

Наставна јединица 06

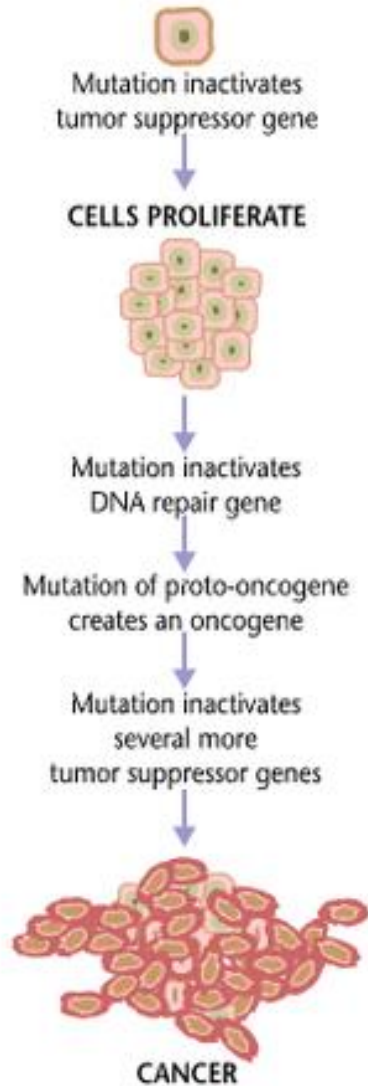
ТУМОР СУПРЕСОРСКИ ГЕНИ 2

Неспецифични механизми спречавања акумулирања генетских промена

- Ткива у људском организму су тако организована да **спречавају акумулацију ћелија са оштећеним генетским материјалом**:
 - ћелије које су у константном контакту са факторима спољашње средине (ћелије коже, ГИТ-а и бронхијалног епитела) имају кратак животно циклус са брзом елиминацијом диферентованих ћелија које су директно изложене потенцијално штетним ноксама.
 - у ткивима као што је колон, матичне ћелије су заштићене у криптама.
- Ипак, овај систем није савршен.

Специфични механизми спречавања акумулирања генетских промена

- И поред многобројних механизма заштите од оштећења генетског материјала, у ћелијама се дешавају генетске промене које избегну детекцију.
- Један од начина настанка генетских промена подразумева **инактивацију сигналне мреже за детекцију и исправку оштећења ДНК**.
- Континуираност ћелијских циклуса и нереаговање на генетске промене омогућиће акумулацију оштећења ДНК која могу да индукују онкогенезу.



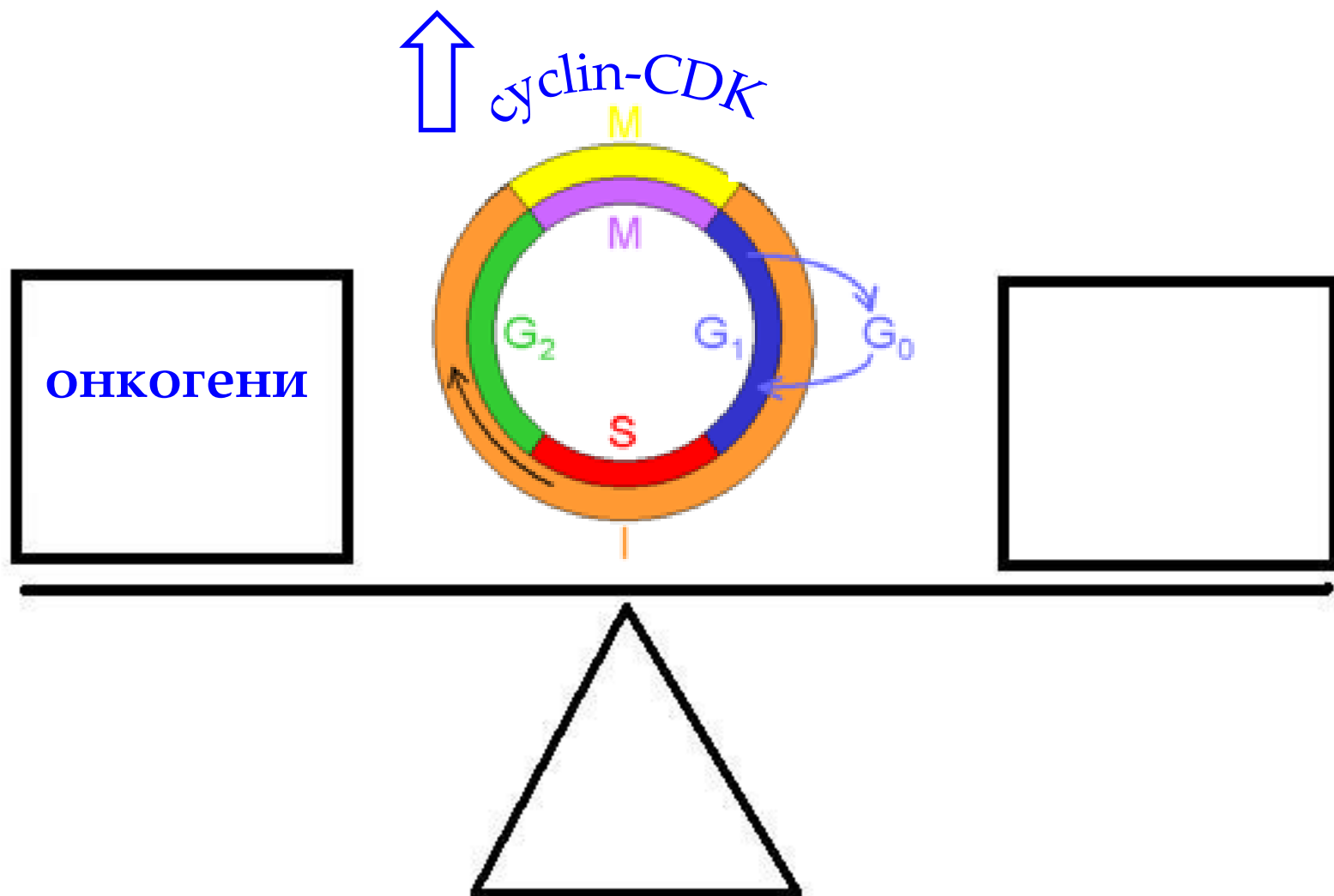
- Онкогенеза је сложен процес који, у суштини, подразумева неадекватну **активацију онкогена** и **инактивацију** (губитак функције) друге врсте гена односно **тумор-супресорских гена**.
- Настанак тумора је резултат акумулације генетских мутација које узрокују «неконтролисану» пролиферацију ћелије које постају **имортилизоване** и следствено способне да инвадирају и метастазирају у друга ткива.

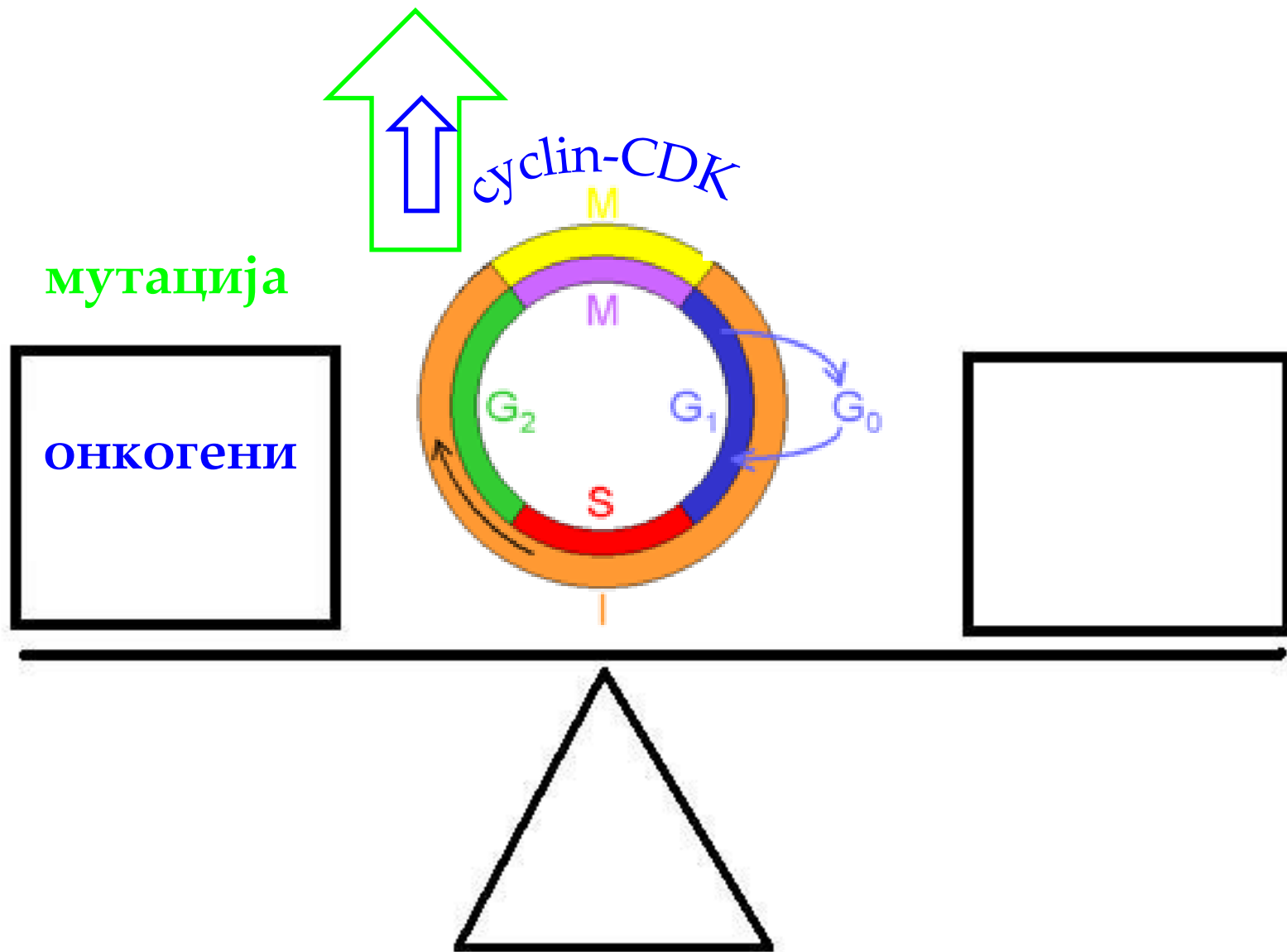
Континуирана пролиферација-имортиализација ћелије

- Бовери 1902.: тумори настају због промена у хромозомима у ћелији.
- Наредних пола века: промене у једном или више гена могу бити удружене са малигнитетима.
- Неке генетске промене → престанак диференцијације → формирање недиферентованих ћелија са капацитетом **самообнављања**.
- Друге, пак, **блокирају апоптозу**, омогућавајући дужи век ћелије.
- Овакве генетске промене индукују:
 - трајну активацију сигналних путева за ћелијски раст (пролиферација)
 - супресију умирања ћелија (апоптоза)
 - промене у механизмима контроле оштећења ДНК
- Наведени процеси за последицу имају „неконтролисан“ раст ћелија и продужен животни век ћелије → **имортиализација**.

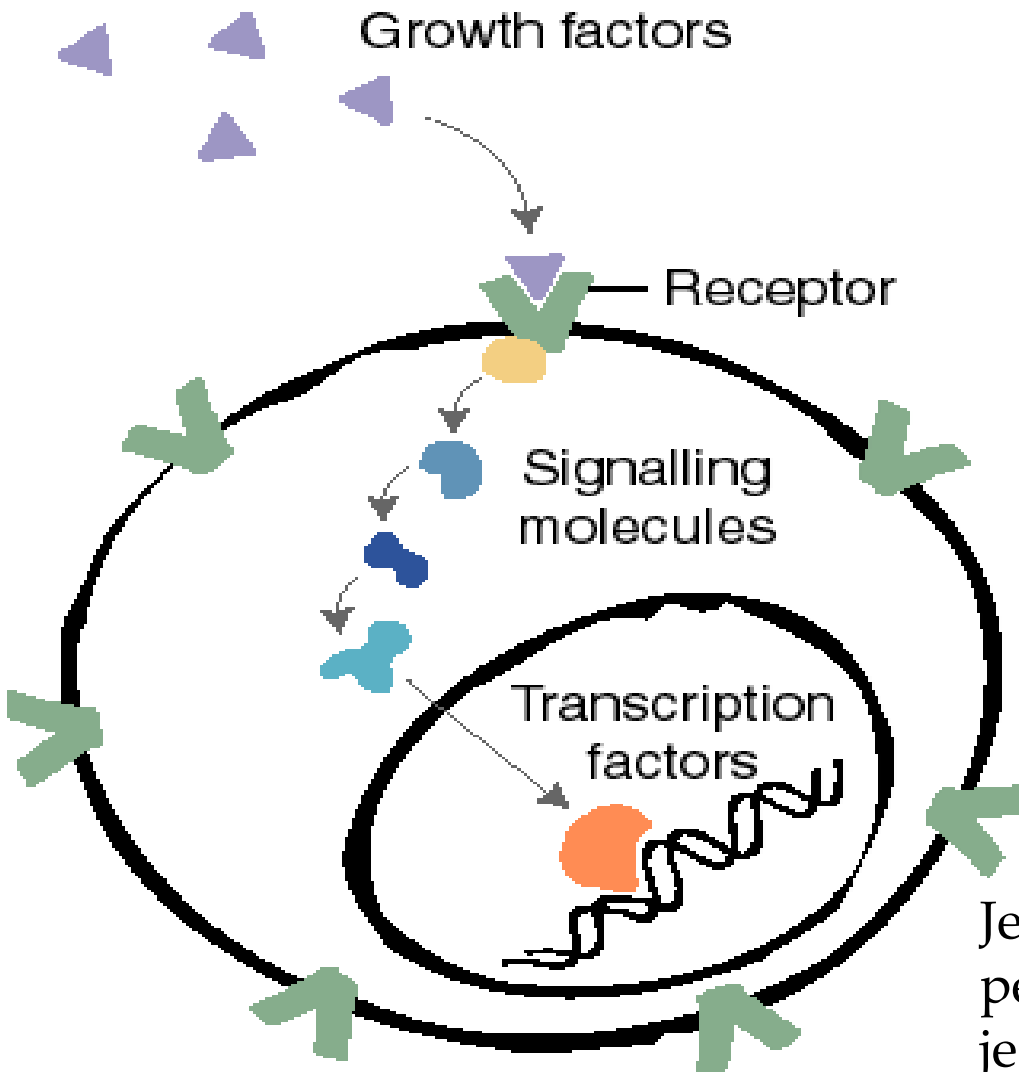
Континуирана пролиферација-имортализација ћелије

- Тумор је делом болест „неконтролисане пролиферације“.
- Ћелијска пролиферација је строго регулисан процес
- Туморгенезу карактеришу мутације и промене у регулацији активности гена за:
 - контролу оштећења ДНК
 - регулацију ћелијског циклуса
- Гени који након мутације показују појачану функцију која убрзава раст ћелије и малигну трансформацију називају се **онкогени** (прото- онкогени). Неадекватна експресија ових гена може покренути настанак тумора.





да се подсетимо...



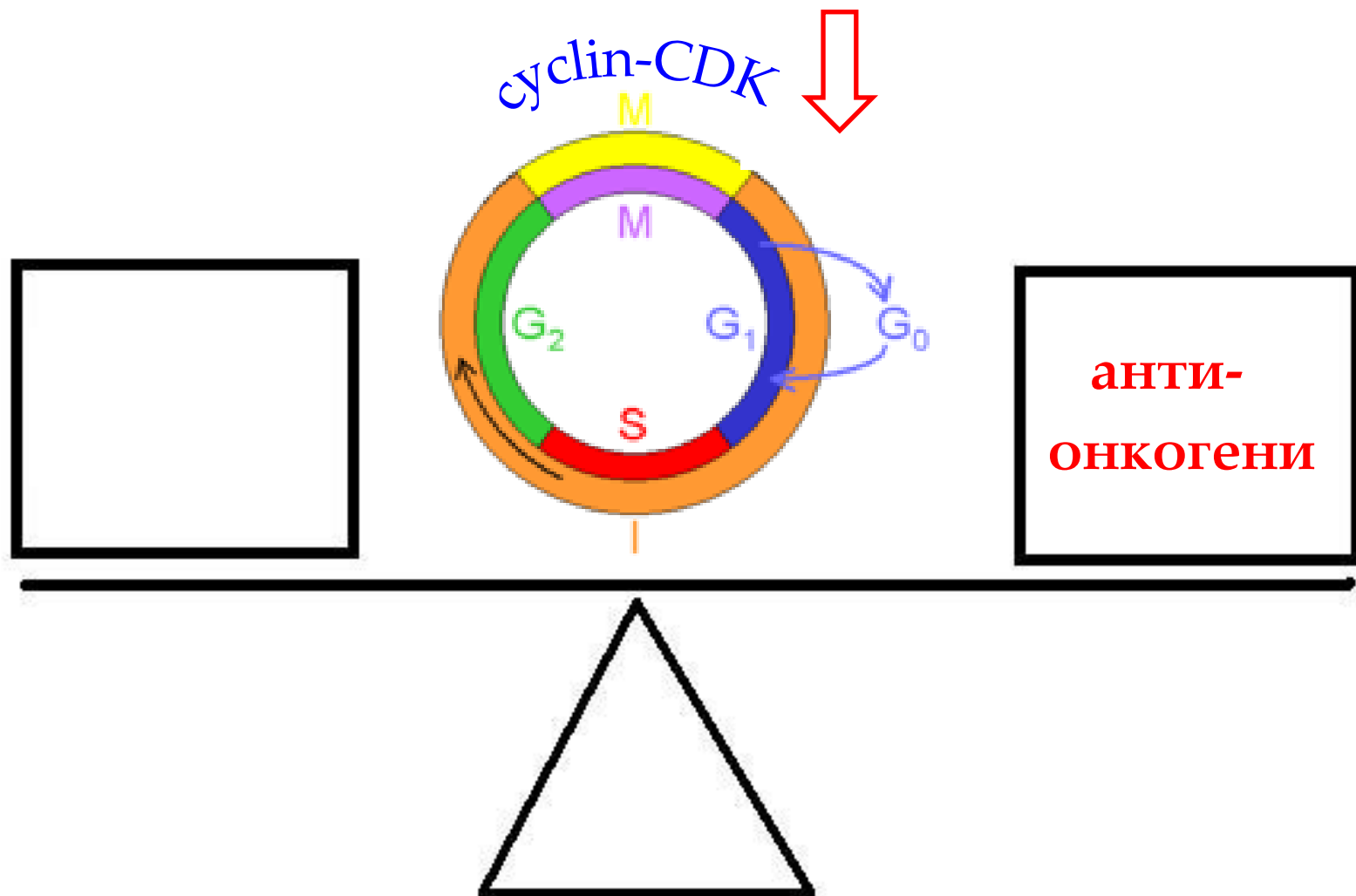
ОНКОГЕНИ кодирају:

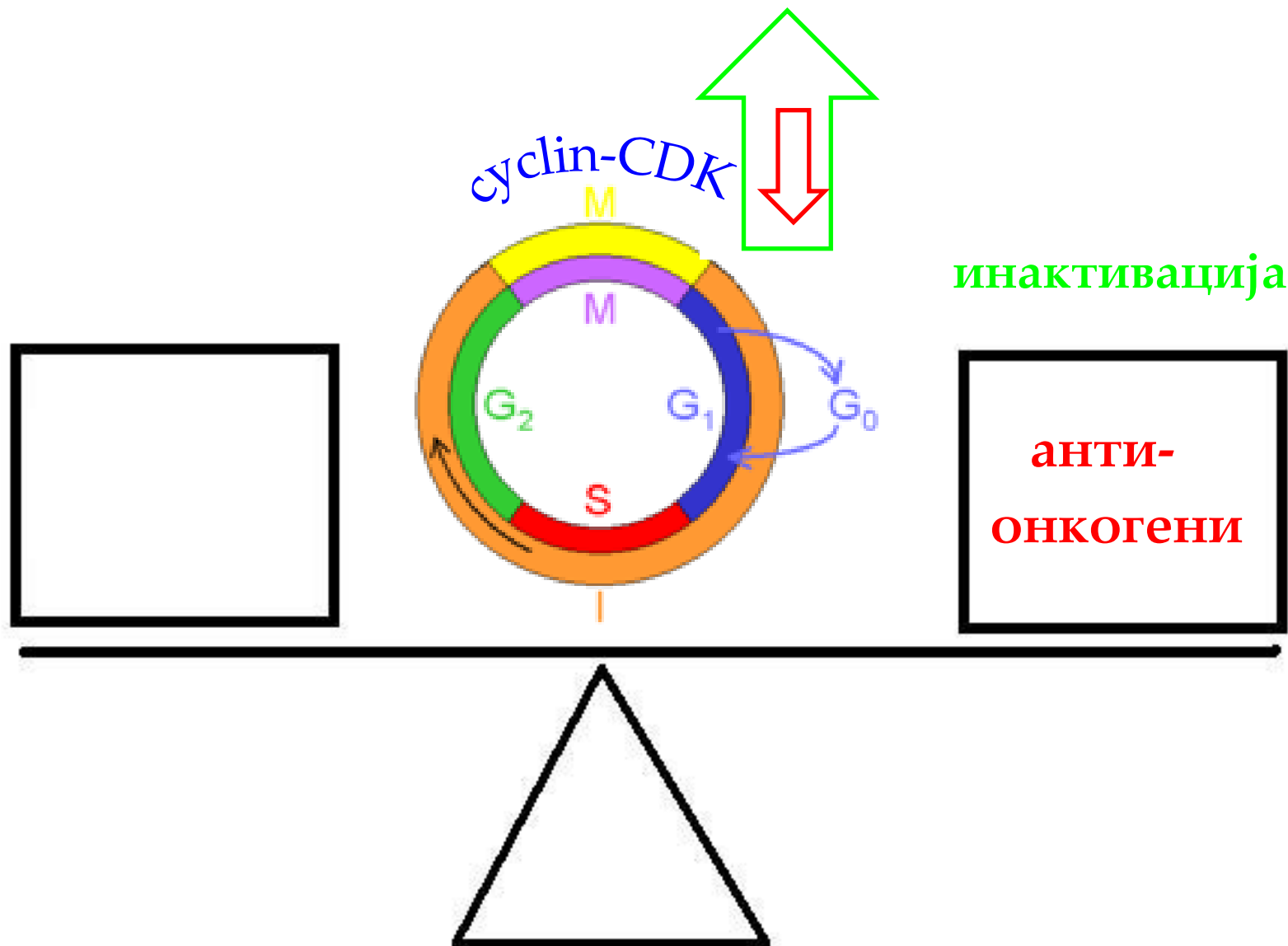
факторе раста
рецепторе за факторе
раста
трансдукторе сигнала
транскрипционе факторе

Један од узрока поремећаја у
регулацији ћелијске пролиферације
је хиперактивност протоонкогена

Тумор-супресор гени

- Тумор-супресорски гени су врло осетљиви на критична оштећења ДНК.
- Представљају значајну физиолошку баријеру за клонску експанзију или генетске мутације.
- Способни су да спрече раст и метастазирање ћелија које су покренуте неконтролисаном пролиферацијом посредованом онкогенима.





Тумор-супресор гени

- Доприносе онкогенези губитком своје функције.
- Ови гени, у које спадају и ретинобластом ген (Rb-1) и p53, заустављају ћелијску пролиферацију.
- Rb-1 ген инхибира дејство значајног транскрипционог фактора E2F, и делеција Rb гена (која се виђа код наследног ретинобластома) ослобађа E2F супресије.
- Са друге стране, p53 појачава експресију p21/Cip1, који као супресор циклн зависних киназа зауставља даљу пролиферацију.

Тумор-супресор гени

- 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**.

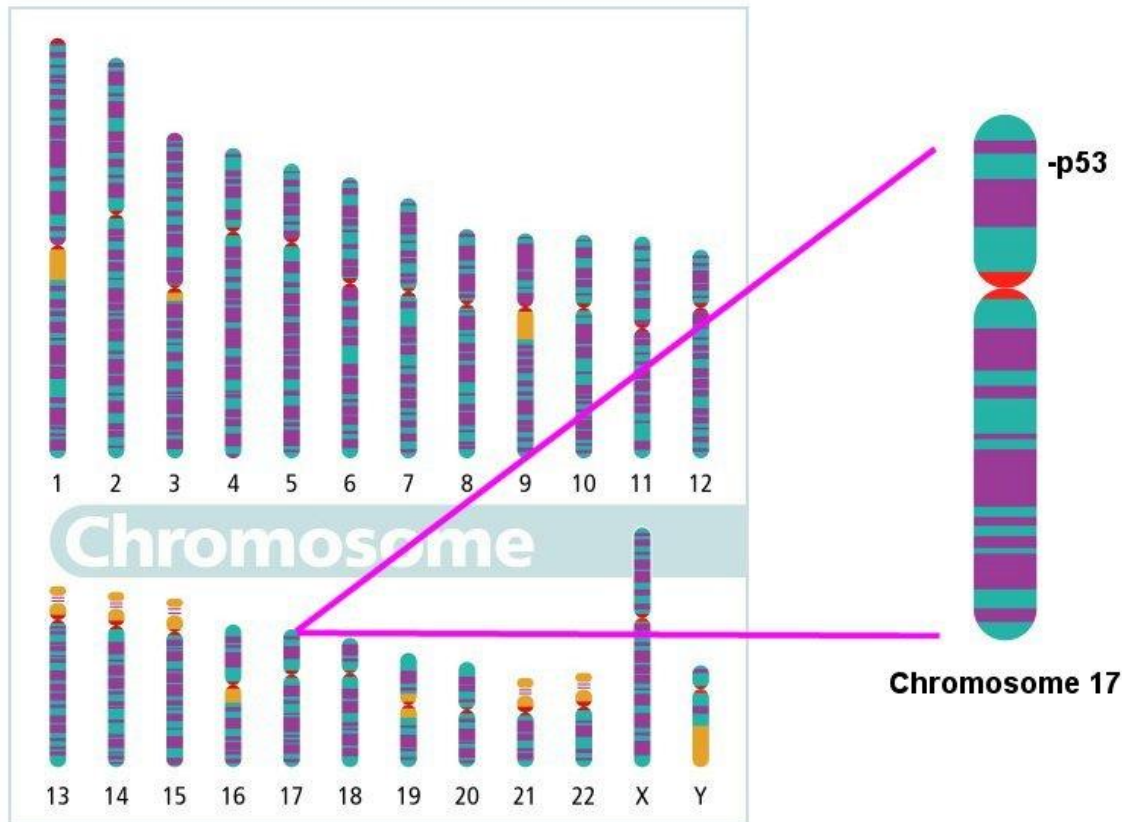
Тумор-супресор гени

- Активност тумор-супресорских гена може бити неутралисана и интеракцијом са другим ћелијским протеинима или са вирусним онкопротеинима.
- Мутације p53 гена директно мењају функцију p53 протеина, али његова функција може бити измењена и под утицајем неких онкогена.
- Повећана експресија онкогена некада узрокује секвестрацију или дестабилизацију нормалног облика p53 протеина инактивирајући његову тумор-супресорску активност.
- Мутације p53 гена присутне су код приближно 50% хуманих малигнома.

p53- чувар генома

- p53 је прототип анти-онкогена са улогом у онкогенези
- Продукт нормалног p53 гена (*wild-type* p53) је транскрипциони фактор:
 - регулација транскрипције гена
 - међупротеинске интеракције
- У нормалним ћелијама, p53 се ствара и разграђује континуирано, а полуживот протеина је око **30 минута**.
- Када је геном оштећен, p53 постаје стабилизован и повећава се концентрација у ћелији до десет пута као и полуживот на **24 часа**.

Тумор супресор ген p53 је лоциран на хромозому 17p13 и један је од најчешће мутираних гена у хуманим карциномима



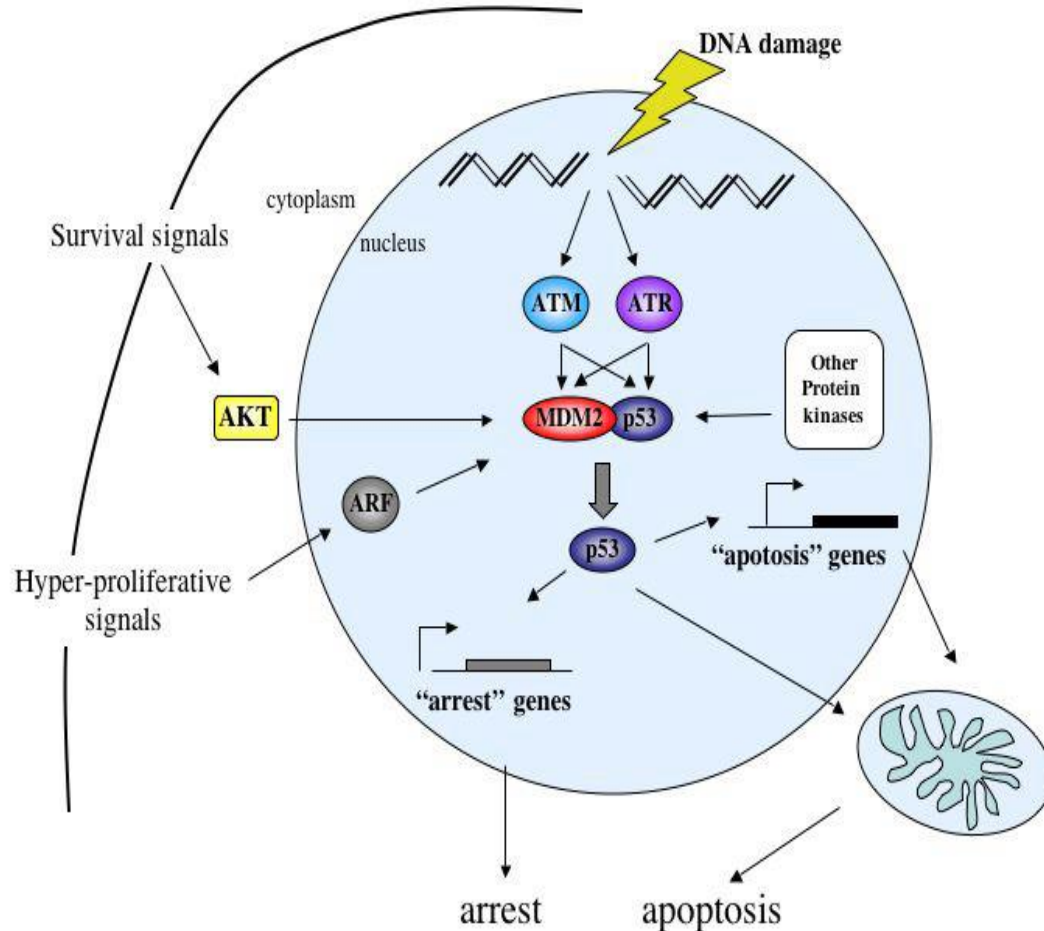
p53- чувар генома

- надзор контролних тачака у S и M-фази
- осетљив на оштећење DNA
- привремено заустављање ћелијске деобе омогућавајући ензимима система за поправку DNA да исправе грешку
- У случају великог оштећења индукује:
 - апоптозу или
 - иреверзибилно заустављање ћелијске деобе тзв. "репликативна старост" (енгл. *senescence*).

p53- чувар генома

- или елиминише или онемогућава даљу деобу генетски измењених ћелија (са мутацијама онкогена или тумор-супресорских гена)
- спречава акумулацију промена које представљају ризик за развој тумора.
- UV зрачење и прекид дволанчане ДНК уз помоћ АТМ протеина и других ДНК зависних киназа индукују експресију p53.

p53- чувар генома



- p53 ↑ Cip/Kip-p21
- Cip/Kip-p21 ↓ cdk2; 4, 6
- G1 arrest
- p53 ↑ BAX, FAS, ☠

p53- чувар генома

Про-апоптотично дејство p53 је двоструко:

- Са једне стране инхибира транскрипцију Bcl-2 (анти-апоптотског гена)
- Са друге стране индукује продукцију про-апоптотичног Вах протеина као и FAS-a и других рецептора смрти из фамилије фактора некрозе тумора.
- Крајњи исход про-апоптотичног дејства p53 је елиминација ћелија са генетски измењеним материјалом.

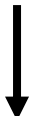
Оштећење DNA



АТМ/R



Chk2

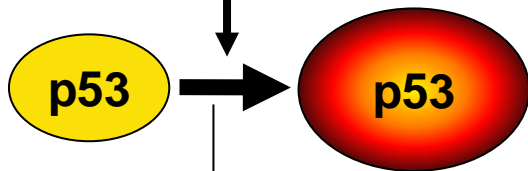


p53



p53

Активација p53



Оштећење DNA



ATM/R



Chk2



p53



p53

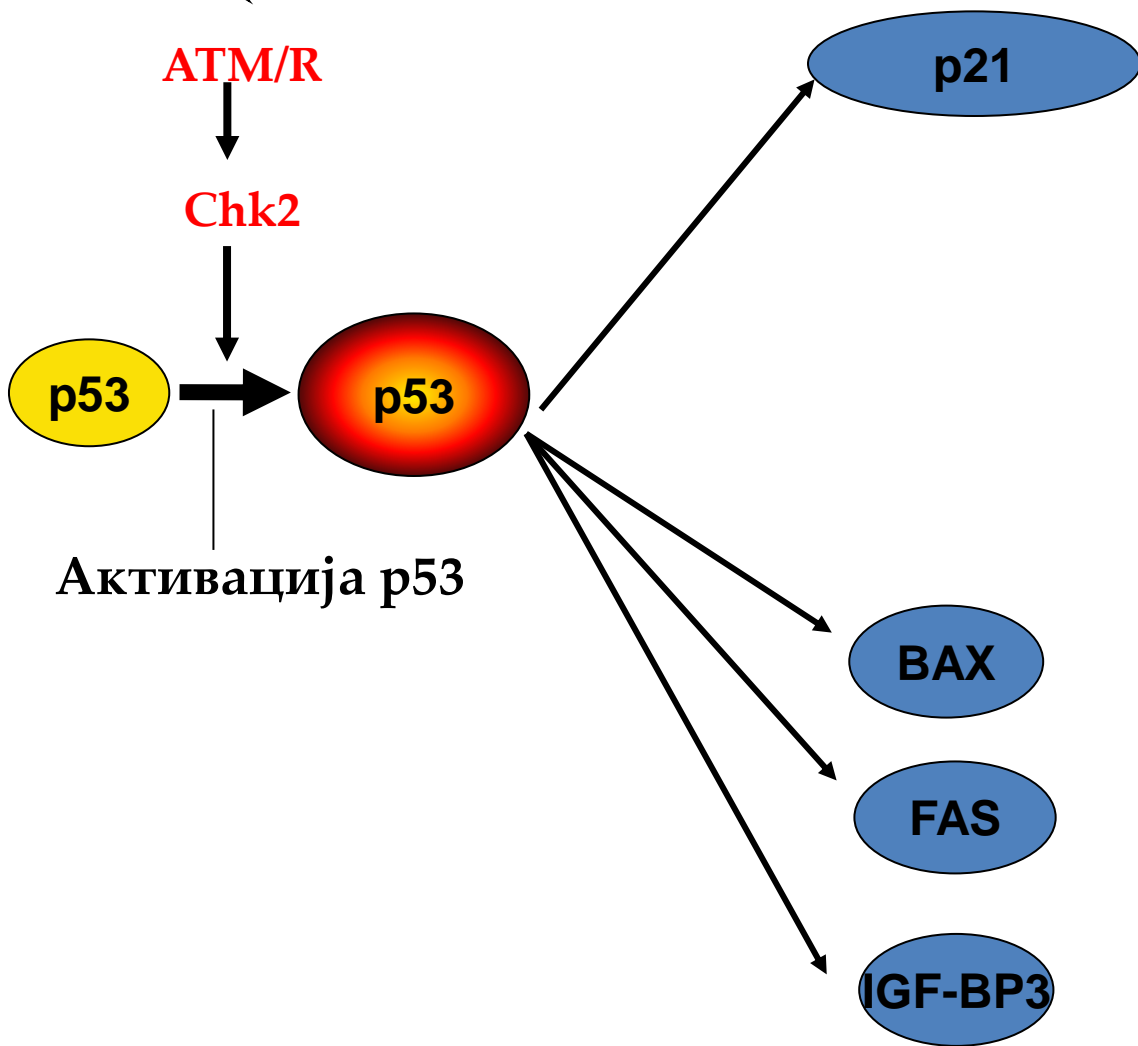
Активација p53

p21

BAX

FAS

IGF-BP3



Оштећење DNA



ATM/R



Chk2



p53



p53

Активација p53



p21

G1 Arrest

инактивни pRB

активни E2F

Експресија
гена S-фазе



BAX

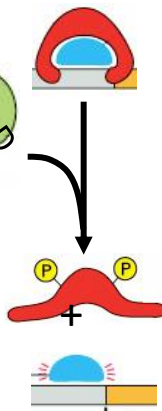


FAS



IGF-BP3

апоптоза

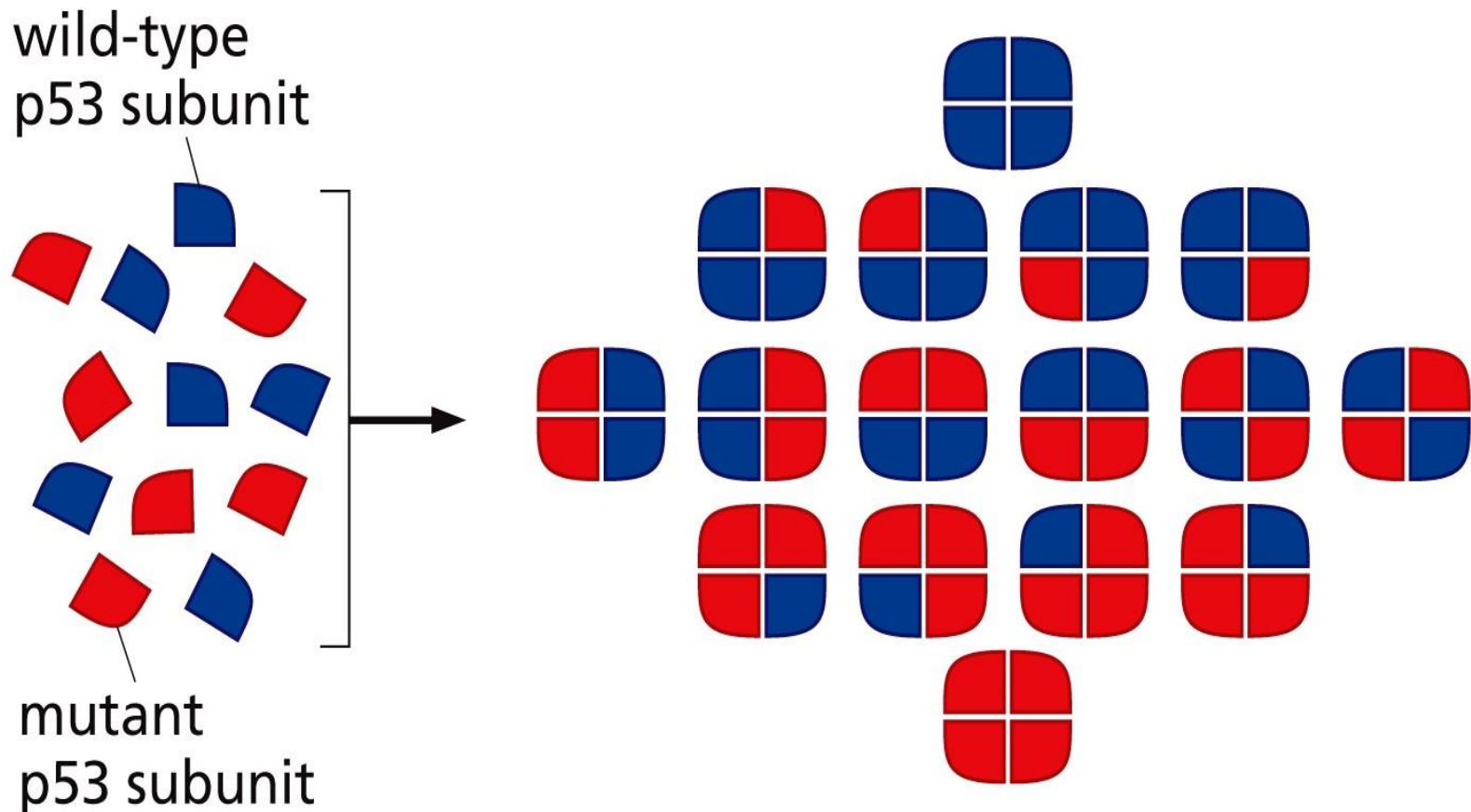


p53

- *Missense* мутације
- *Nonsense* мутације
- Туморске ћелије имају више користи од присуства незнатно измењеног p53 протеина, него од његовог комплетног одсуства
- „dominant-interfering“ или „dominant-negative“ алел
- p53- хомотетрамер
- Мутантни p53 алел активно интерферира са континуирано функционалним „wild type p53“ алелом, експримираним у истој ћелији.

p53

- Тетрамер садржи мешавину мутираног и wild type протеина у различитим пропорцијама.



p53

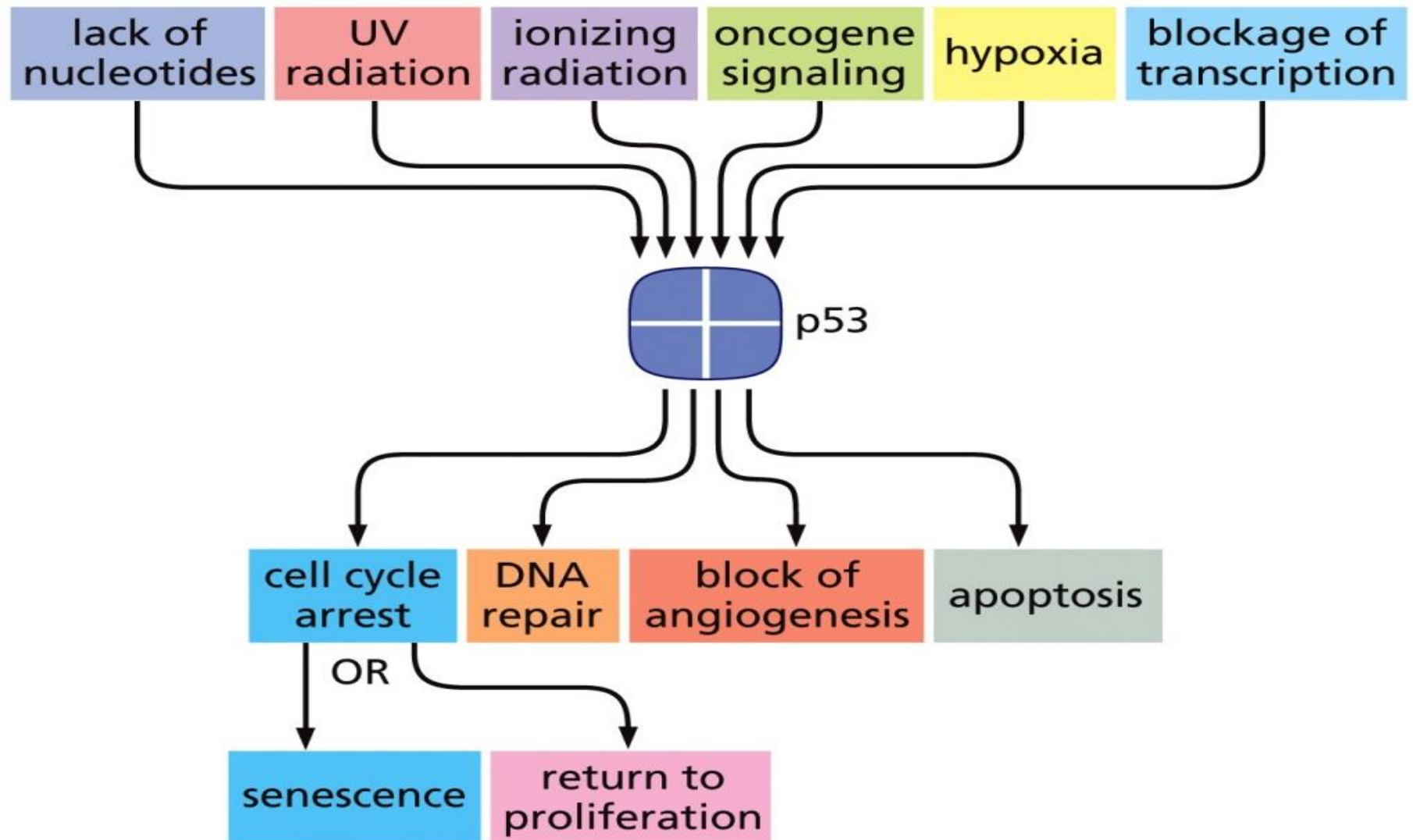
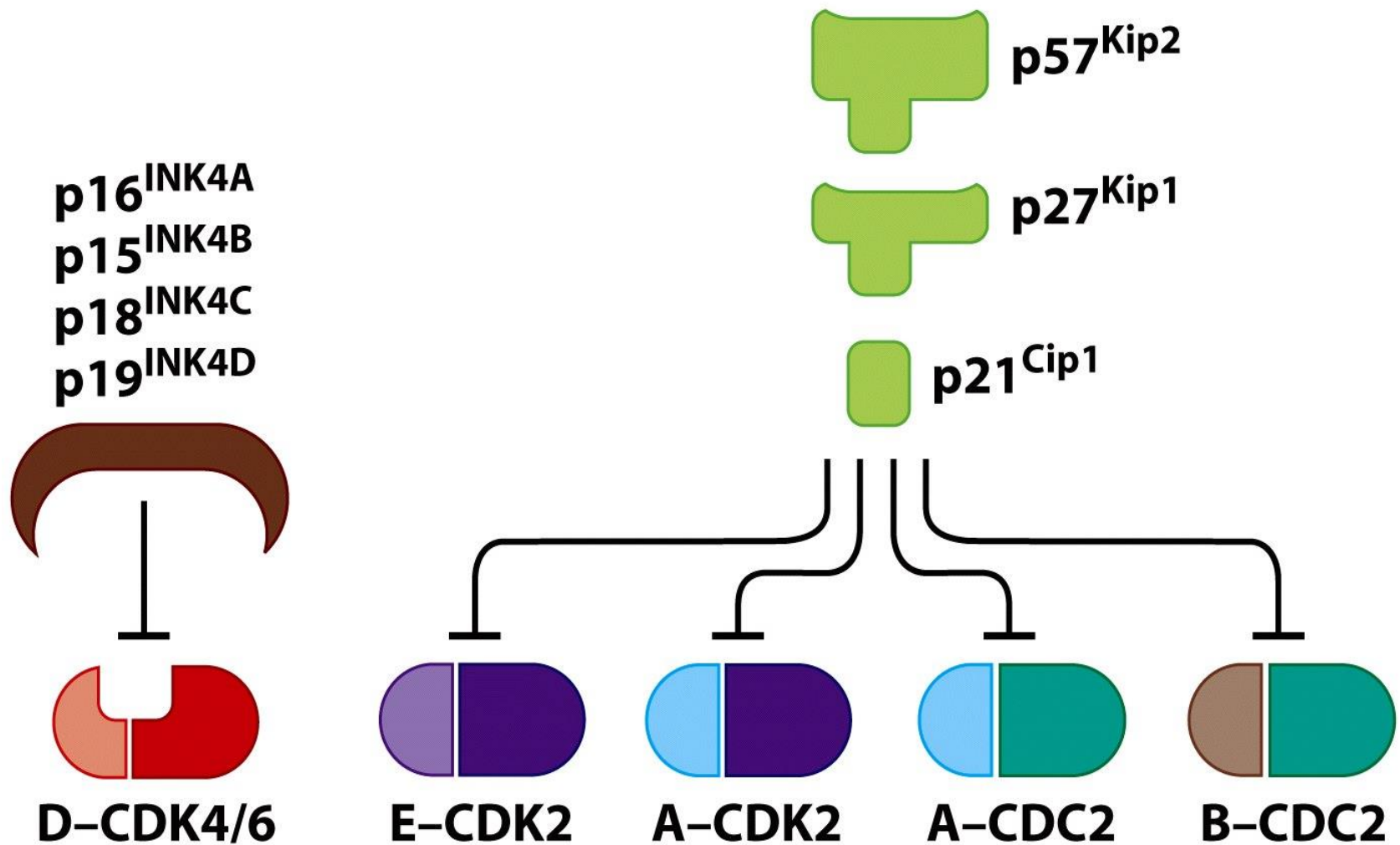


Figure 9.8 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Инхибитори циклин зависних киназа (CDK инхибитори)

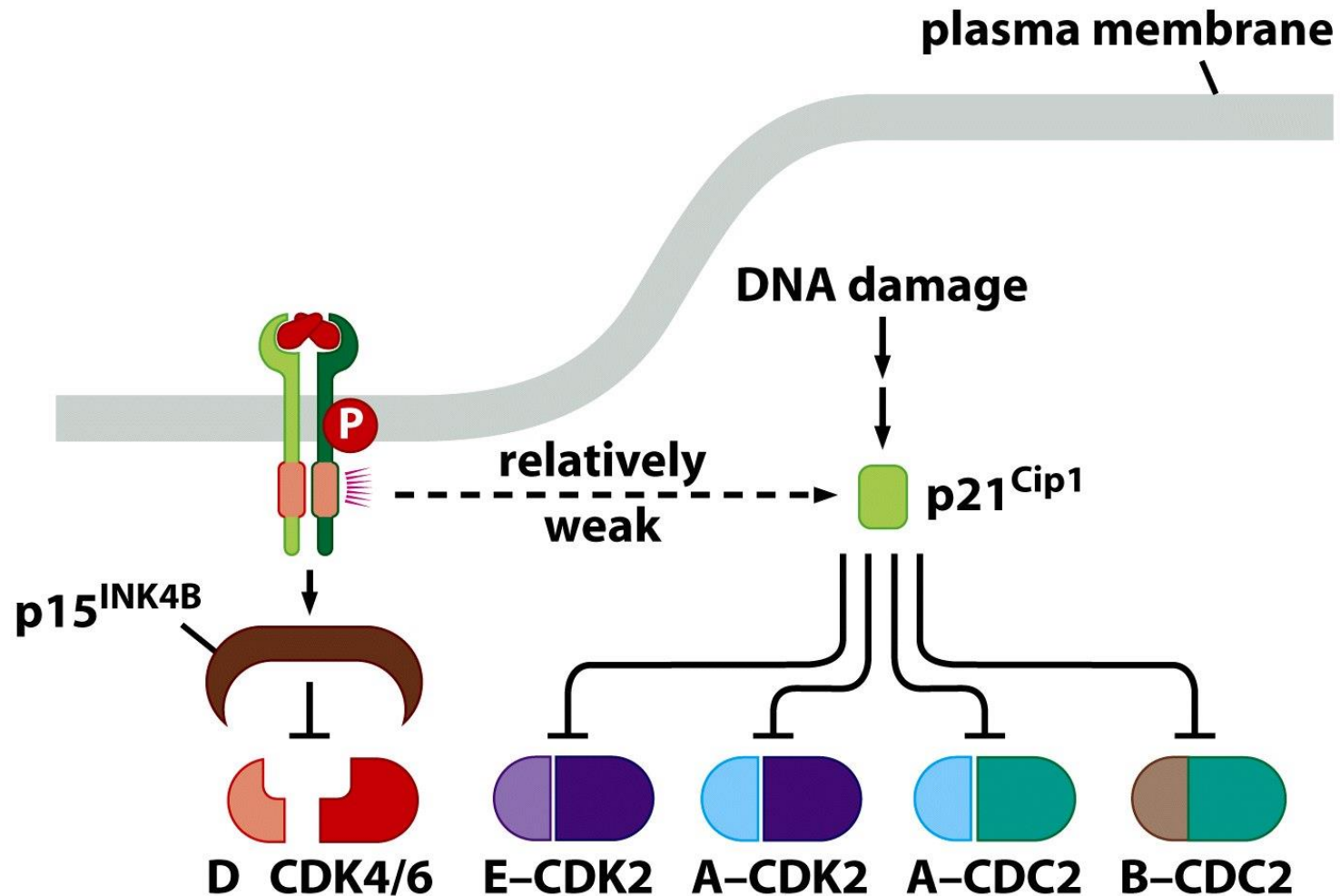
- 7 протеина који могу да антагонизују активности циклин- CDK комплекса:
- 4 протеина су специфични инхибитори циклин зависне киназе 4 (CDK4) познати и као INK4 протеини (енгл. *inhibitors of CDK4*). Њихова мета су CDK4 и CDK6 комплекси и немају утицај на CDK2. У ове инхибиторе спадају $p16^{INK4A}$, $p15^{INK4B}$, $p18^{INK4C}$, и $p19^{INK4D}$.
- Три преостала инхибитора су неспецифични. У њих спадају $p21$, $p27$ и $p57$ и инхибирају више различитих циклин- CDK комплекса који настају током наредних фаза ћелијског циклуса.

Активност инхибитора CDK



- $TGF-\beta$ → рецептор на епителним ћелијама → многобројни сигнални путеви који антагонизују ћелијску пролиферацију:
- повећање нивоа $p15^{INK4B}$ → блокира формирање **циклин D- CDK4/6** и инхибира већ постојеће комплексе.
- Без активних **циклин D- CDK4/6** комплекса, ћелија није у стању да „напредује“ из **G1** фазе ћелијског циклуса.

Механизми TGF- β контроле ћелијског циклуса



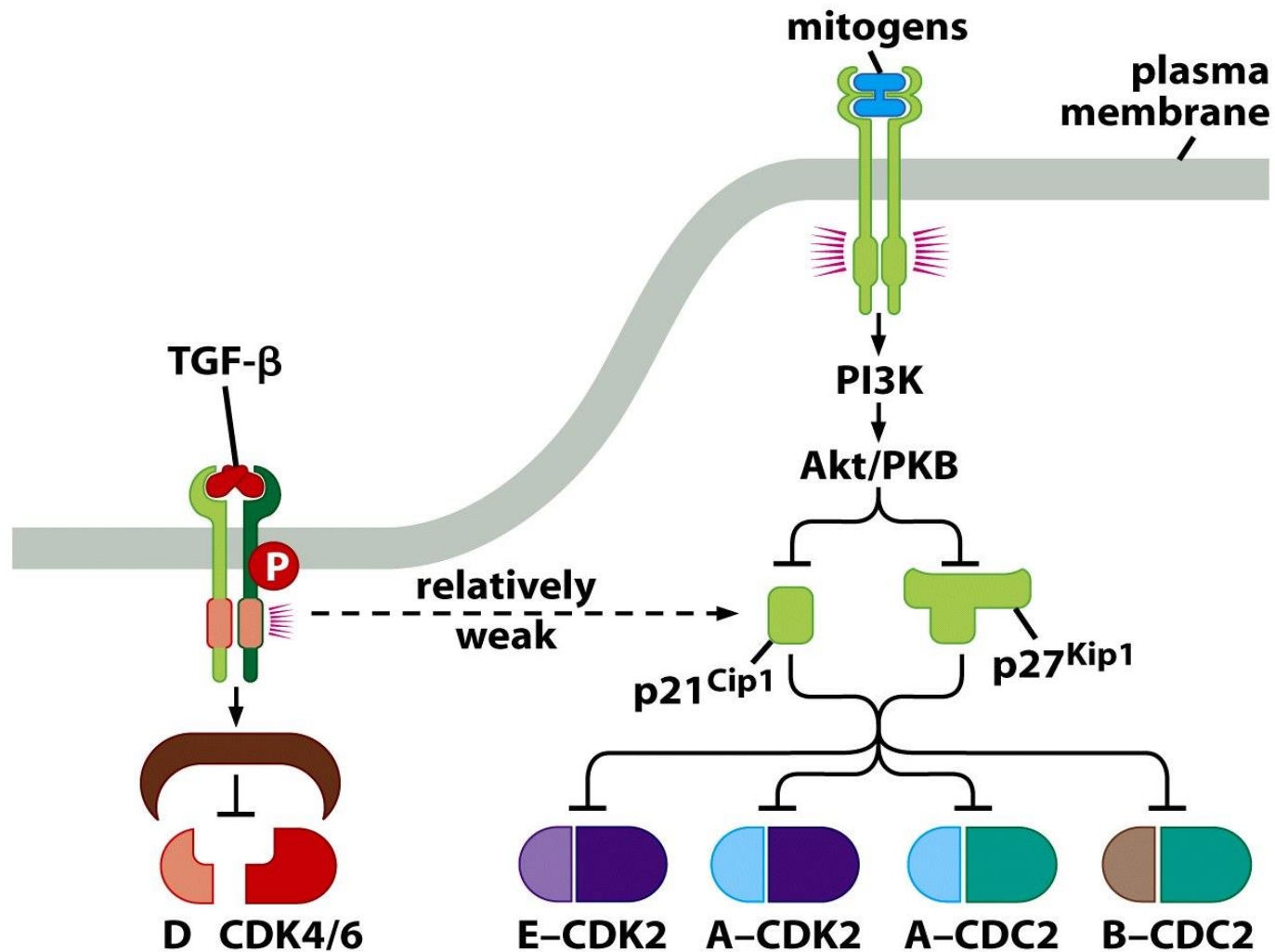
Механизми TGF- β контроле ћелијског циклуса

- Када ћелија „изађе“ из G1 фазе, активност циклин D-CDK4/6 комплекса постаје непотребна.
- TGF- β инхибира раст ћелија у раној G1 фази а губи већину (готово све) инхибиторних карактеристика када ћелија прође G1 фазу.
- TGF- β \rightarrow p21^{Cip1}, инхибитор CDK ширег дејства
- p21^{Cip1} настаје као одговор ћелије на различита оштећења (нпр. оштећење DNA)
- Када је присутан у значајној количини у ћелији, p21^{Cip1} делује у свим фазама ћелијског циклуса и зауставља даљи „напредак“ ћелије.

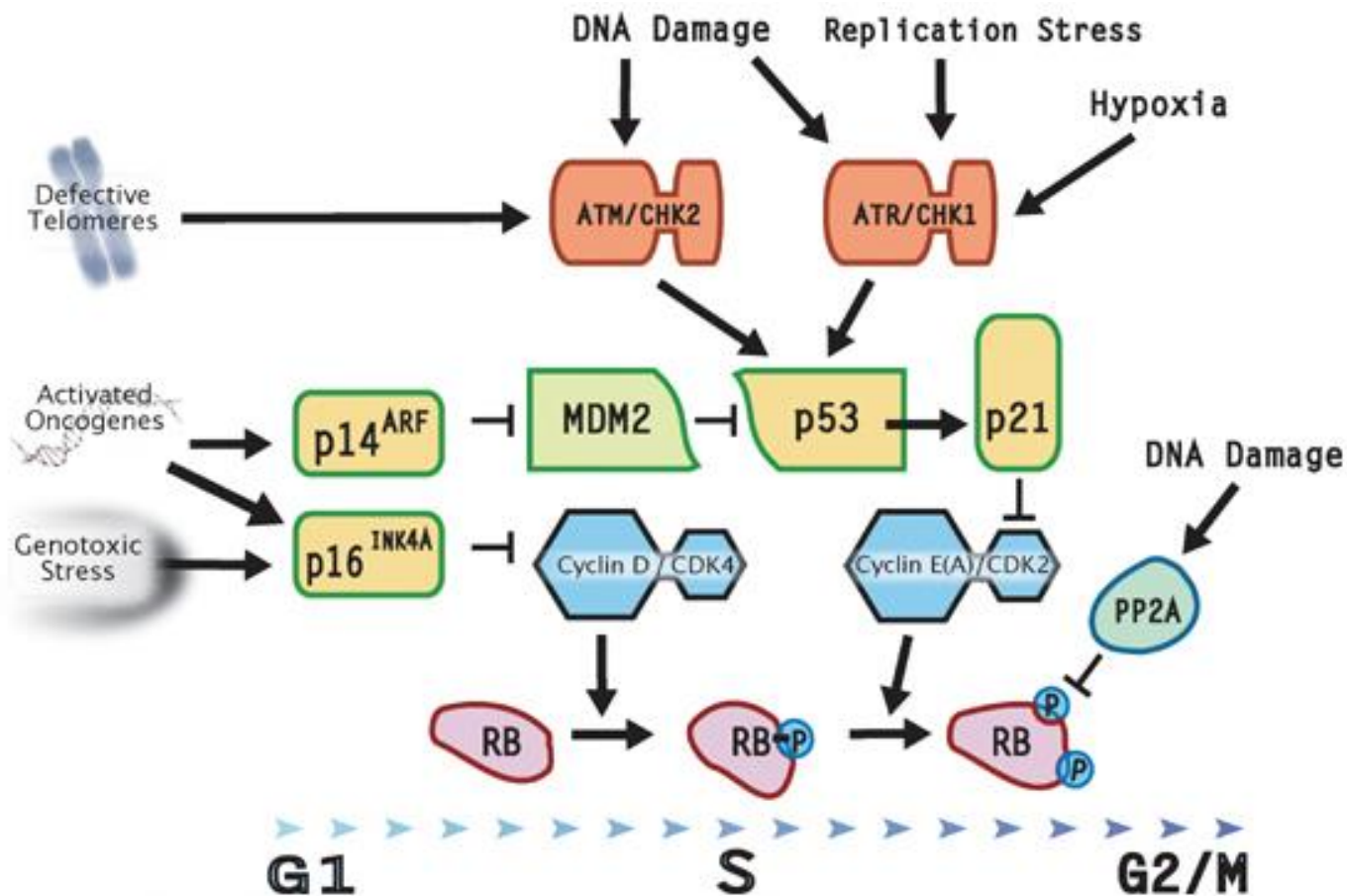
Митогени

- **оштећење DNA** и, у знатно мањој мери, **TGF- β** могу да повећају ниво p21^{Cip1} у ћелији и тако зауставе ћелијски циклус
- **митогени** имају супротно дејство:
- блокирају активност инхибитора CDK и убрзавају ћелијски циклус.
- Један од механизма дејства митогена је и преко фосфатидил-инозитол 3-киназног пута (PI3K).
- Akt/PKB, киназа која се активира нисходно у PI3K сигналном путу фосфорилише p21^{Cip1} молекуле локализоване у једру и узрокује њихов излазак из једра у цитоплазму, где не могу да инхибирају циклин- CDK комплексе.
- На сличан начин, Akt/PKB инхибира функцију и p27^{Kip1} молекула.
- У агресивним туморима, Akt/PKB киназа је веома активна, а инхибитори циклин- CDK комплекса се не налазе у једру, већ у цитоплазми.

Контрола ћелијског циклуса екстрацелуларним сигналимa



Улога антионкогена у регулацији ћелијског циклуса



Copyright © 2008 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

<http://www.youtube.com/watch?v=0GIOb76xPW4>

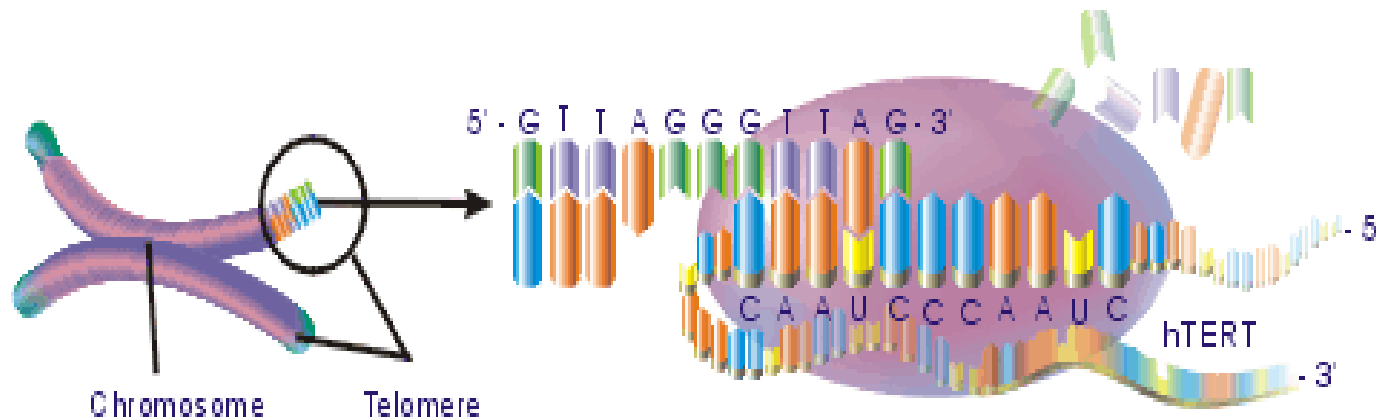
Имортализација и онкогенеза

„Смрт наступа зато што исцрпљено ткиво не може бескрајно да се обнавља и зато што је број ћелијских деоба појединачне ћелије коначан.“

August Weissmann, биолог 1881.

Имортализација и онкогенеза

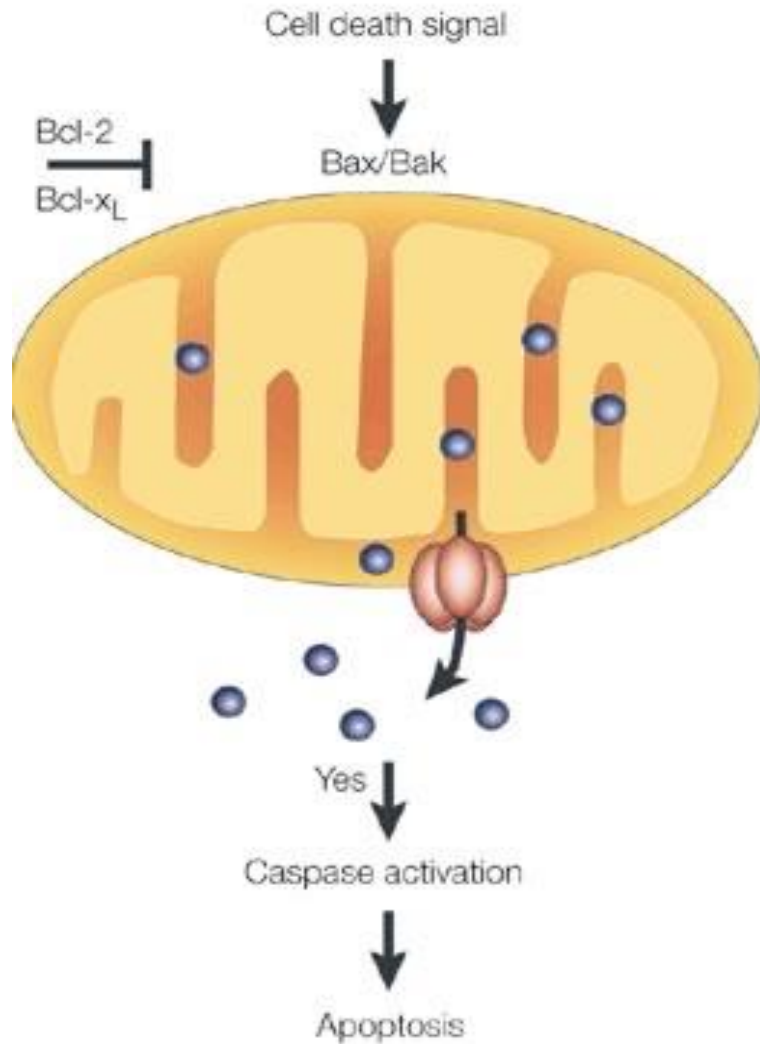
- 1960. Leonard Hayflick- лимитиран репликативни потенцијал (50- 100 деоба)
- **репликативна старост**- механизам заштите од малигнитета- **скраћење теломера**
- специјализовани нуклеопротеински комплекси- RNA прајмер за почетак репликације (25-200bp)
- 1932 Hermann Myollar, nobel prize winner "Telomere"



Имортализација и онкогенеза

- акумулирање инхибитора cdk
- заустављање ћелијског циклуса
- митотски сат (број деоба и животни век ћелије)
- појачана активност теломераза у већини примарних тумора
- потенцијалне мете у анти- туморској терапији

Инхибиција апоптозе



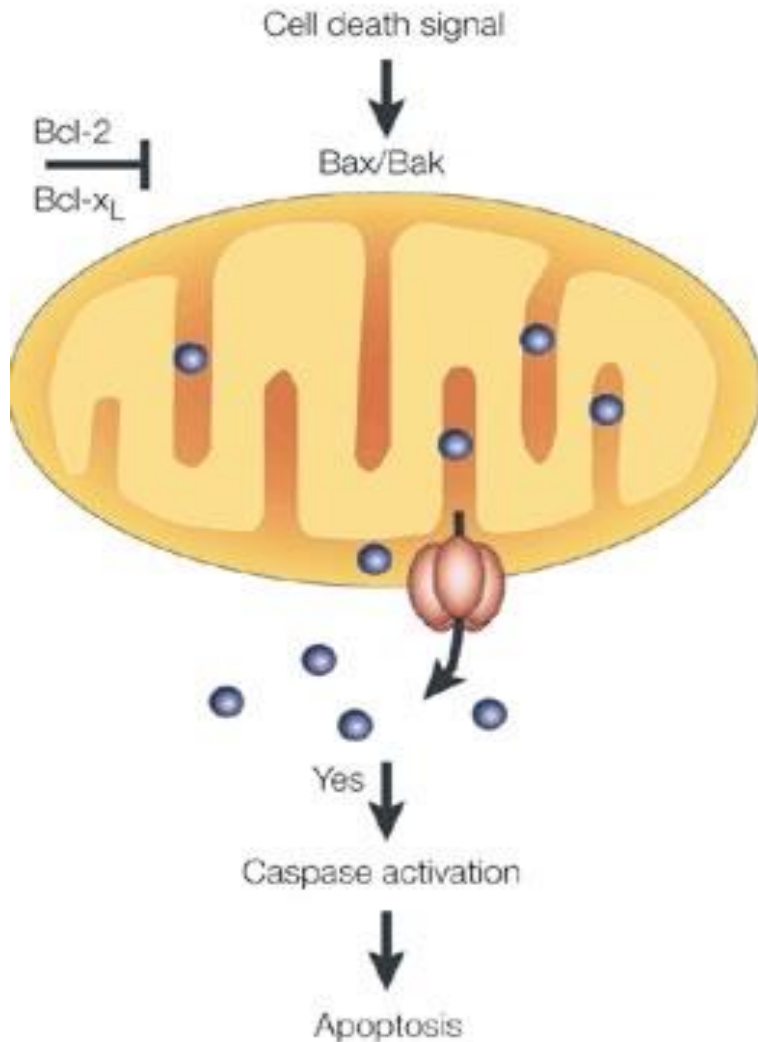
индукција апоптозе:

- када број мутација достигне критичан ниво
- под дејством цитокина (TNF)
- након оштећења DNA

Инхибиција апоптозе

- Малигна ћелија „држи механизме апоптозе под контролом“, односно блокира апоптозу преко анти-апоптотичних протеина Bcl фамилије.
- Први идентификован члан ове фамилије је **Bcl-2 ген** (од енгл. B Cell Lymphoma gene-2).

Инхибиција апоптозе



анти-апоптотични протеини Bcl
фамилије (**Bcl-2, Bcl-x**).

- инхибира апоптозу блокирањем функције про-апоптотичних протеина и чувањем интегритета митохондријалне мембране.
- лимфоми: ↑ Bcl-2
 - продужава живот ћелијама
 - омогућава акумулирање мутација и реаранжирање онкогена (c-myc)
 - кооперативно дејство **Bcl-2/c-myc**

Инхибиција апоптозе

- за развој малигнитета мора бити активно више од једног онкогена
- котрансфекција два плазмида (један за индукцију пролиферације, други за имортализацију) резултује трансформацијом.

Аутофагија

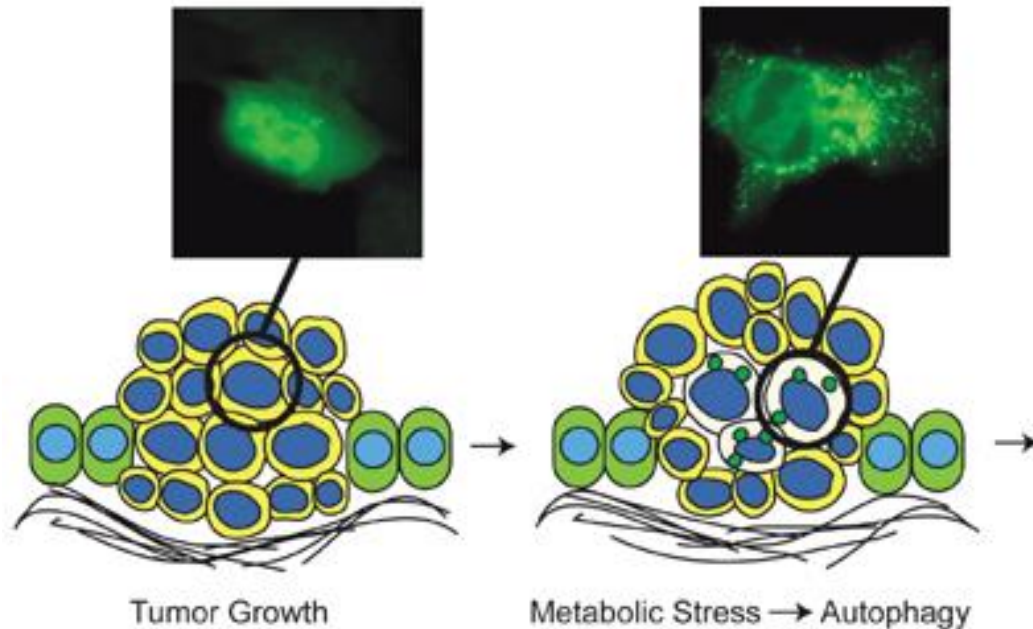
Рани стадијуми онкогенезе, аутофагија \Rightarrow тумор супресор

Виши ниво синтезе протеина за раст тумора

Инхибиција аутофагије \Rightarrow континуирани раст тумора

Аутофагија смањује стопу мутација и потискује онкогенезу елиминисањем оштећених органела које производе генотоксичне факторе као што су слободни радикали

Аутофагија

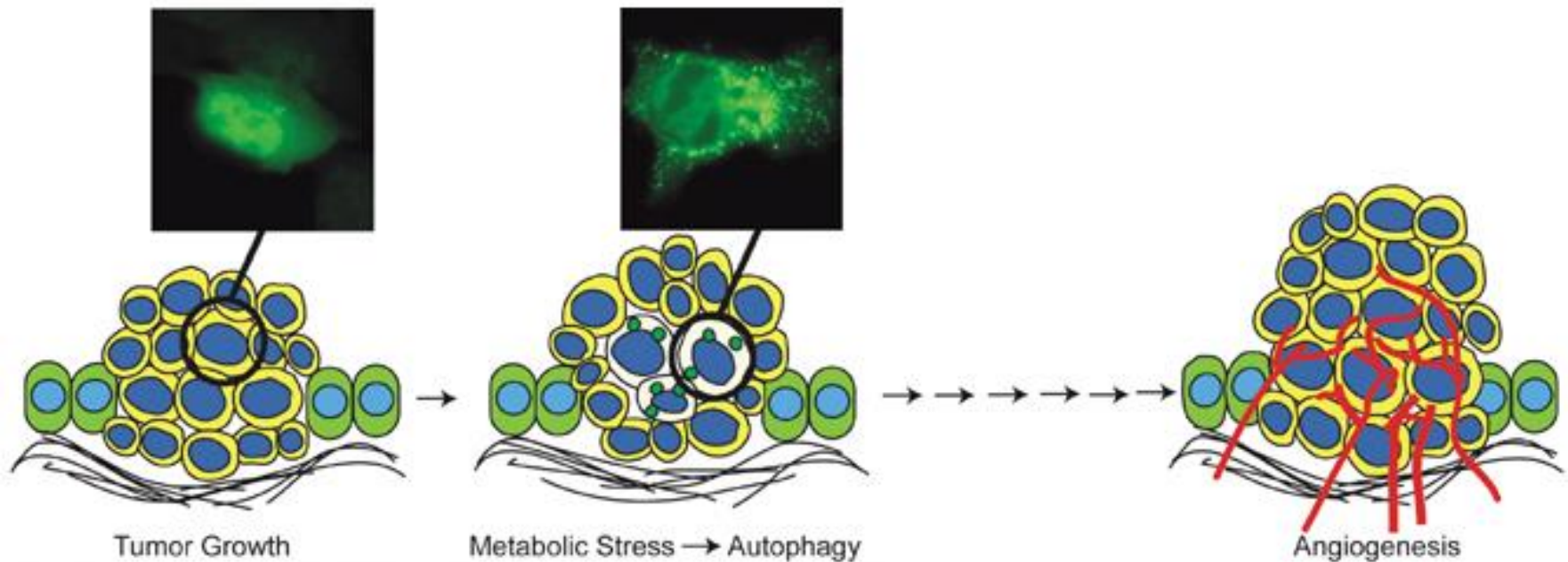


Copyright © 2008 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Ћелије епителних тумора брзо пролиферишу вишеслојно. Недовољна снабдевеност крвљу индукује метаболички стрес у деловима тумора најудаљенијим од хранљивих састојака и кисеоника, у унутрашњости тумора.

Туморске ћелије са дефектном апоптозом (инхибиција апоптозе), у регионима метаболичког стреса, могу да преживе **аутофагијом**.

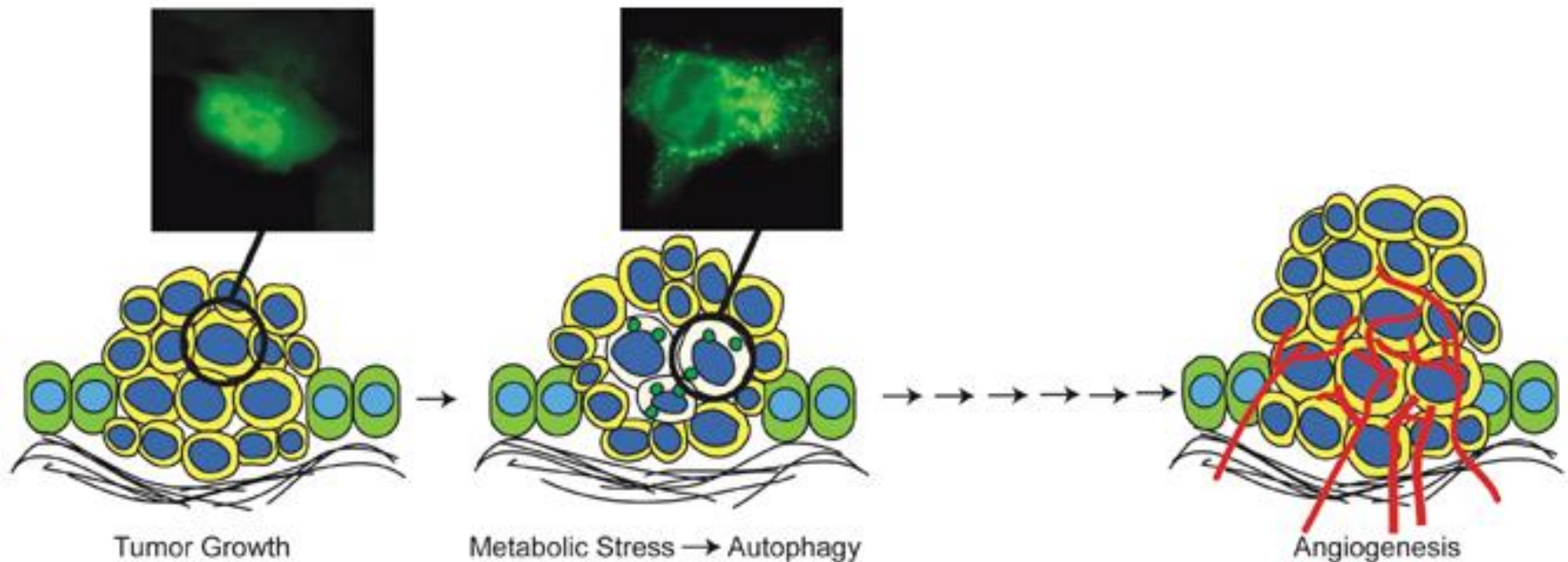
Аутофагија



Copyright © 2008 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Такође, аутофагија индукује **локалну неоангиогенезу**, кроз интензивирање пролиферације и миграције ендотелних ћелија, што олакшава раст и развој тумора.

Аутофагија



Copyright © 2008 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins

Међутим, аутофагија, као програмирана ћелијска смрт тип II игра улогу и у **елиминацији туморских ћелија**. Ген који кодира Beclin-1, главни протеин који покреће аутофагију, често је смањено експримиран у многим типовима тумора, а делеција овог гена код мишева значајно повећава инциденцу тумора.