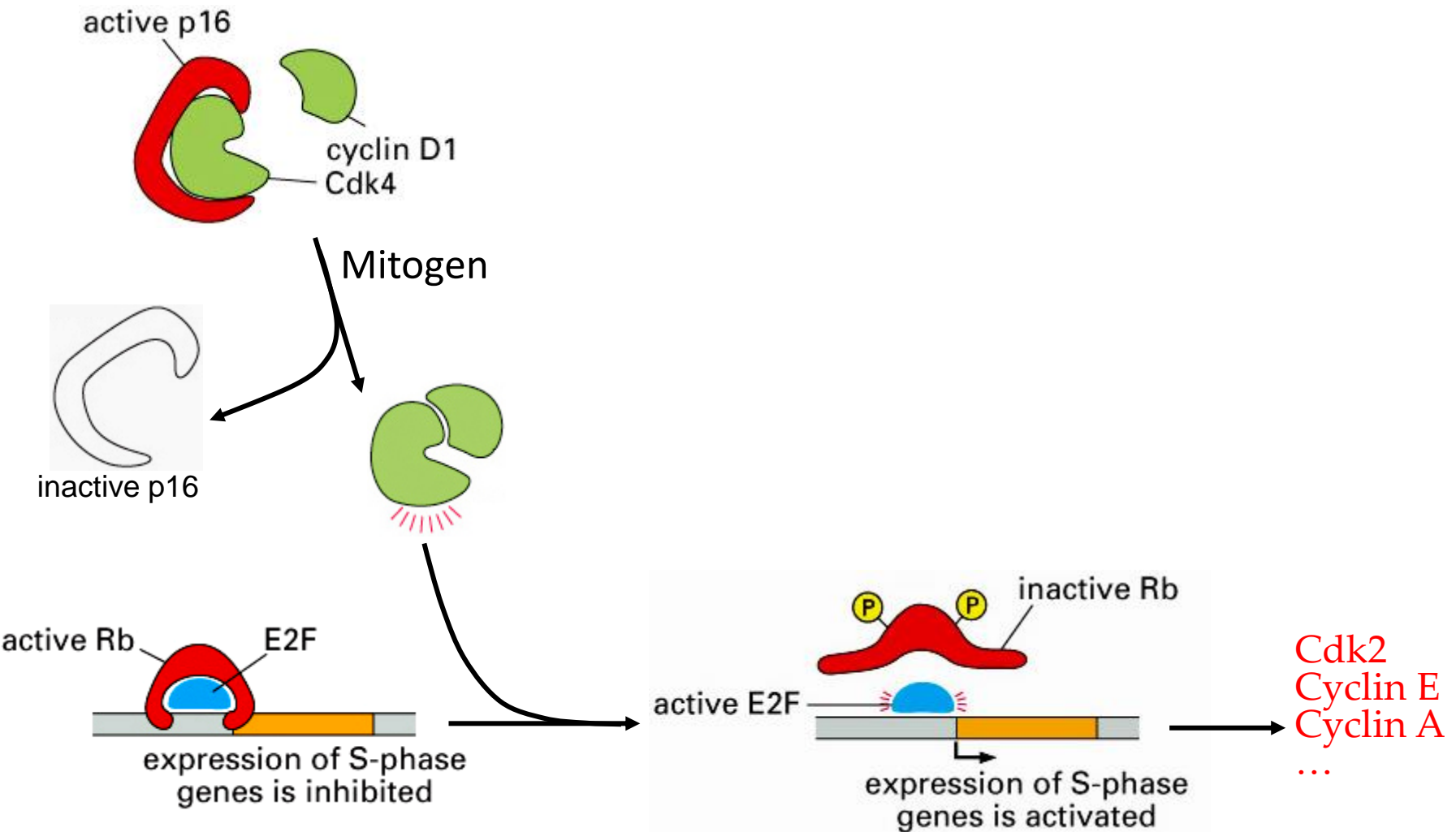
pRb

- нуклеарни транскрипциони фактор
- фосфорилација кроз ћелијски циклус
- хипофосфорилисани pRb → p105 једарни протеин → инхибира транскрипциони фактор E2F, важан за контролу ћелијског циклуса.
- Cdk + циклин → фосфорилисан Rb → неактиван → E2F

E2F

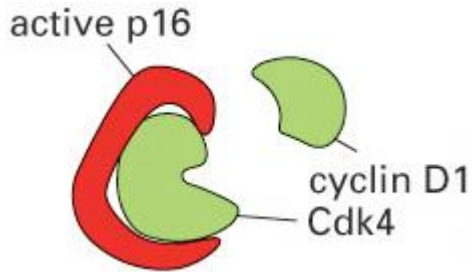
- започиње транскрипцију циклина E , протеина неопходног за прелазак ћелије у S фазу, као и циклина A значајног у G2 фази.
- повећава активност хистон ацетил трансферазе, која омогућава одвајање протеина хистона од ланца DNA.
- убрзава репликацију DNA и помаже у њеној репарацији тиме што везује полимеразу за DNA.
- омогућава транскрипцију дихидрофолат редуктазе и тимидин киназе- синтеза DNA.

pRb инхибира транскрипцију E2F



pRb инхибира транскрипцију E2F

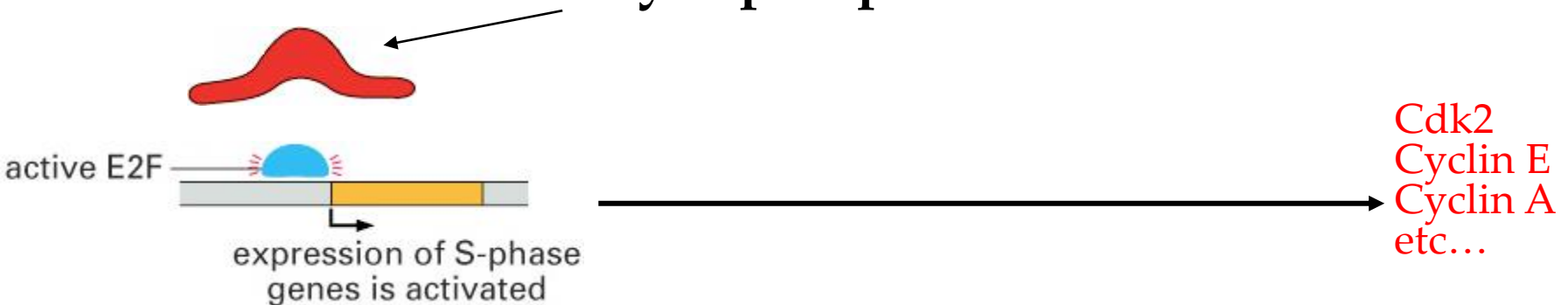
Мутација pRb омогућава прелаз у S-фазу, без митогена

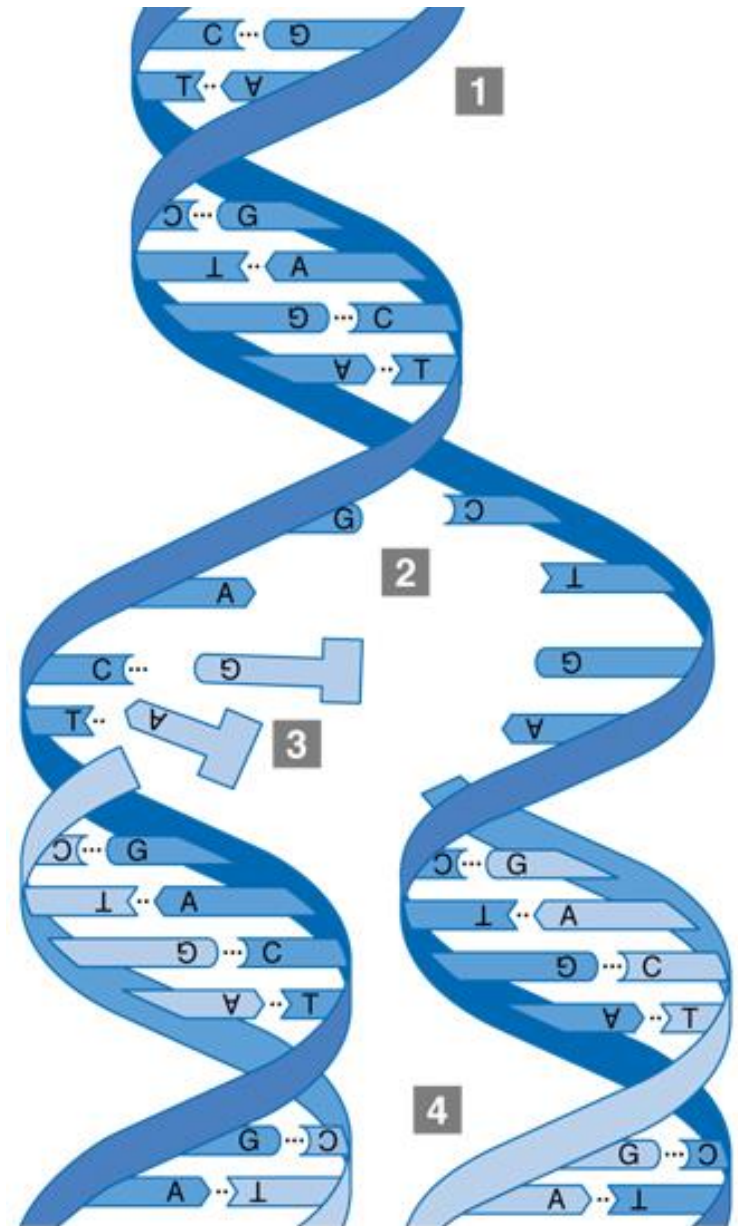
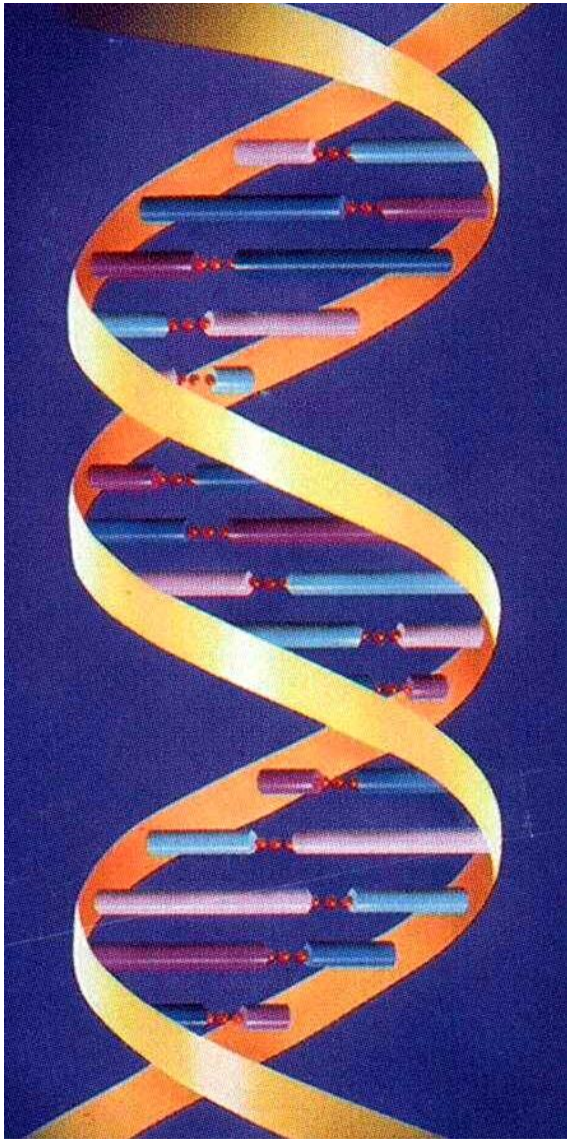


Ћелије без функције pRb не контролишу G1 фазу

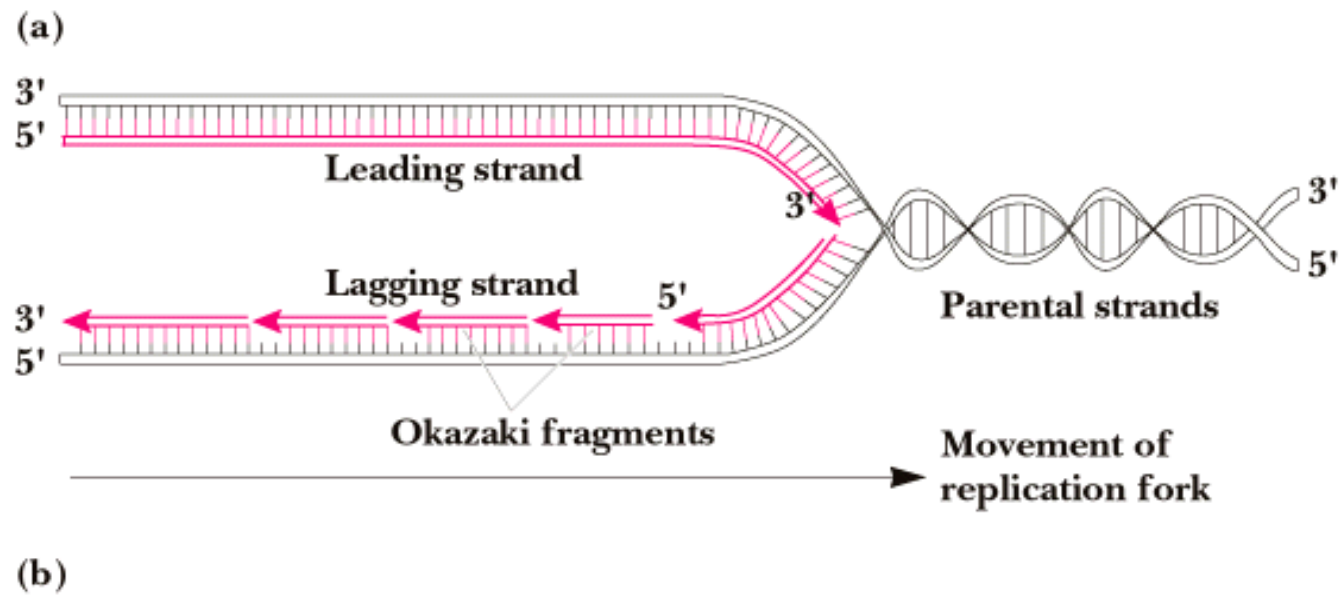
- стална E2F-зависна транскрипција
- бајпас Cdk4/6
- пролиферација и без митогена

Мутиран pRB:





Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 30.6



„О наследности тумора... Ако
тумори могу настати на овај начин,
хомологи елементи на оба
хромозома морају бити оштећени на
исти начин“

Теодор Бовери, патолог 1914.

- Значај Rb-1 и p53 гена у генези тумора, доказан је идентификацијом мутација истих гена код особа са синдромима туморске предиспозиције, као што су **конгенитални ретинобластом (Rb-1)** и **мултиканцерски синдром Ли Фраумени (p53)**.
- Инактивација или мутација једног алела тумор супресор гена није довољна за развој тумора, потребна је промена на оба локуса- **губитак хетерозиготности**.

- Како је могуће да обе копије тумор супресор гена постану нефункционалне, једна за другом, током настанка спорадичног ретинобластома, ако је вероватноћа настанка овакве комбинације мутација екстремно мала?
- Готово је невероватно да настану успешне мутације које ће елиминисати функције оба алела тумор супресор гена.

Динамика настанка ретинобластома

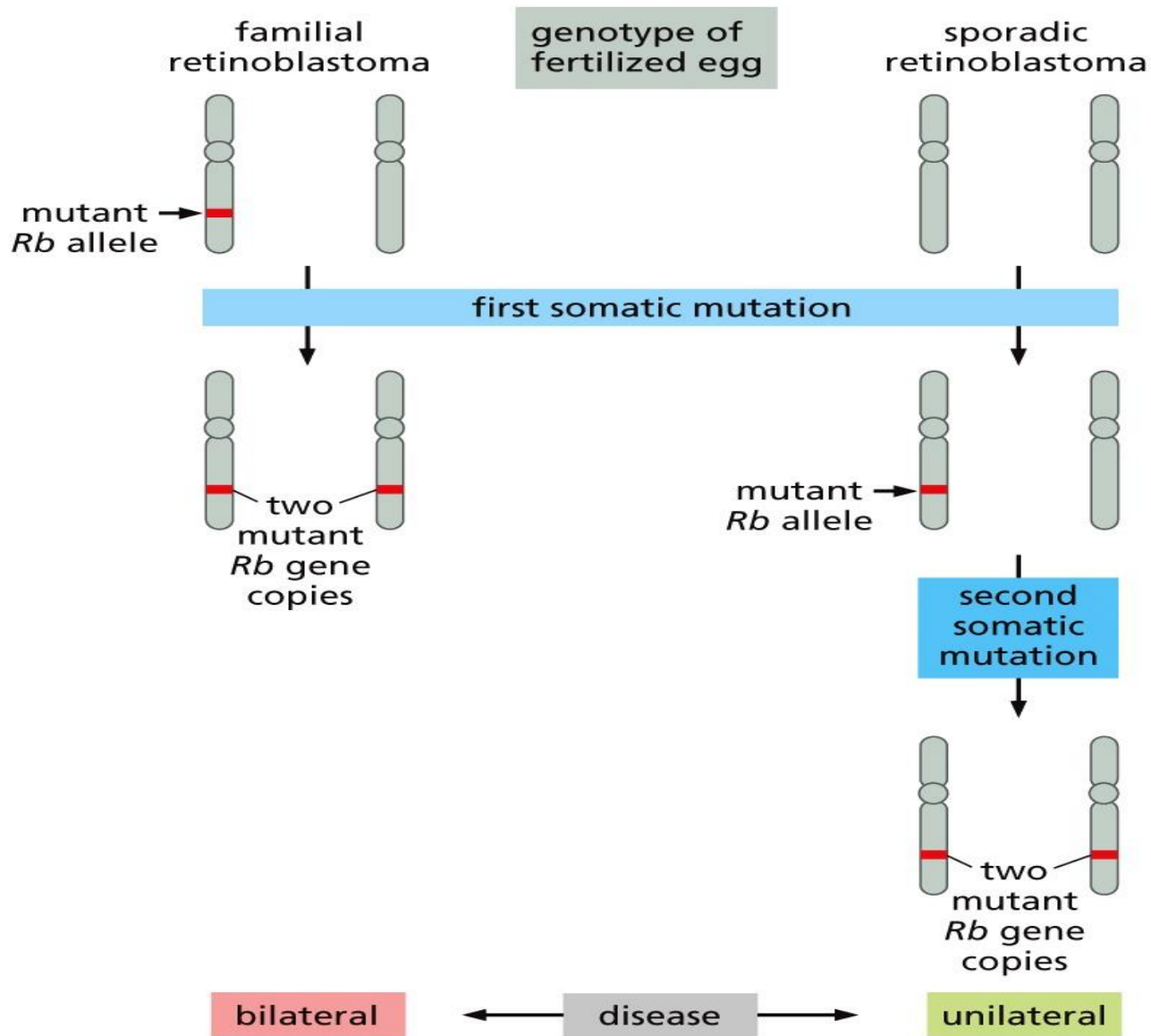
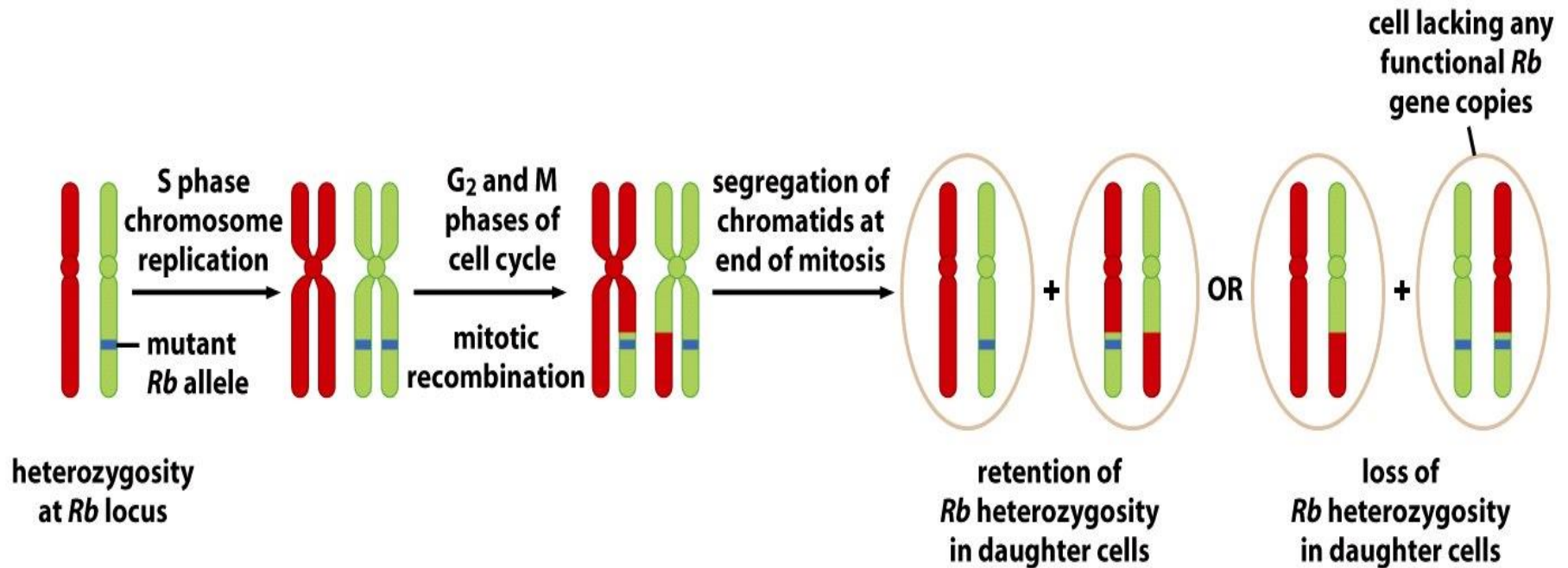


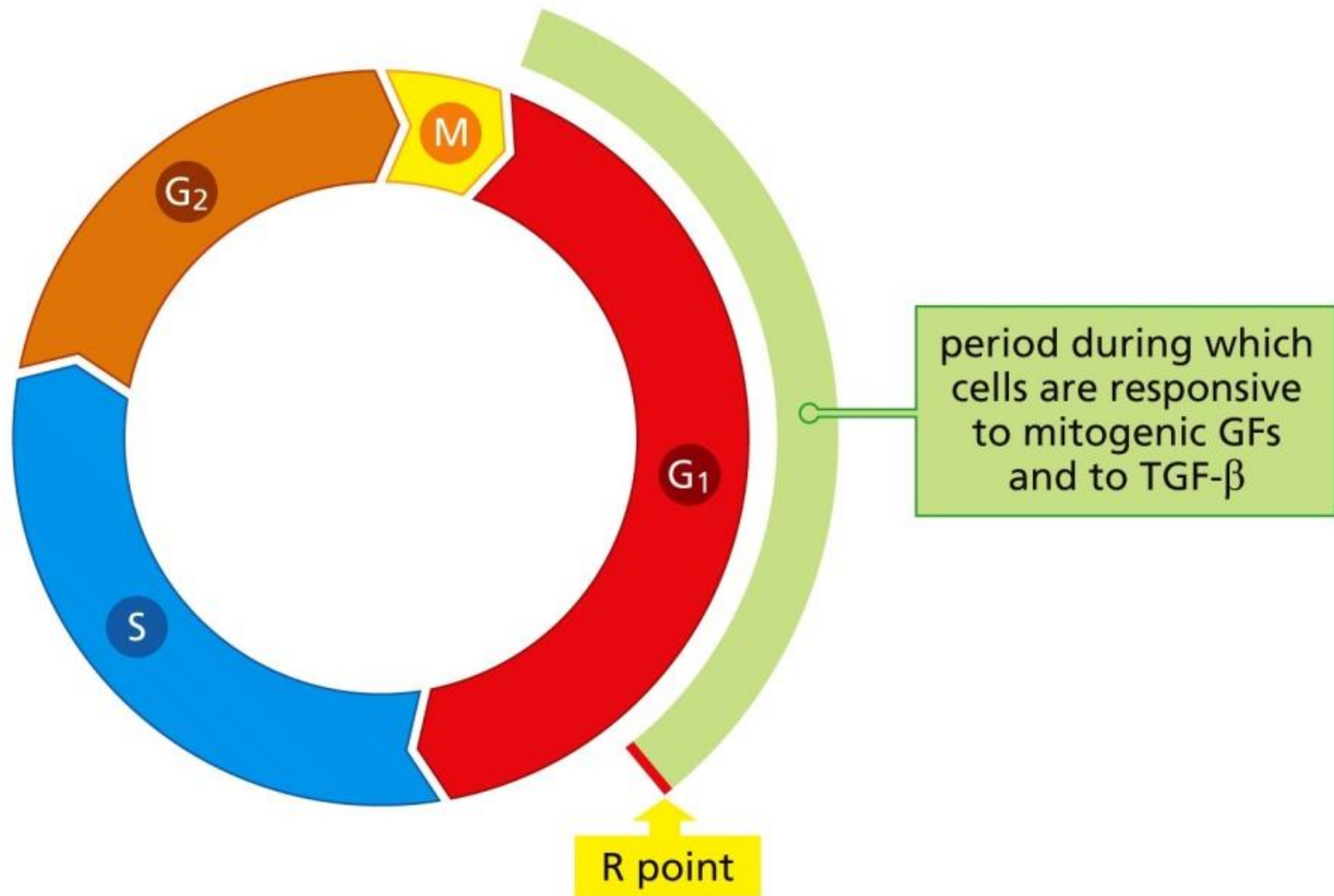
Figure 7.6 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

- Неки генетичари су понудили објашњење овог феномена:
- Ако је ћелија „претрпела“ мутацију једног од алела Rb гена, тада је у „хетерозиготној конформацији“, са једним *wild type* и једним дефектним геном- $Rb^{+/-}$.
- Како је мутирани алел рецесиван, хетерозиготна ћелија задржава нормалан *wild type* фенотип.
- Тада је могућа размена генетских информација између упарених хомологих хромозома, на којима су *wild type* и дефектни Rb гени .
- Оваква рекомбинација се дешава током пролиферације и названа је митотска рекомбинација, да би се разликовала од рекомбинације у мејози.

Елиминација wild type Rb алела



Одговор на екстраћелијске сигнале током ћелијског циклуса



Напредовање ћелијског циклуса зависи од фосфорилације pRb-a

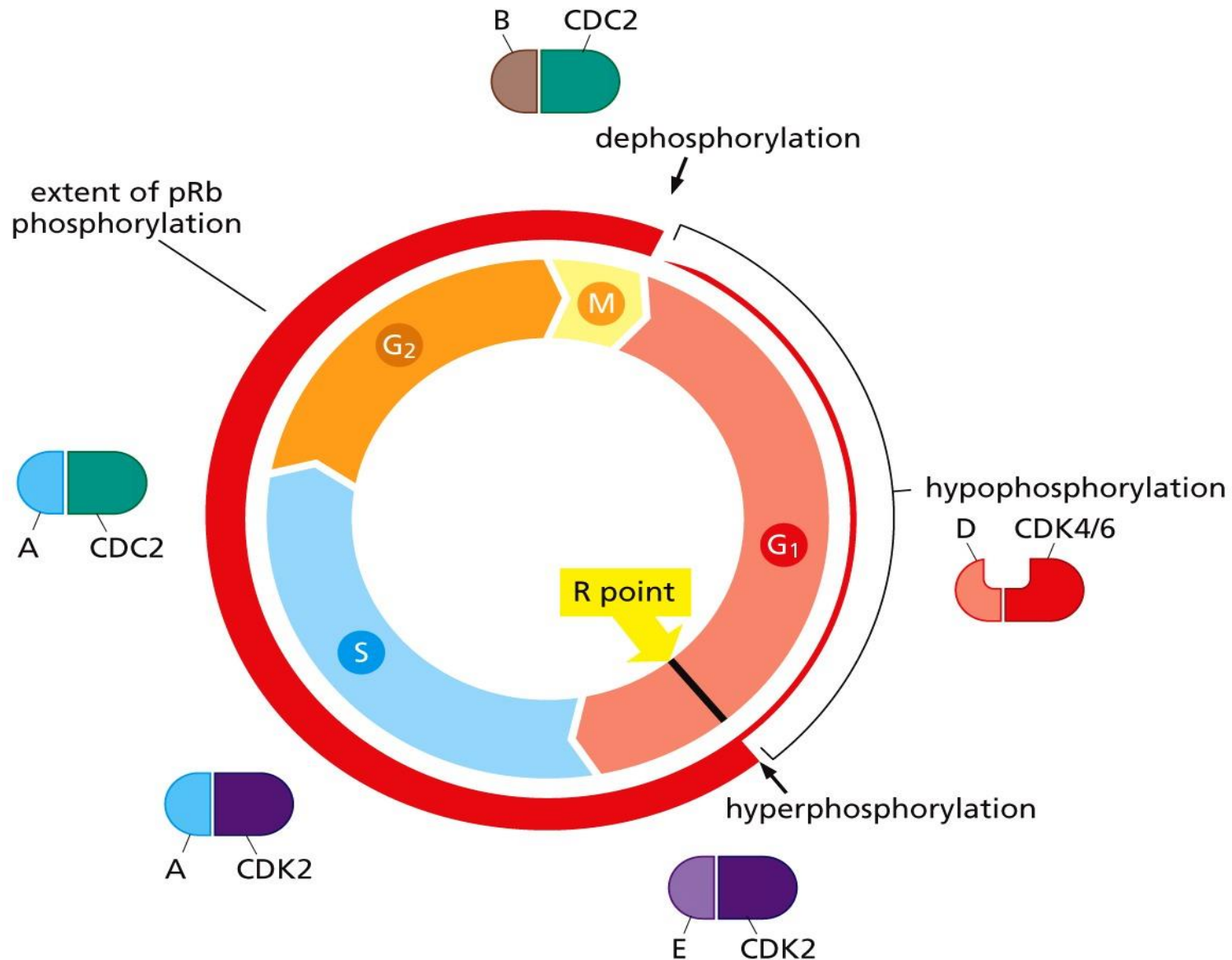


Figure 8.19 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Контрола транзиције кроз R тачку митогенима

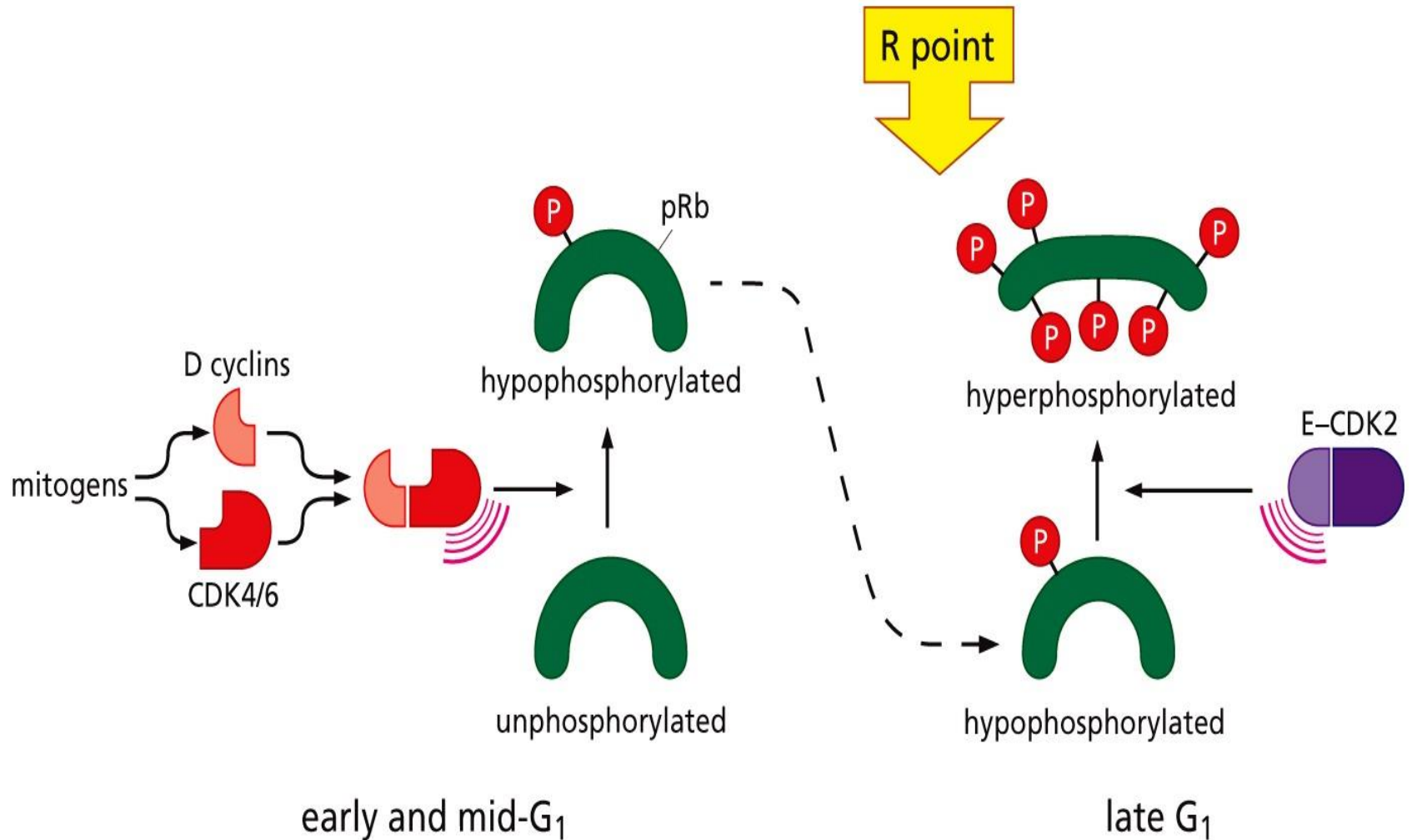


Figure 8.22 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Неурофиброматоза

- први описао Friedrich von Recklinghausen 1862.
- **неурофиброматоза тип 1** релативно чест породични туморски синдром, са учесталошћу 1 на 3.000 људи
- развој бенигних тумора ћелија омотача неурона, периферног нервног система.
- прогресија у неурофибросаркоме, малигне туморе
- повећан ризик од глиобластома (тумора астроцита у ЦНС-у), феохромоцитома и мијелобластних леукемија.

NF1

- Породични туморски синдром неурофиброматоза тип 1 има генетску позадину, мутирани алел гена названог NF1.
- генетске промене NF1 одговарају променама Rb гена
- Мутирани, инактивирани алел NF1 гена ствара карактеристичан фенотип овог синдрома
- хетерозиготна конформација NF1^{+/-} гена конвертује у хомозиготно NF1^{-/-} стање у туморским ћелијама, губитком хетеризиготности.
- Обзиром да половина пацијенатанема породичну историју болести, мутације оба NF1 алела настају *de novo*.

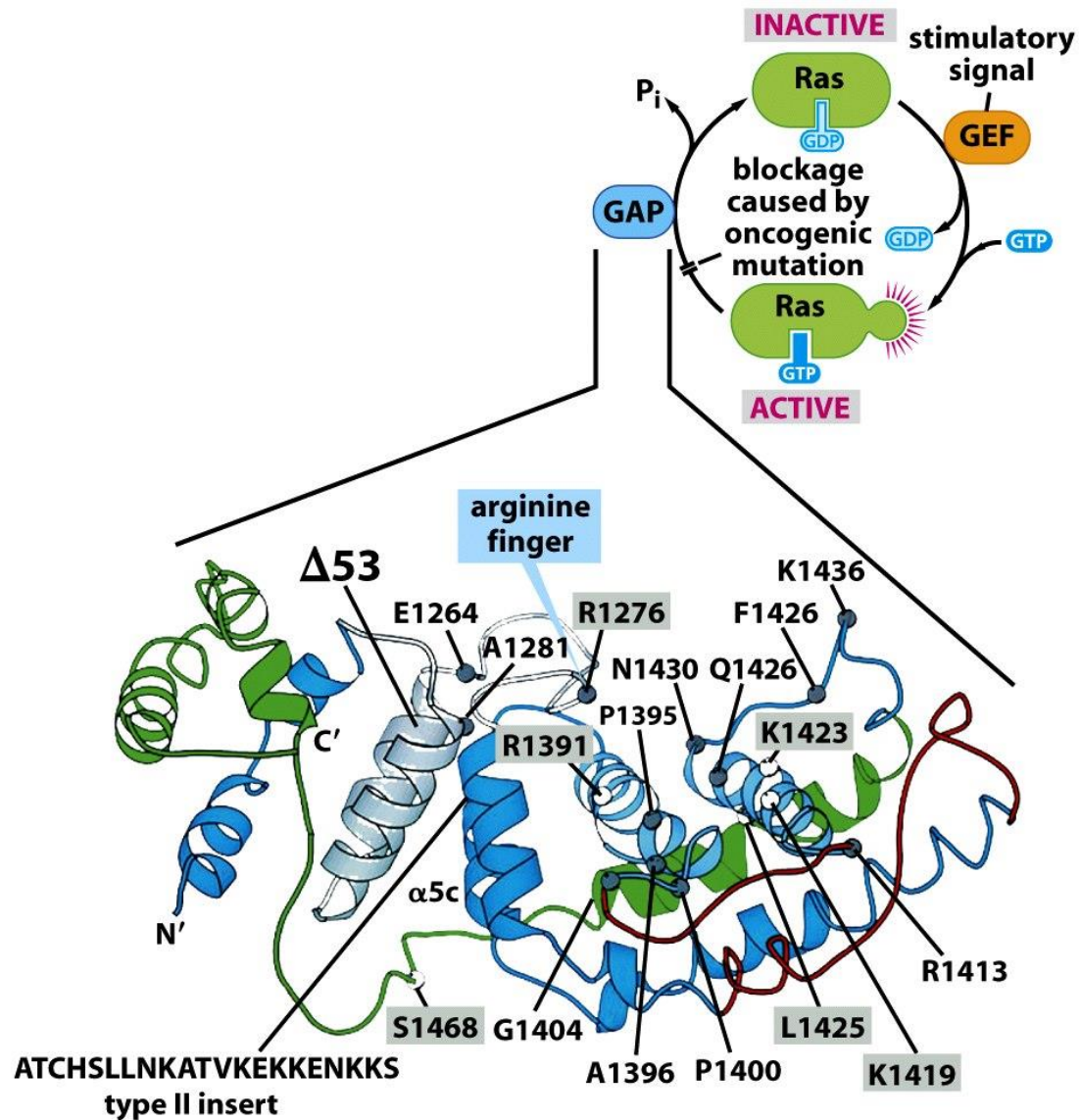
NF1- протеин

- сличност са IRA протеином
- функционише као GAP за Ras молекула
- У растућој ћелији (пролиферација) Ras протеини регулишу важне метаболичке и пролиферативне процесе.
- Индукцијом GTP-азне активности, IRA конвертује Ras из активационог у инактивно стање, GDP-Ras.
- NF1 у ћелијама периферног и ЦНС-а

NF1- протеин

- након стимулације фактором раста, у ћелији се разлаже NF1, што омогућава активацију Ras сигналног пута.
- након 60-90 минута, ниво ћелијског NF1 се враћа на нормалу и блокира Ras сигнални пут, негативном повратном спрегом.
- У неуроектодермалним ћелијама у којима NF1 није функционалан, Ras протеин је у активном облику GTP-Ras знатно дуже, него у нормалним ћелијама.

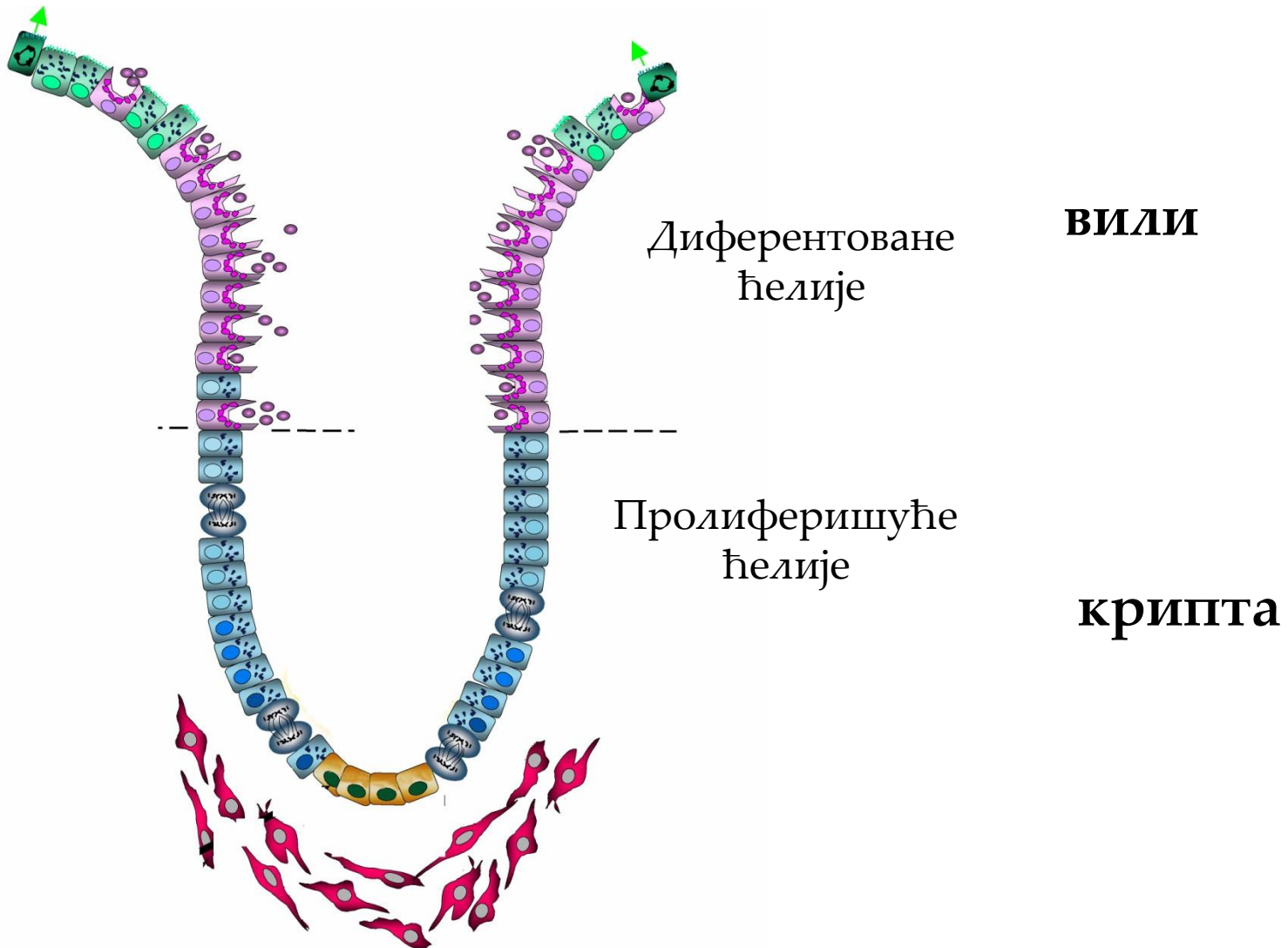
Ras сигнални пут



Локализација матичних ћелија и ћелија у диференцијацији у ГИТ-у

- Матичне ћелије су смештене и заштићене у дну удубљења названих **крипте**.
- Док неке од прогениторских ћелија остају у дну крипти где одржавају константан број матичних ћелија, већина њих се одваја и мигрира из крипти до површине лумена црева, где формирају зид црева, обављају своју функцију, затим умиру апоптозом и одвајају се у лумен колона.
- Читав процес од настанка, преко миграције, ефекторске функције и смрти траје **3-4 дана**.

Локализација матичних ћелија и ћелија у диференцијацији



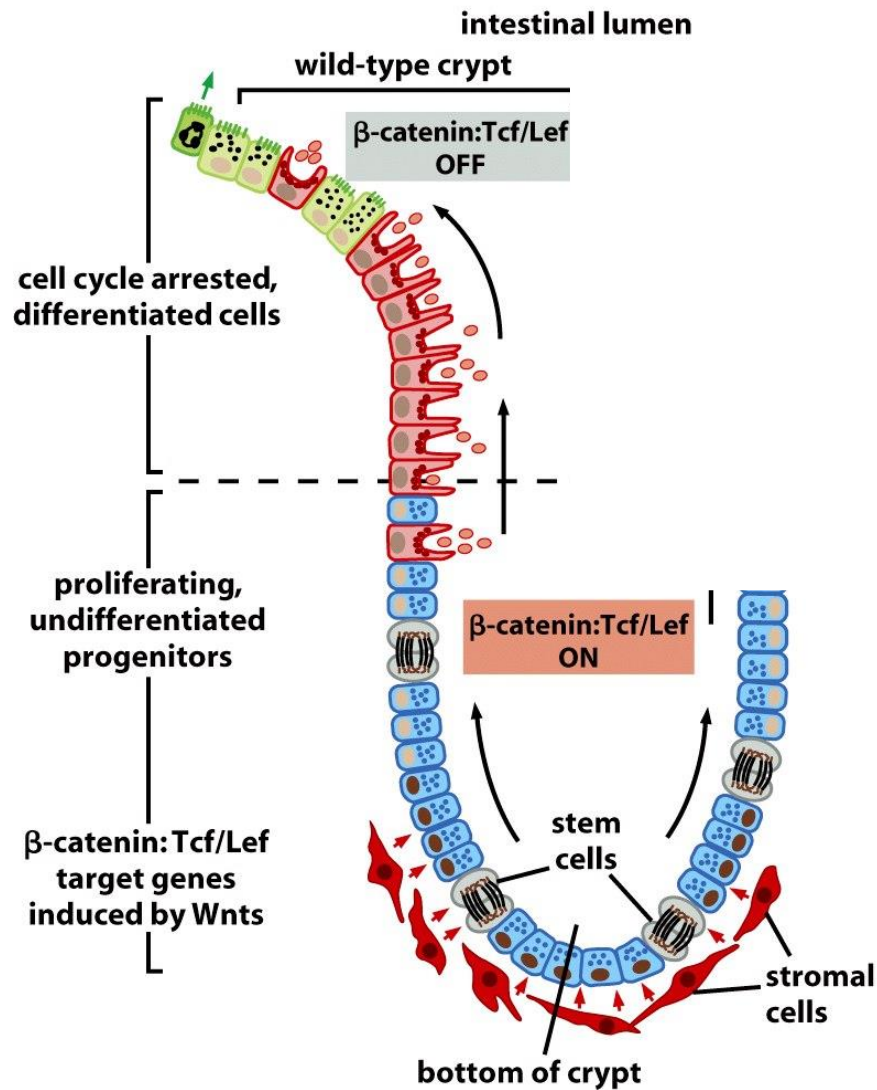
Локализација матичних ћелија и ћелија у диференцијацији

- Ћелије умиру у року од пар дана од настанка.
- Јасно је да **мутације** које воде настанку тумора јесу оне које **блокирају миграцију** епителних ћелија из крипти и ћелијску смрт.
- Ентероцити којима су мутације омогућиле да остану у криптама ће живети знатно дуже.

Молекулски механизми који контролишу миграцију ентероцита из крипти

- Зависе од експресије интрацелуларног β -катенина.
- Матичне ћелије ентероцита имају висок ниво интрацелуларних β -катенина.
- Ове ћелије задржавају „стање матичних ћелија“ одржавањем концентрације интрацелуларног β -катенина.
- Када нека од прогениторних ћелија почне да мигрира смањује јој се количина β -катенина.
- Ове ћелије тада губе фенотип матичних ћелија, излазе из ћелијског циклуса и диферентују у функционалне ентероците.

Молекулски механизми који контролишу миграцију ентероцита из крипти



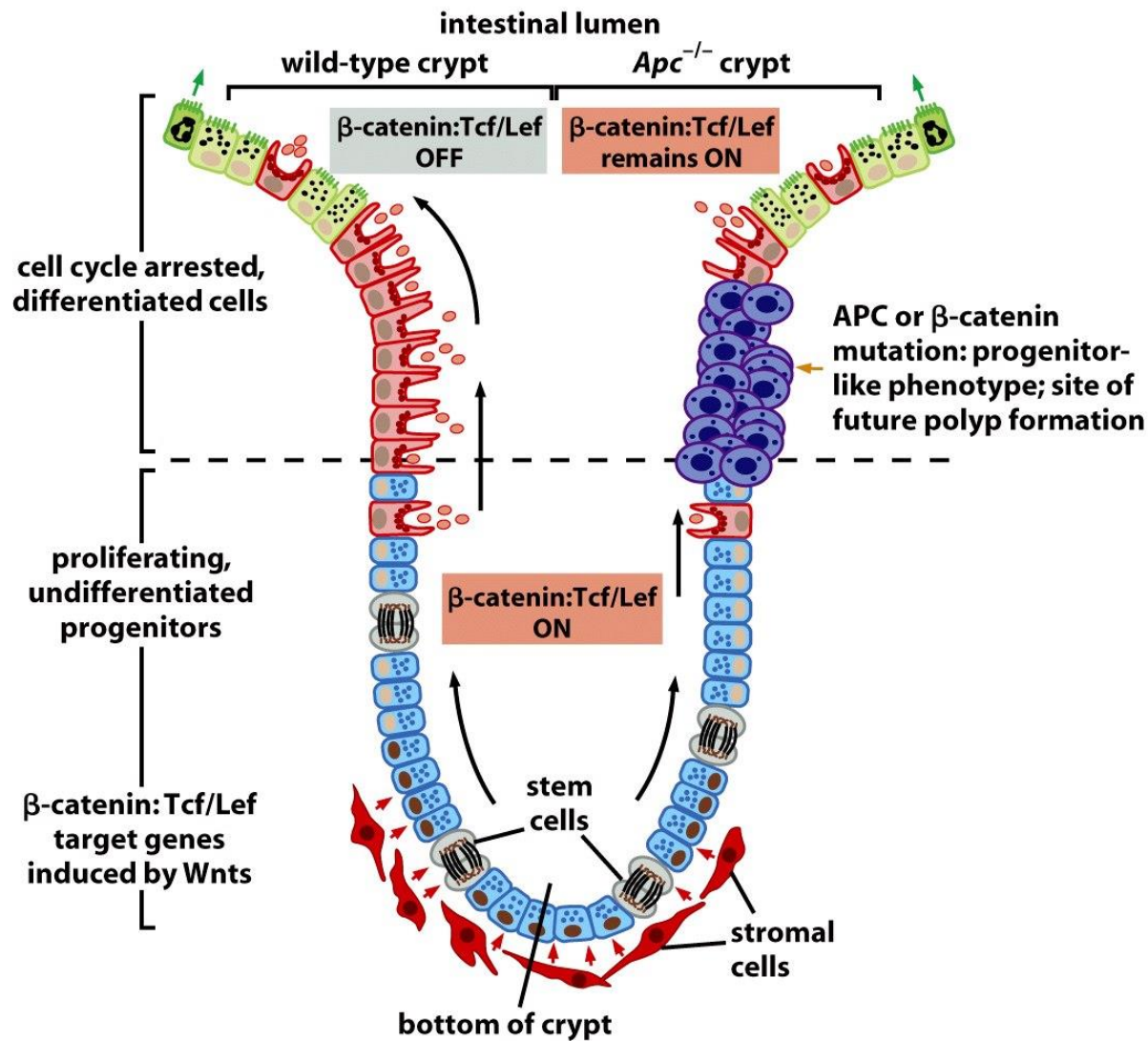
adenomatous polyposis coli- **Apc**

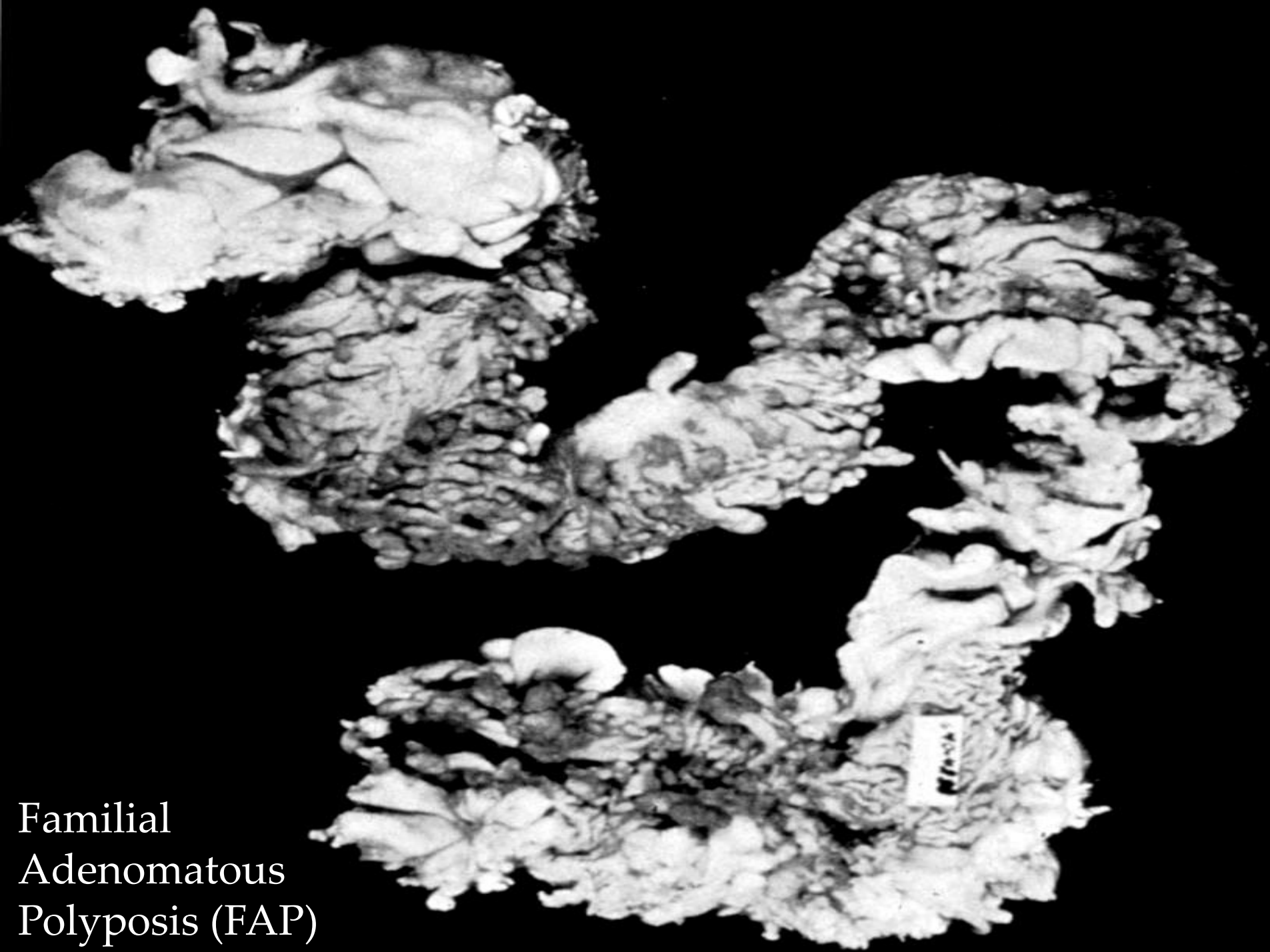
- Apc је продукт гена аденоматозне полипозе колоне (adenomatous polyposis coli- Apc) и одговоран је за **негативну контролу нивоа β - катенина** у цитосолу.
- У ћелијама на дну нормалних крипти, Apc гени нису експримирани и β - катенин је присутан у великој количини.
- Како ћелија мигрира из крипте, ниво експресије Apc гена расте, а Apc протеин снижава ниво β - катенина.

adenomatous polyposis coli- APC

- Акумулација β - катенина је најзначајнија последица инактивације APC гена, 90% свих спорадичних карцинома колона.
- Када се β - катенини акумулирају у прекурсорима ентероцитима као последица инактивације APC гена или неким другим механизмом, ове ћелије **задржавају фенотип налик матичним ћелијама**, што их задржава у криптама.
- Прва од мутација је **инактивација APC**.
- Таква ћелија је „заробљена“ у крипти акумулира мутације других гена, као што је **K-ras**, који омогућава **бржи раст**.
- Ово узрокује акумулацију великог броја релативно недиферентованих ћелија у криптама колона, које некада формирају **аденоматозне полипе**. У овим ћелијама могу да се акумулирају мутације које им омогућавају да формирају „агресивније“ полипе или пак карциноме.

Молекулски механизми који контролишу миграцију ентероцита из крипти



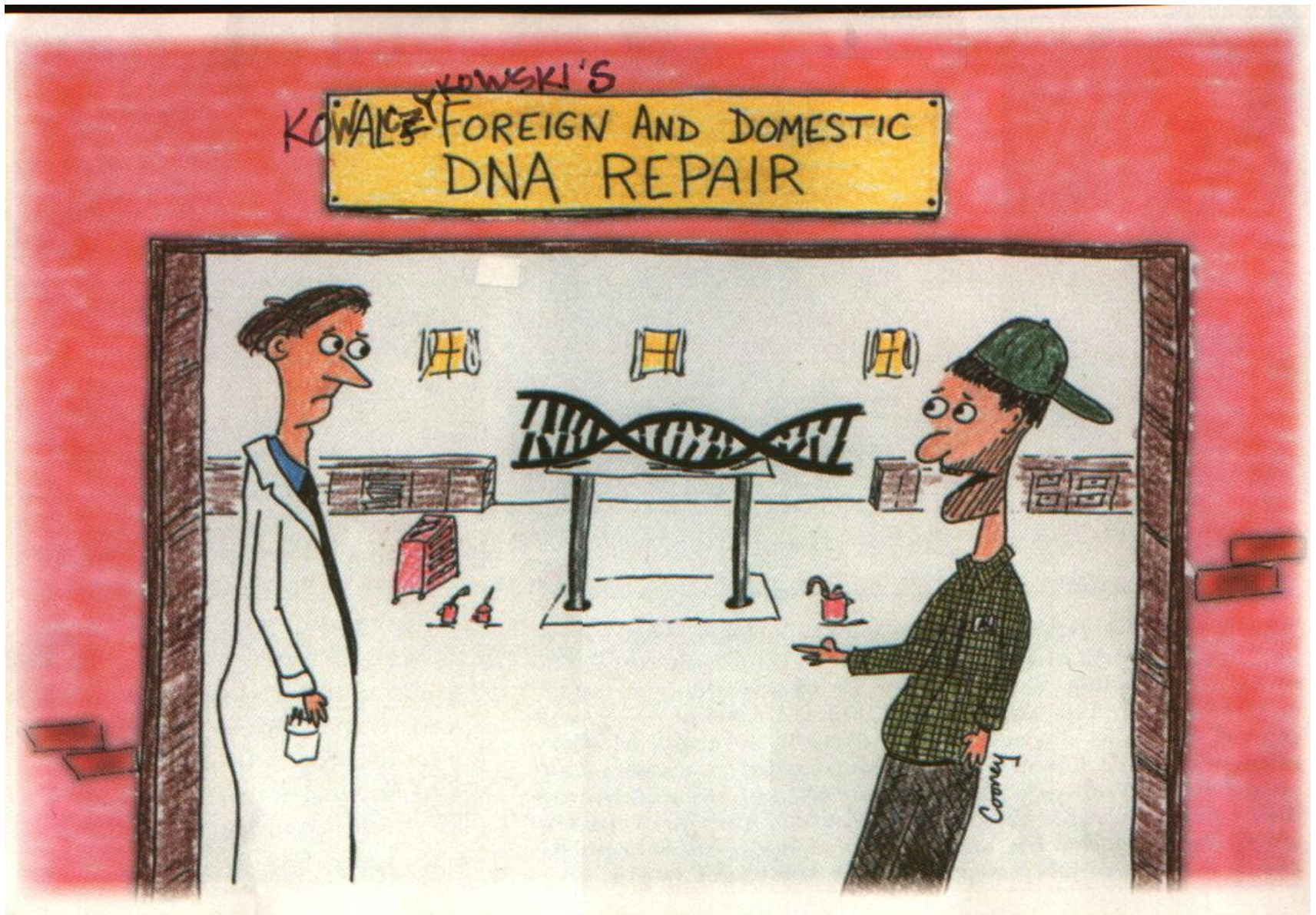


Familial
Adenomatous
Polyposis (FAP)

adenomatous polyposis coli- APC

- APC молекули се везују за микротубуле које формирају деобно вретено и одговорне су за раздвајање хроматида током анафазе и телофазе митозе.
- Ћелије без функционалног APC карактерише значајно **повећана хромозомска нестабилност**, праћена повећаним или смањеним бројем хромозома.
- Овако настала анеуплоидија мења релативан број критичних тумор-промовишућих и тумор-инхибишућих гена.

Систем за поправку DNA



BRCA1 и BRCA2

- **BRCA1** (енгл. breast cancer 1) је експримиран у ћелијама млечне жлезде али и других ткива где помаже у поправљању оштећене DNA или у уништавању ћелије ако се DNA не може поправити.
- Поправља прекиде двоструког хеликса DNA. Најчешће су прекиди DNA ланца једноструки (само један од 2 ланца), али понекад је прекид потпун (оба ланца).
- BRCA1 чини део протеинског комплекса који поправља DNA када су оба ланца прекинута. Када је DNA у потпуности прекинута тешко је убацити одговарајуће нуклеотиде (нема забележене секвенце која фали). Поправка помоћу BRCA1 протеина подразумева **хомологу рекомбинацију**. Систем за поправку користи редослед нуклеотида са сестринске хроматиде (хомологог хромозома).

BRCA1 и BRCA2

- АТМ детектује оштећење ДНК → BRCA 1/2
- фосфорилација АТМ-киназом → p53 → p21 → застоје ћелијског циклуса.
- BRCA 1/2 такође интерреагују и са естрогеним рецепторима (супримирају њихову функцију) као и са промотором c-Myc онкогена (супримира експресију овог онкогена).

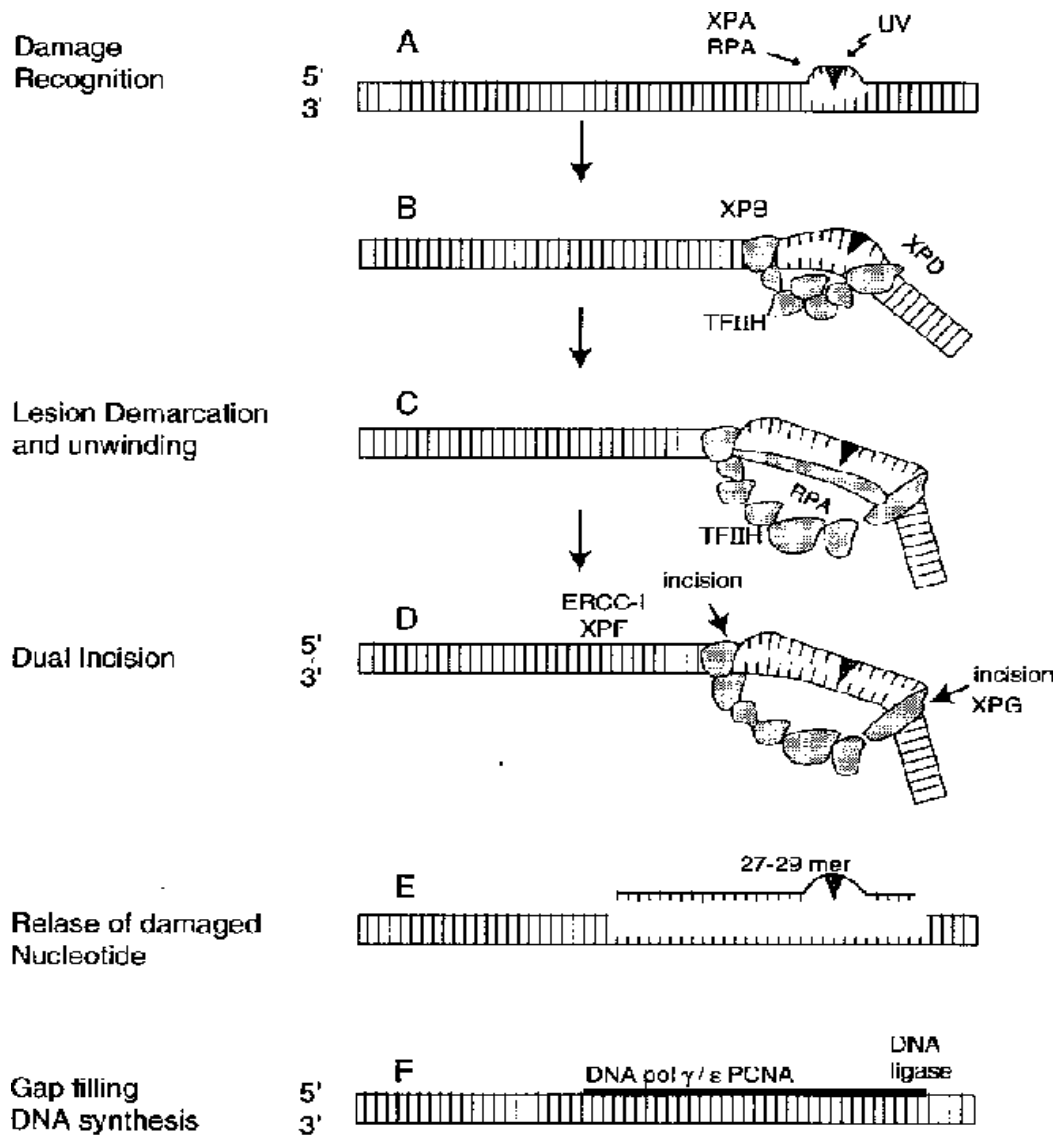
BRCA1 и BRCA2

- Иако су структуре BRCA1 и **BRCA2** гена различите, функције протеина које кодирају су сличне-поправљање оштећене DNA.
- Ако су BRCA1 и BRCA2 оштећени и нефункционални, оштећена DNA се не може поправити, што повећава ризик на настанак тумора.
- Мутације ових гена повећавају могућност настанка карцинома дојке и оваријума.

BRCA1 и BRCA2

- 50-65% жена рођених са мутацијом BRCA 1/2 гена добиће карцином дојке до 70 године живота
- 35-46% ће добити карцином оваријума
- Карциноми дојке повезани са дисфункцијом BRCA гена су много агресивнији од нормалних карцинома дојке.
- Најчешће су негативни на хормонске рецепторе
- Појављују се у просеку 20 година раније од осталих форми карцинома дојке.

Систем за поправку DNA



Name of gene	Chromosomal location	Familial cancer syndrome	Sporadic cancer	Function of protein
<i>RUNX3</i>	1p36	—	gastric carcinoma	TF co-factor
<i>HRPT2</i>	1q25–32	parathyroid tumors, jaw fibromas	parathyroid tumors	chromatin protein
<i>FH</i>	1q42.3	familial leiomyomatosis ^a	—	fumarate hydratase
<i>FHIT</i>	3p14.2	—	many types	diadenosine triphosphate hydrolase
<i>RASSF1A</i>	3p21.3	—	many types	multiple functions
<i>TGFBR2</i>	3p2.2	HNPCC	colon, gastric, pancreatic carcinomas	TGF- β receptor
<i>VHL</i>	3p25	von Hippel–Lindau syndrome	renal cell carcinoma	ubiquitylation of HIF
<i>hCDC4</i>	4q32	—	endometrial carcinoma	ubiquitin ligase
<i>APC</i>	5p21	familial adenomatous polyposis coli	colorectal, pancreatic, and stomach carcinomas; prostate carcinoma	β -catenin degradation
<i>NKX3.1</i>	8p21	—	prostate carcinoma	homeobox TF
<i>p16^{INK4A}</i> ^b	9p21	familial melanoma	many types	CDK inhibitor
<i>p14^{ARF}</i> ^c	9p21	—	all types	p53 stabilizer
<i>PTC</i>	9q22.3	nevoid basal cell carcinoma syndrome	medulloblastomas	receptor for hedgehog GF
<i>TSC1</i>	9q34	tuberous sclerosis	—	inhibitor of mTOR ^f
<i>BMPR1</i>	10q21–22	juvenile polyposis	—	BMP receptor
<i>PTEN</i> ^d	10q23.3	Cowden's disease, breast and gastrointestinal carcinomas	glioblastoma; prostate, breast, and thyroid carcinomas	PIP ₃ phosphatase
<i>WT1</i>	11p13	Wilms tumor	Wilms tumor	TF
<i>MEN1</i>	11p13	multiple endocrine neoplasia	—	histone modification, transcriptional repressor

Name of gene	Chromosomal location	Familial cancer syndrome	Sporadic cancer	Function of protein
<i>BWS/CDKN1C</i>	11p15.5	Beckwith–Wiedemann syndrome	—	p57 ^{Kip2} CDK inhibitor
<i>SDHD</i>	11q23	familial paraganglioma	pheochromocytoma	mitochondrial protein ^e
<i>RB</i>	13q14	retinoblastoma, osteosarcoma	retinoblastoma; sarcomas; bladder, breast, esophageal, and lung carcinomas	transcriptional repression; control of E2Fs
<i>TSC2</i>	16p13	tuberous sclerosis	—	inhibitor of mTOR ^f
<i>CBP</i>	16p13.3	Rubinstein–Taybi	AML ^g	TF co-activator
<i>CYLD</i>	16q12–13	cylindromatosis	—	deubiquitinating enzyme
<i>CDH1</i>	16q22.1	familial gastric carcinoma	invasive cancers	cell–cell adhesion
<i>BHD</i>	17p11.2	Birt–Hogg–Dube syndrome	kidney carcinomas, hamartomas	unknown
<i>TP53</i>	17p13.1	Li–Fraumeni syndrome	many types	TF
<i>NF1</i>	17q11.2	neurofibromatosis type 1	colon carcinoma, astrocytoma	Ras-GAP
<i>BECN1</i>	17q21.3	—	breast, ovarian, prostate	autophagy
<i>PRKAR1A</i>	17.q22–24	multiple endocrine neoplasia ^h	multiple endocrine tumors	subunit of PKA
<i>DPC4ⁱ</i>	18q21.1	juvenile polyposis	pancreatic and colon carcinomas	TGF- β TF
<i>LKB1/STK11</i>	19p13.3	Peutz–Jegher syndrome	hamartomatous colonic polyps	serine/threonine kinase
<i>RUNX1</i>	21q22.12	familial platelet disorder	AML	TF
<i>SNF5^j</i>	22q11.2	rhabdoid predisposition syndrome	malignant rhabdoid tumors	chromosome remodeling
<i>NF2</i>	22q12.2	neurofibroma-position syndrome	schwannoma, meningioma; ependymoma	cytoskeleton–membrane linkage