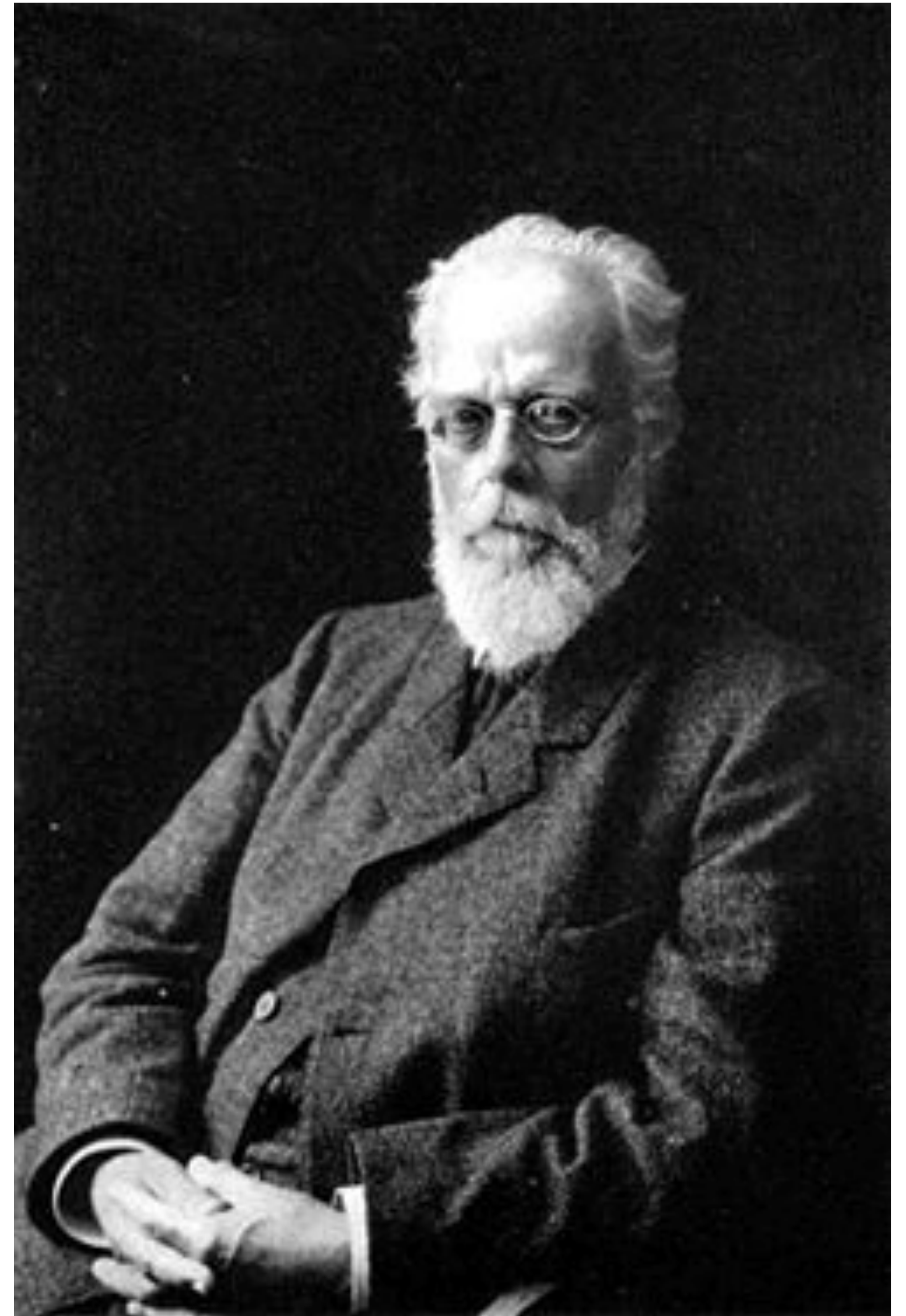


Genetyka nowotworów

Linia płciowa i soma

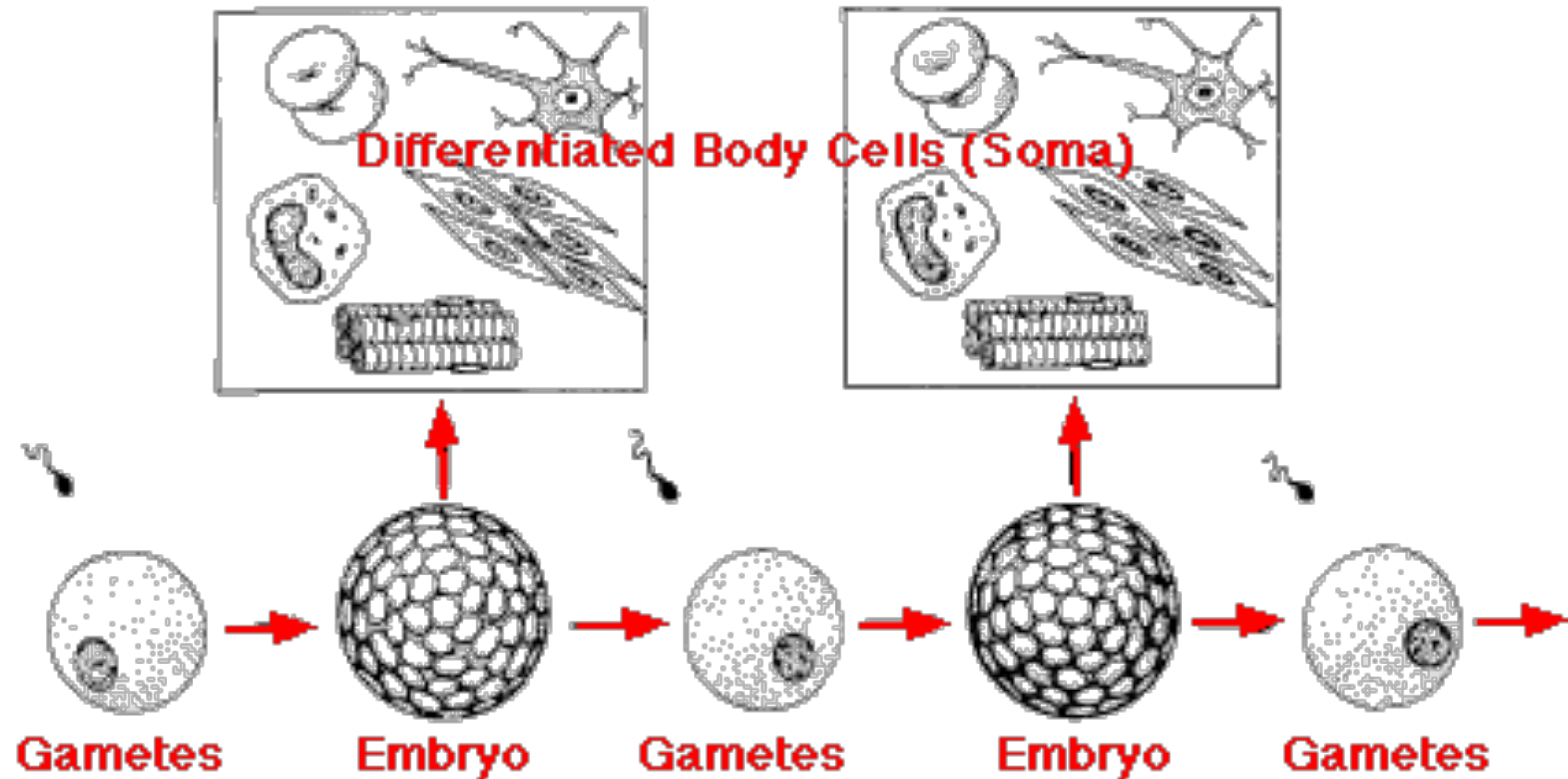
- U zwierząt są dwie grupy komórek
 - somatyczne - budują organizm, ale nie są przekazywane potomstwu
 - linii płciowej (plazmy zarodkowej) – tworzą gamety, ich genom przekazywany jest potomstwu
- Komórki somatyczne mają ograniczoną liczbę podziałów
 - tzw. granica Hayflicka
 - wyjątek – komórki macierzyste (granica zniesiona lub bardzo odsunięta) i **komórki nowotworowe**



August Weismann (1834-1914)

Linia płciowa i soma

- U człowieka embrion płci żeńskiej oddziela komórki linii płciowej w 15 tygodniu od zapłodnienia (pozostają zatrzymane w profazie I)



Zjawiska związane ze zmianami w genomie komórek somatycznych

- Starzenie się
- Nowotwory

Choroba nowotworowa

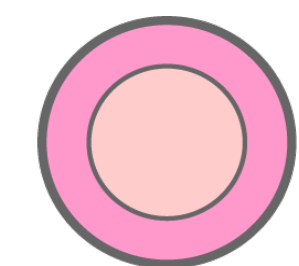
- Niekontrolowana proliferacja komórek
- Przerzuty
 - proliferacja bez przerzutów – nowotwór łagodny

Nie każdy nowotwór to “rak”

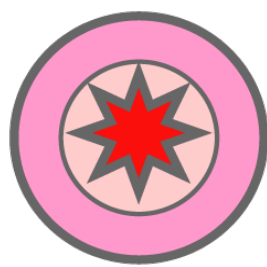
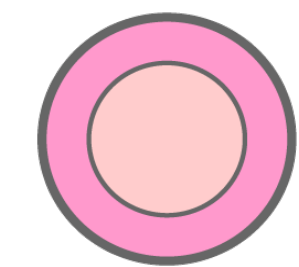
- Rak (*carcinoma*) – nowotwór złośliwy tkanki nabłonkowej
- Mięsak (*sarcoma*) - nowotwór złośliwy tkanki nienabłonkowej (włókniakomięsak, kostniakomięsak itp.)
- Chłoniak (*lymphoma*) - nowotwór złośliwy układu chłonnego
 - białaczka – z zajęciem szpiku
- Potworniak (*teratoma*) - nowotwór złośliwy komórek zarodkowych (pluripotencjalnych)
- Glejak (*glioma*) - nowotwór złośliwy komórek glejowych

Nowotwory są klonalne

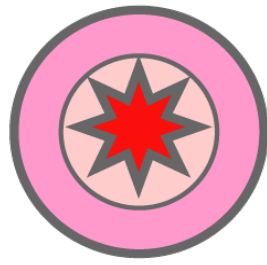
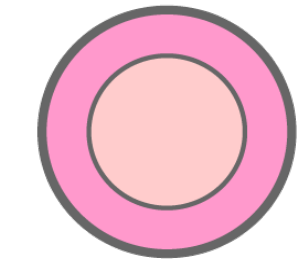
Komórka prawidłowa



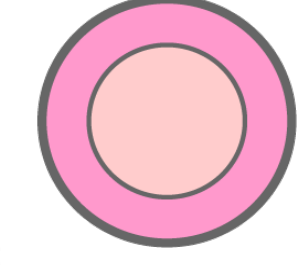
Pierwsza mutacja



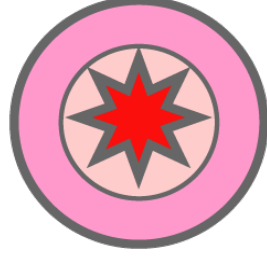
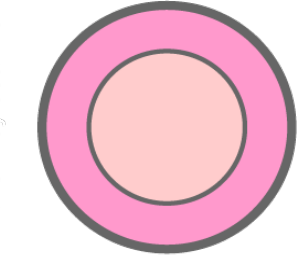
Druga mutacja



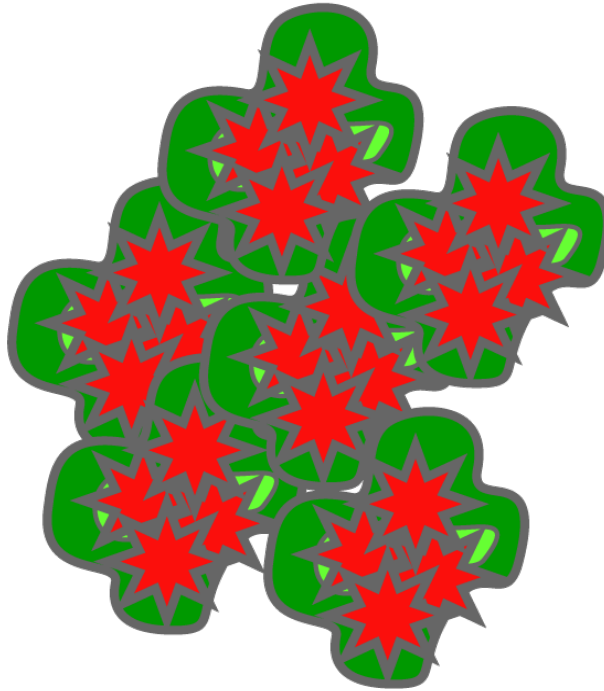
Trzecia mutacja



Kolejne mutacje



Komórki nowotworowe



Artykuł: J. B. J. et al. © 2014.

Etapy rozwoju nowotworu

- Inicjacja – aktywacja onkogenów, zmiany ekspresji
- Promocja – utrwalenie zmian genetycznych, destabilizacja genomu
- Progresja – namnażanie *in situ*
- Inwazja – angiogeneza, przełamanie błony podstawnej, infiltracja, wejście do krwiobiegu
- Przerzuty – wtórne ogniska
- Nowotwór jest procesem mikroewolucyjnym – komórki konkurują o zasoby organizmu

Kancerogeneza

- Seria kolejnych wydarzeń
 - aktywacja proliferacji – onkogeny
 - dezaktywacja mechanizmów kontrolnych (antyonkogenów)
 - destabilizacja genomu – dalsze mutacje
 - uniknięcie senescencji związanej ze skróceniem telomerów, aktywacja telomerazy
 - zmiana profilu metabolicznego – zmiany w mtDNA
 - dalsze zmiany przy rozwoju guza, angiogeneza, przerzuty itp.
- Konkretna kolejność zdarzeń różna w różnych nowotworach

Niestabilność genomu

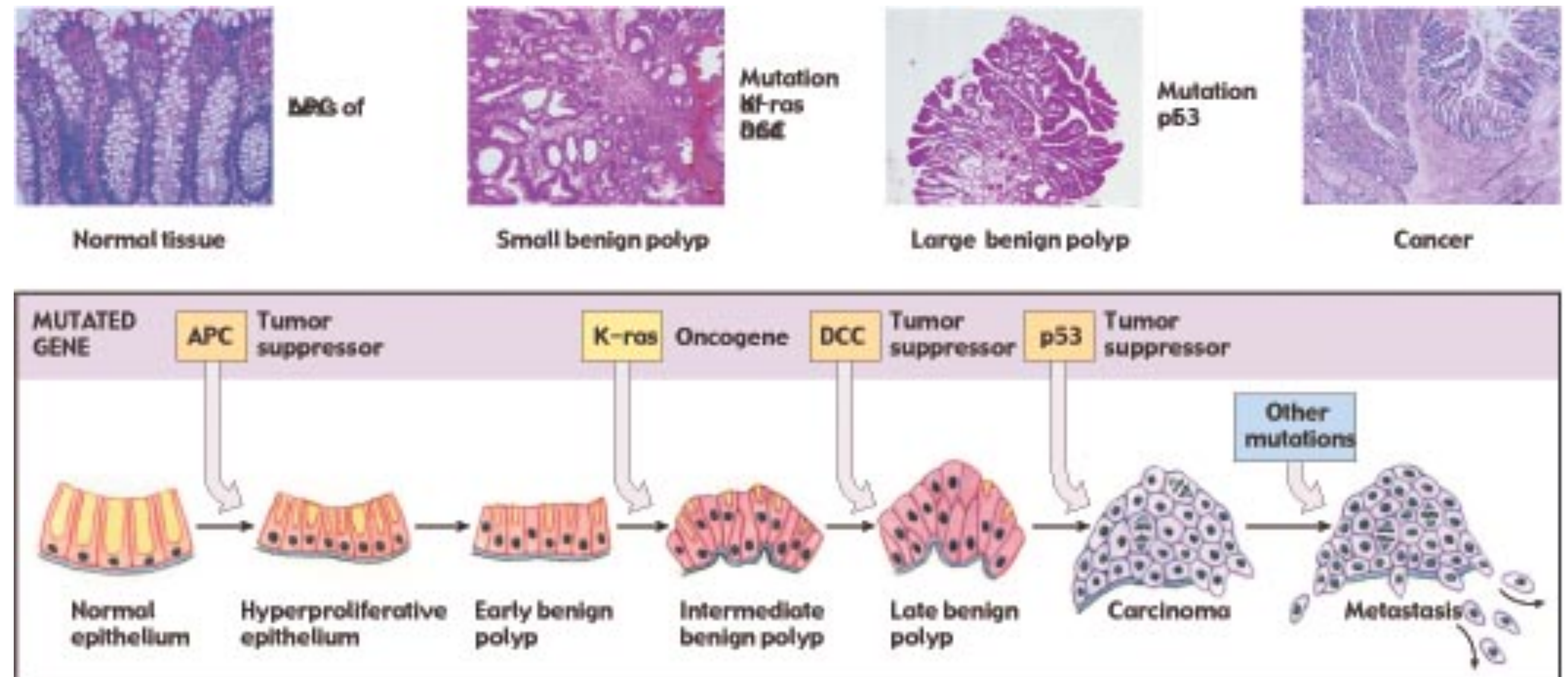
- Dodatnie sprzężenie zwrotne – mutacje zaburzające kontrolę cyklu mogą destabilizować genom, zwiększając prawdopodobieństwo kolejnych zaburzeń
- Niestabilność genomu jest typowym fenotypem komórki nowotworowej
 - rearanżacje chromosomów
 - zaburzenia rekombinacji
 - mobilizacja ruchomych elementów genetycznych
 - osłabienie mechanizmów wykrywania uszkodzeń DNA
 - **utrata mechanizmów zatrzymujących cykl komórkowy przy uszkodzeniach genomu**

Stany przednowotworowe i nowotworowe

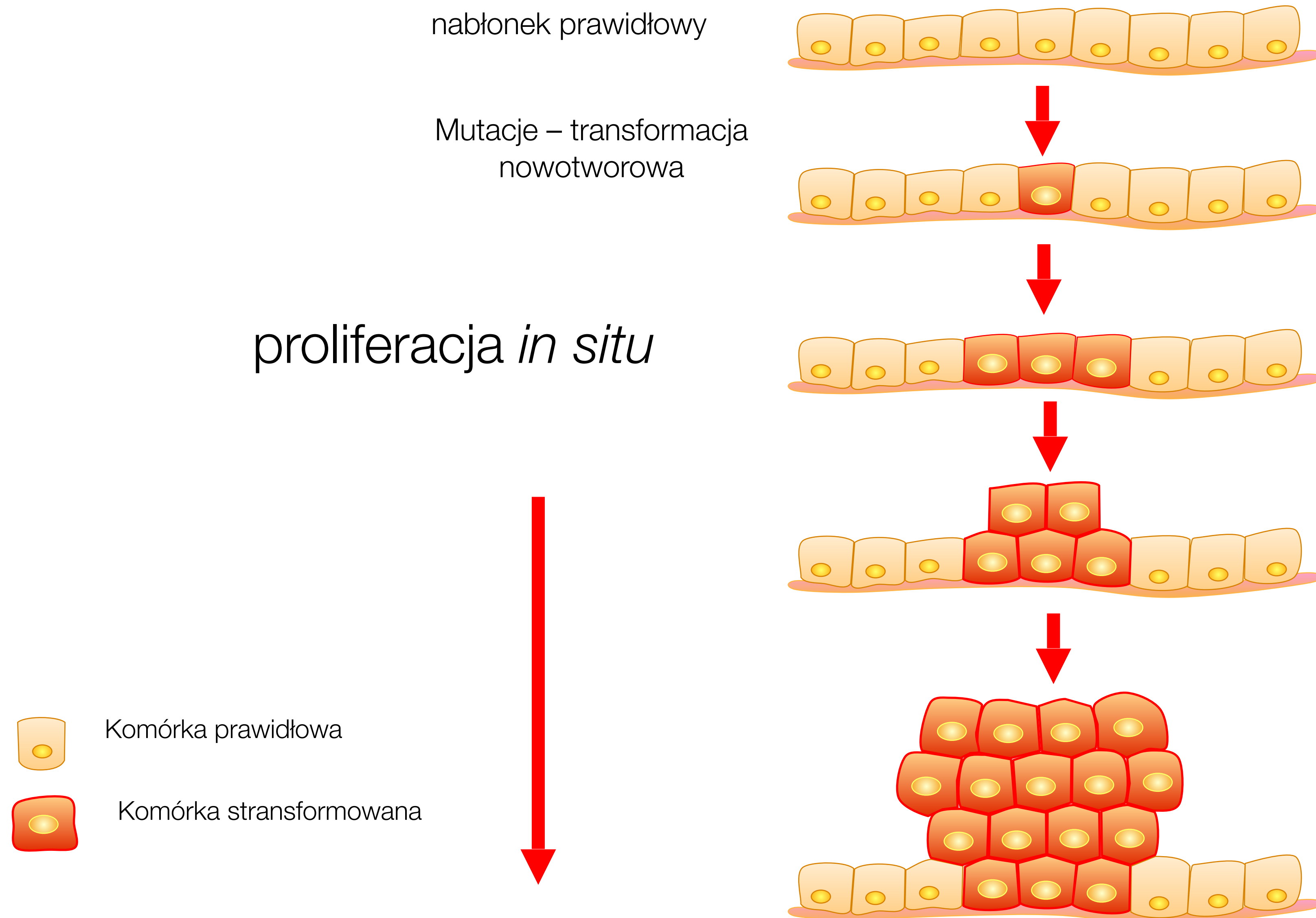
- Mutacja
- Hiperplazja (przerost) – zwiększenie liczby komórek
- Dysplazja - zmiany cytologiczne oraz zaburzenia w architekturze tkanki
- Rak *in situ* (guz)
- Rak przerzutowy (złośliwy)

Rozwój nowotworu

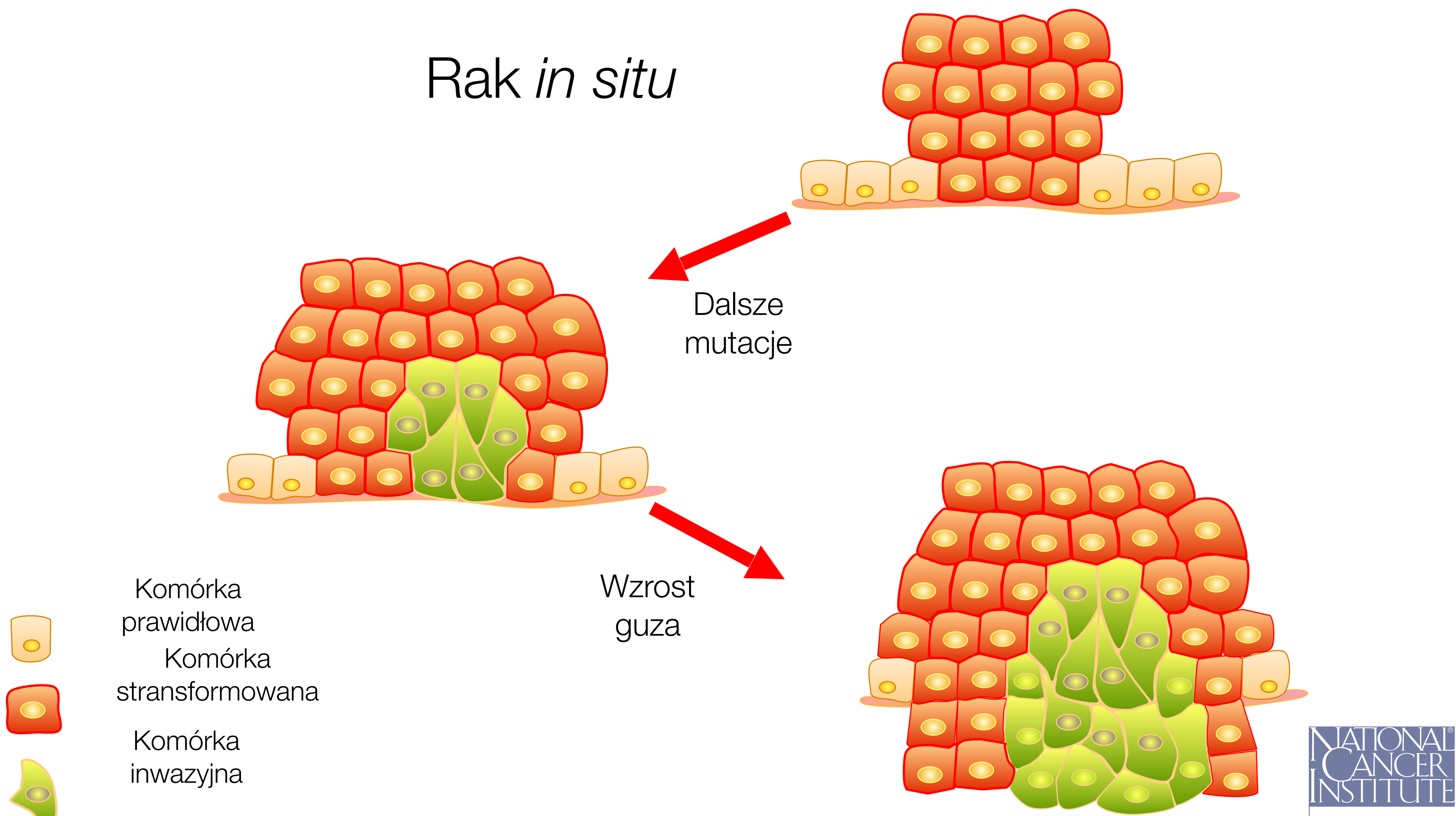
- Jedna komórka zaczyna
- Milion komórek rozwija
 - GUZ 1 mm
- Miliard komórek wykrywa
 - GUZ 1 cm
- Bilion (10^{12}) komórek zabija.
 - GUZ 1 kg



Inicjacja i progresja raka

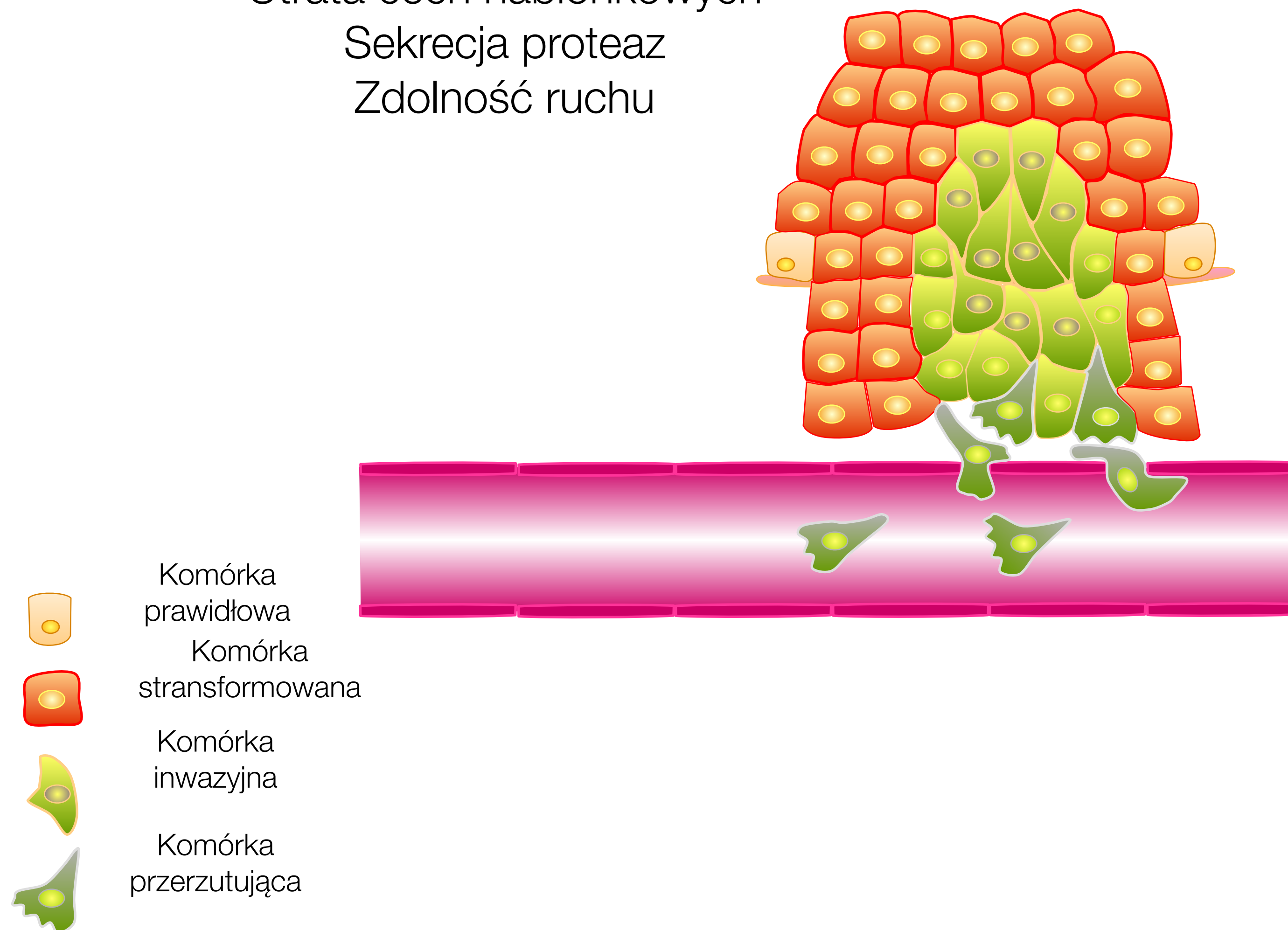


Inwazja raka

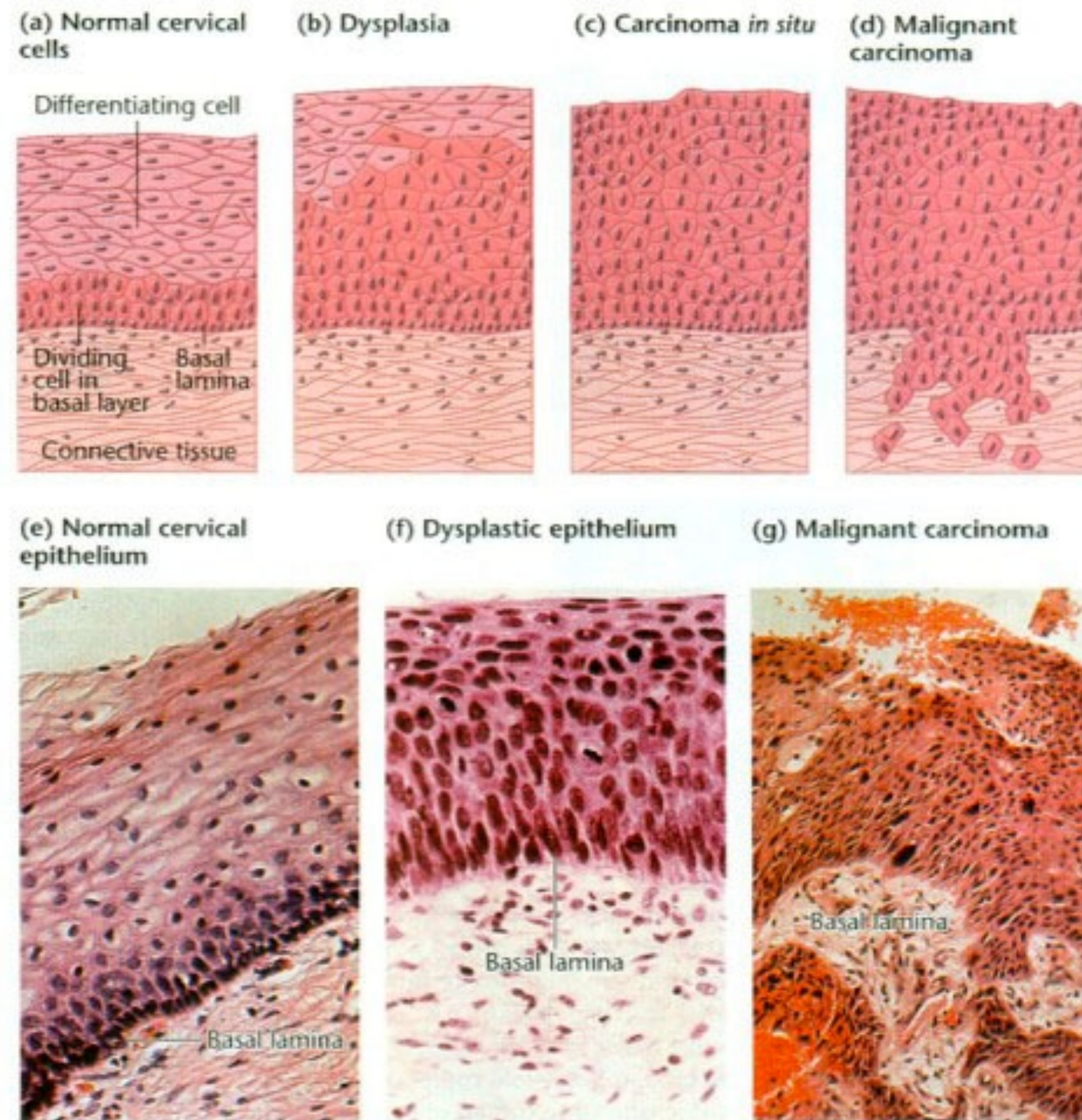


Rak - przerzuty

Oporność na hipoksję
Utrata cech nabłonkowych
Sekrecja proteaz
Zdolność ruchu



Progresja raka szyjki macicy



Nowotwory - genetyka i przyczyny

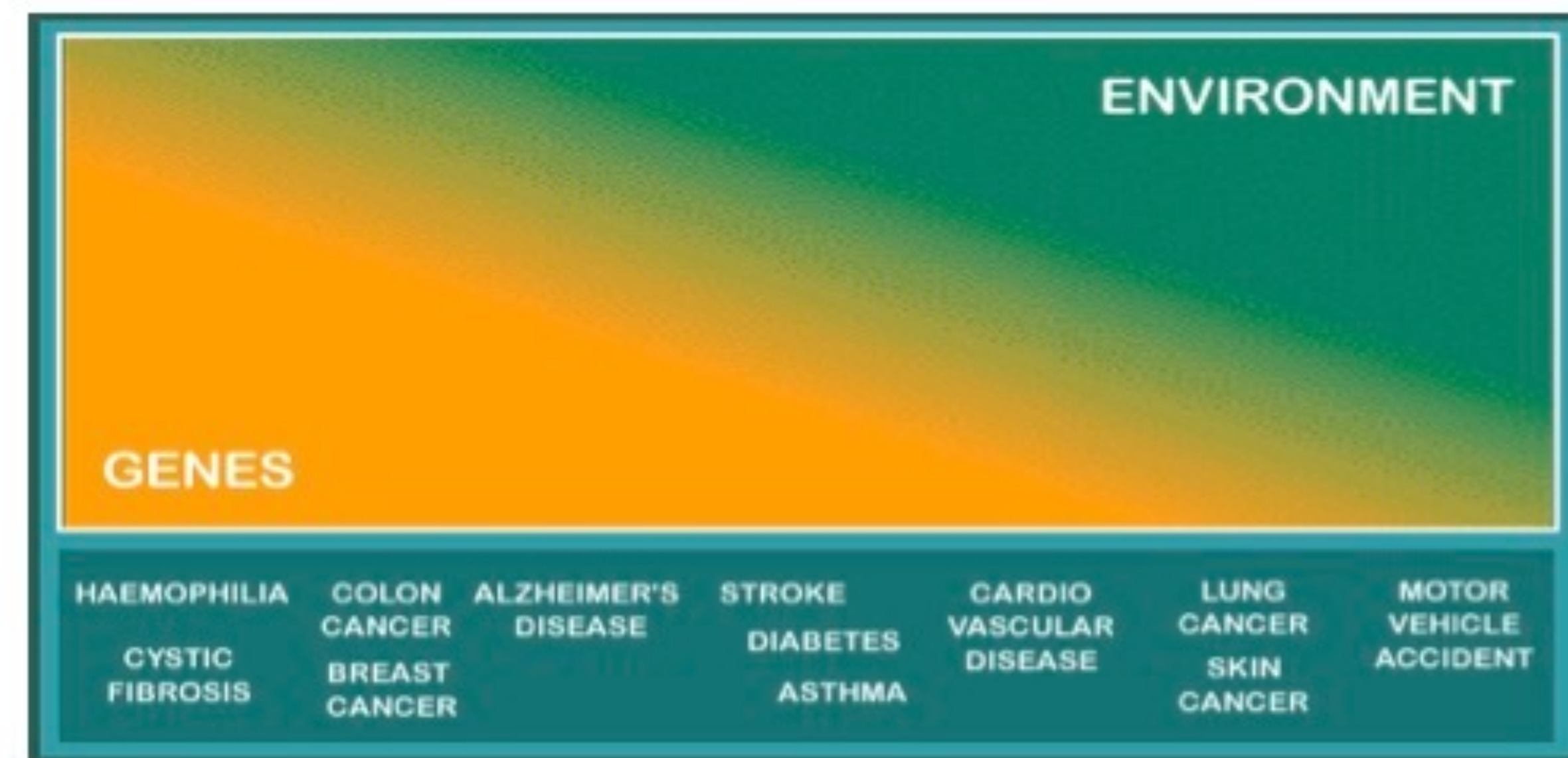
- Mutacje somatyczne – zaburzenie genetyczne, ale nie dziedziczne
 - karcynogeny – przeważnie zwiększają częstość mutacji
- Genetyczne czynniki ryzyka
 - Genotyp wpływa na **ryzyko** zachorowania, ale nie na zasadzie sprawczości
 - Dziedziczenie wieloczynnikowe!
- Dziedziczone zespoły podatności na określone nowotwory
 - Dziedziczne mutacje o wysokiej penetracji (sprawcze)

Nowotwory - genetyka i przyczyny

- Onkogenne wirusy i bakterie
 - różne mechanizmy molekularne
- Procesy fizjologiczne
 - np. przewlekły stan zapalny

Nowotwory - geny i środowisko

- W różnych nowotworach udział czynnika dziedzicznego i środowiskowego jest różny
- Przeważnie środowiskowe:
 - czerniak (UV)
 - rak płuca (zanieczyszczenia powietrza, palenie)
 - rak żołądka (*H. pylori*)
 - rak szyjki macicy (HPV)
- Duży udział genów:
 - rak piersi
 - rak okrężnicy

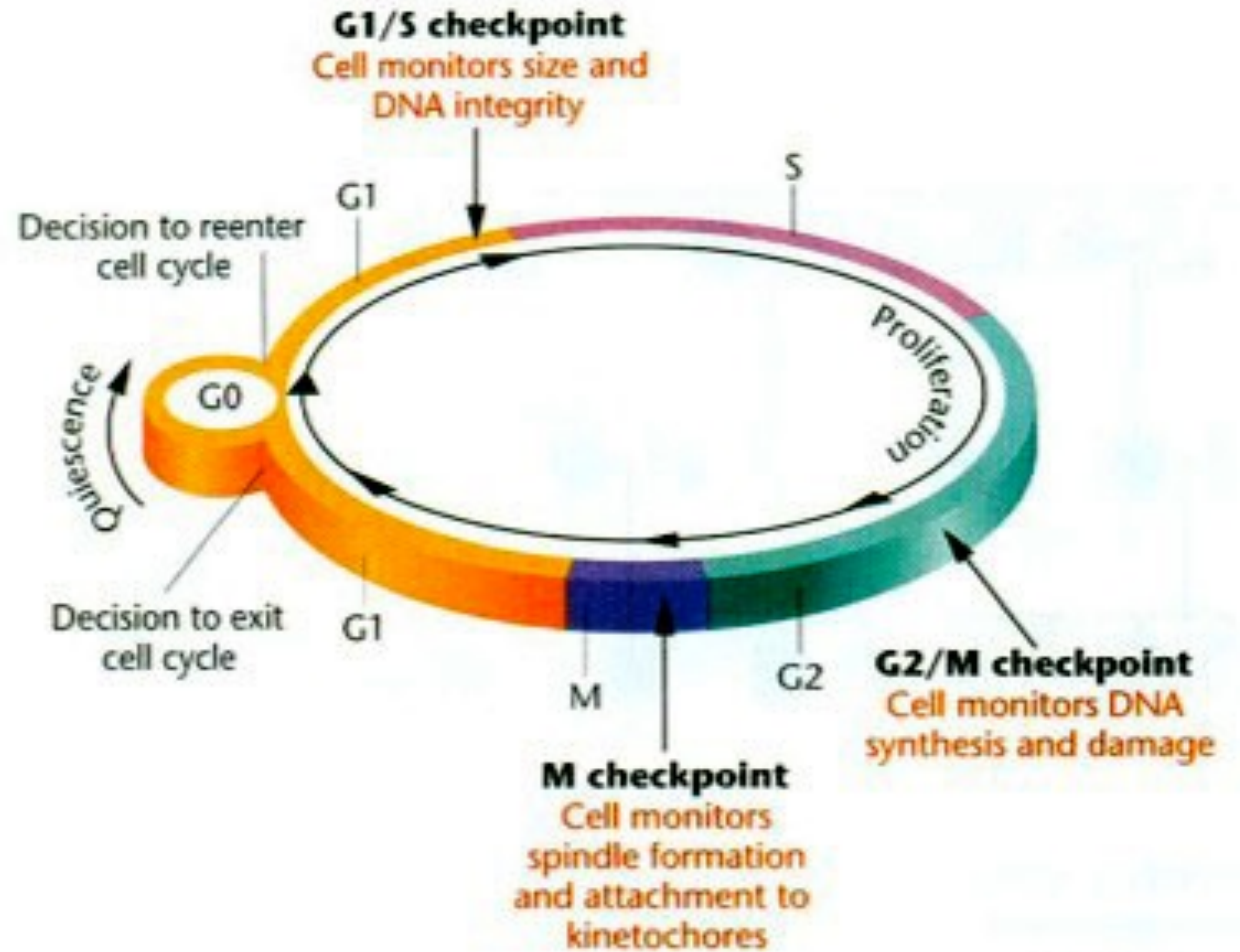


Zarys genetyki nowotworów

- Genetyczna kontrola podziałów komórki
 - Czynniki regulacji dodatniej - **protoonkogeny**
 - nowotworom sprzyjają mutacje neomorficzne i hipermorficzne - zmutowane allele to **onkogeny**
 - np. czynniki wzrostu i ich receptory, elementy szlaków przekazywania sygnału (np. kinazy białkowe, białka G), czynniki transkrypcyjne
 - Czynniki regulacji ujemnej – **antyonkogeny (supresory nowotworów)**
 - nowotworom sprzyjają mutacje nullomorficzne i hipomorficzne
 - np. p53, Rb
- Zapewnienie stabilności genomu
 - **naprawa DNA, kontrola rekombinacji**

Zaburzenia kontroli cyklu komórkowego

- Komórki spoczynkowe – faza G0
- Komórki dzielące się – cykl z 3 punktami kontrolnymi
- Większość odróżnicowanych komórek wchodzi w G0
- Komórki nowotworowe nie wchodzi w G0
- Przyczyną jest często zaburzenie kaskady sygnału wzrostu (czynniki wzrostu)



Teoria wirusowa i teoria mutacyjna

- Wirusy onkogenne (np. retrowirusy) – niosą onkogeny w genomie
- Czynniki mutagenne zwykle są karcynogenami
- Mechanizm molekularny bywa ten sam
 - mutacje w genach kodujących czynniki regulacji zmieniają protoonkogen w onkogen
 - onkogeny niektórych (nie wszystkich!) wirusów są zmutowanymi allelami protoonkogenów gospodarza (retrowirusy)

Onkogeny

- Geny, których produkty stymulują patologiczne podziały komórek
- Zmutowane allele protoonkogenów - genów z genomu komórki
- Geny niesione przez patogeny (wirusy, bakterie)
 - zmutowane allele protoonkogenów
 - onkogeny specyficzne dla patogenów

Wirusy onkogenne

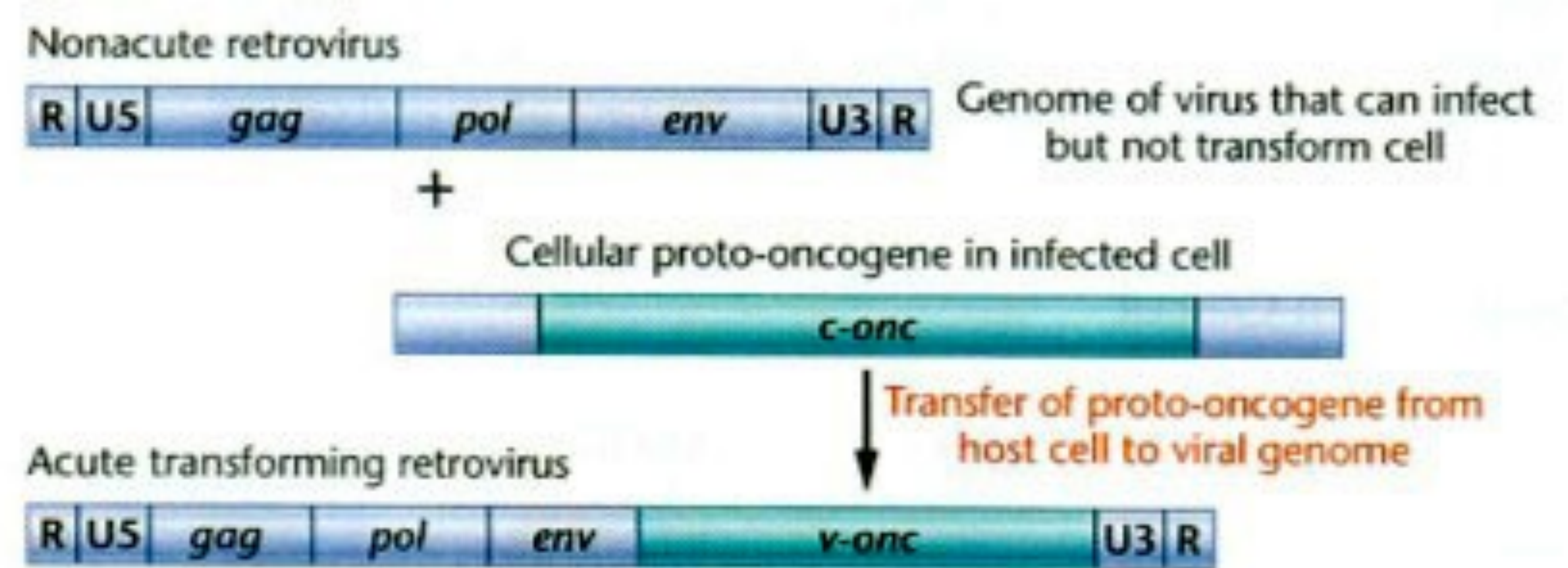
- Retrowirusy (RNA) niosące zmutowany onkogen pochodzenia genomowego – efekt ten sam, jak przy mutacji protoonkogenu
- Inne wirusy RNA i DNA (HPV, EBV, adenowirus itp.) – kodują białka interferujące z kontrolą podziałów
 - aktywują kaskady sygnalizacyjne (np. HBx wirusa zapalenia wątroby C)
 - inaktywują antyonkogeny (np. E6 i E7 wirusa HPV)
 - oddziałują z elementami regulacji podziałów (adenowirus)

Retrowirusy i nowotwory

- Retrowirusy nie są istotnym czynnikiem nowotworzenia u człowieka
- Zwierzęce retrowirusy onkogenne odegrały istotną rolę w odkryciu mechanizmów nowotworzenia
 - 1975 Bishop & Varmus – onkogen Src jest obecny w genomie komórek (Nobel 1989)
 - powiązanie onkogenów z regulacją wzrostu komórek – sis/PDGF; erb-B/EGFR,
 - jeden z pierwszych przykładów wykorzystania porównywania sekwencji i baz danych (Waterfield et al. 1983; Downward et al. 1984)

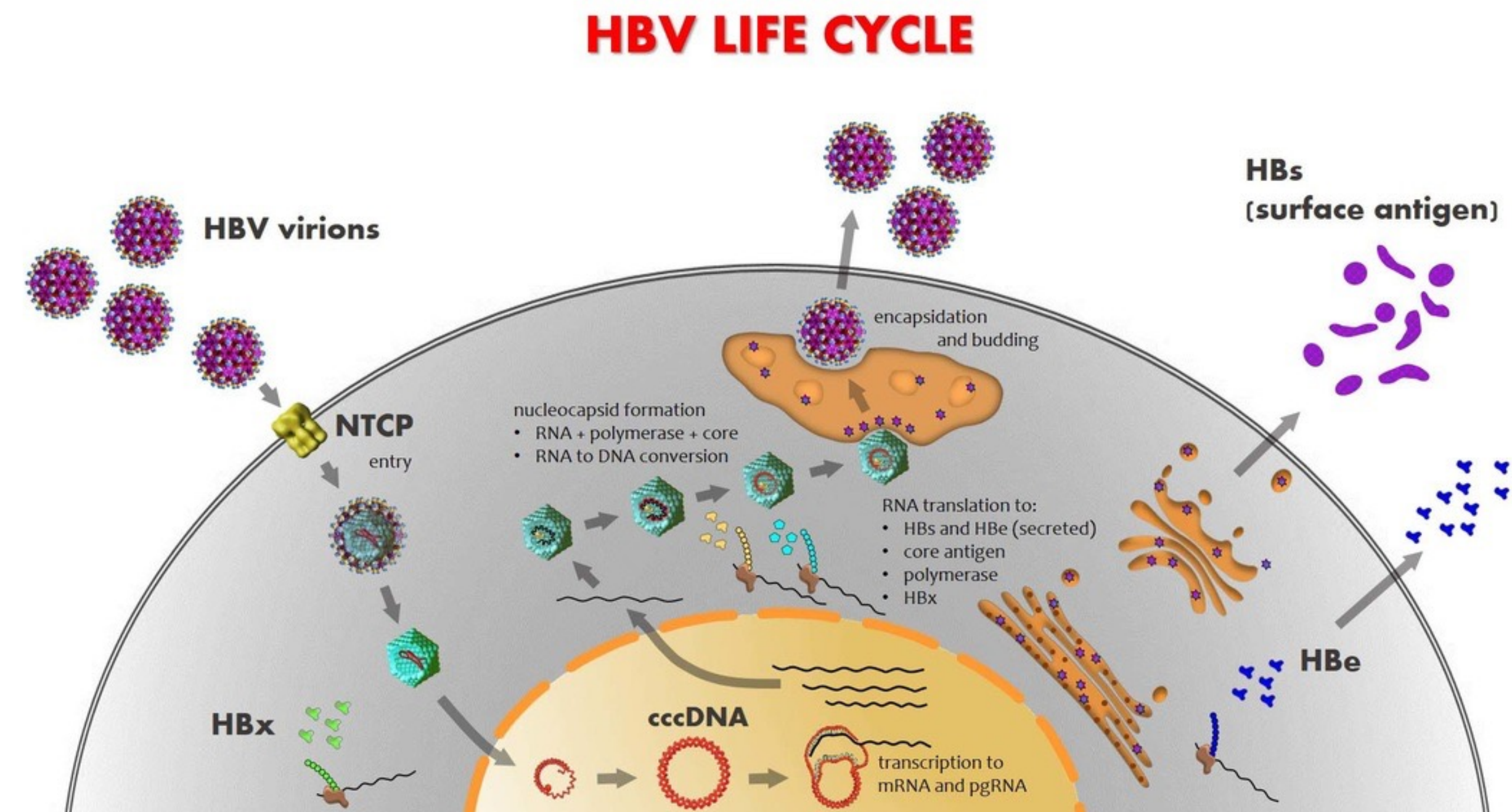
Retrowirusy onkogenne

- Onkogen w genomie wirusa - pochodzi od protoonkogenu gospodarza
- Niekiedy wirus nie przenosi onkogenu, wystarcza działanie silnego promotora wirusowego na geny gospodarza
- Występują u wielu zwierząt, ale praktycznie nie u człowieka
 - wyjątki - HTLV-1 i 2 (*Human T-cell Leukemia Virus*) – rzadkie formy białaczek, bardzo długi czas od infekcji do rozwoju choroby



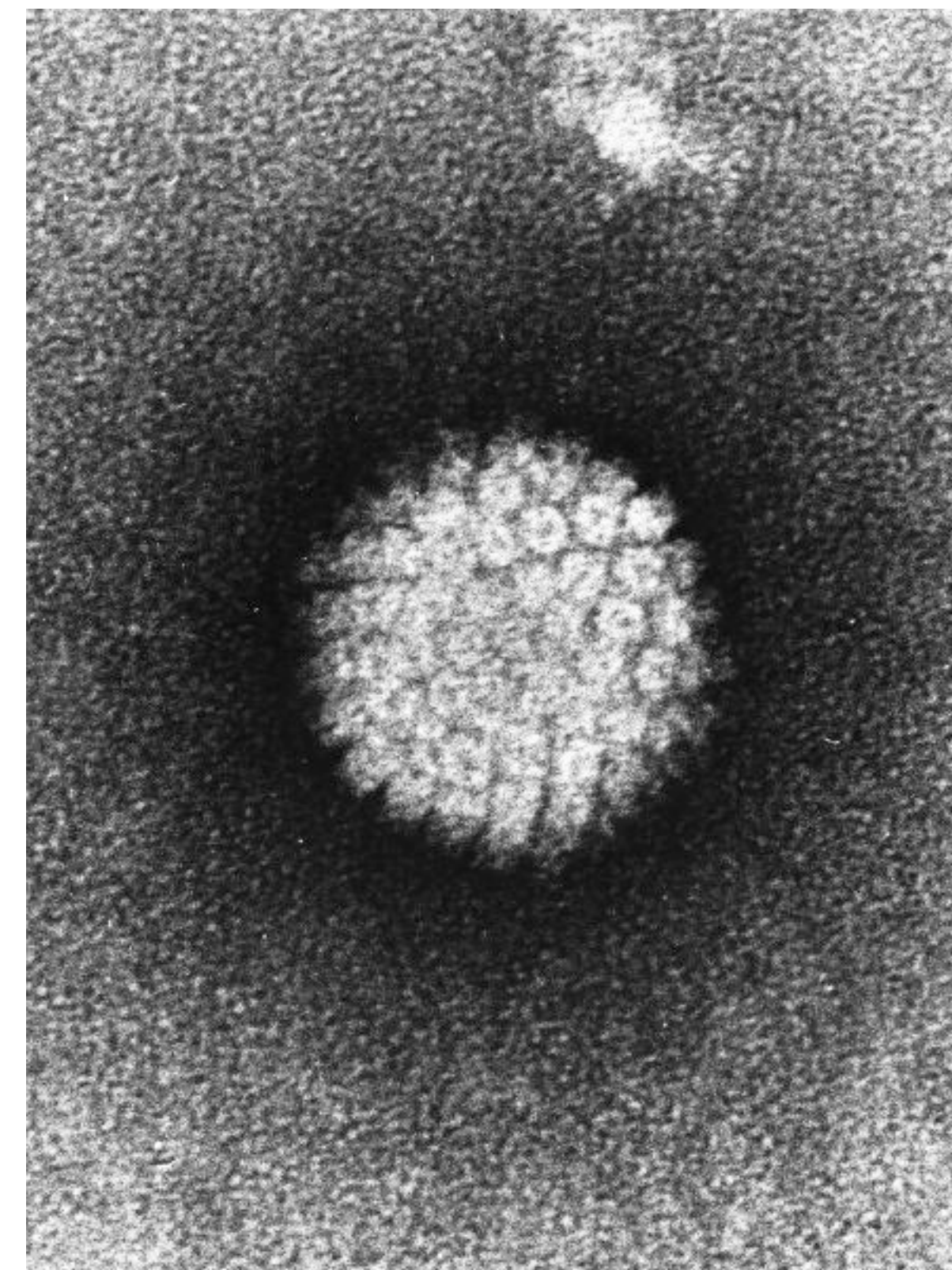
Inne wirusy onkogenne

- HPV - rak szyjki macicy, raki głowy i szyi, raki prącia
- HBV, HCV - rak wątroby
- Wirus Epsteina-Barr - chłoniaki



HPV i nowotwory

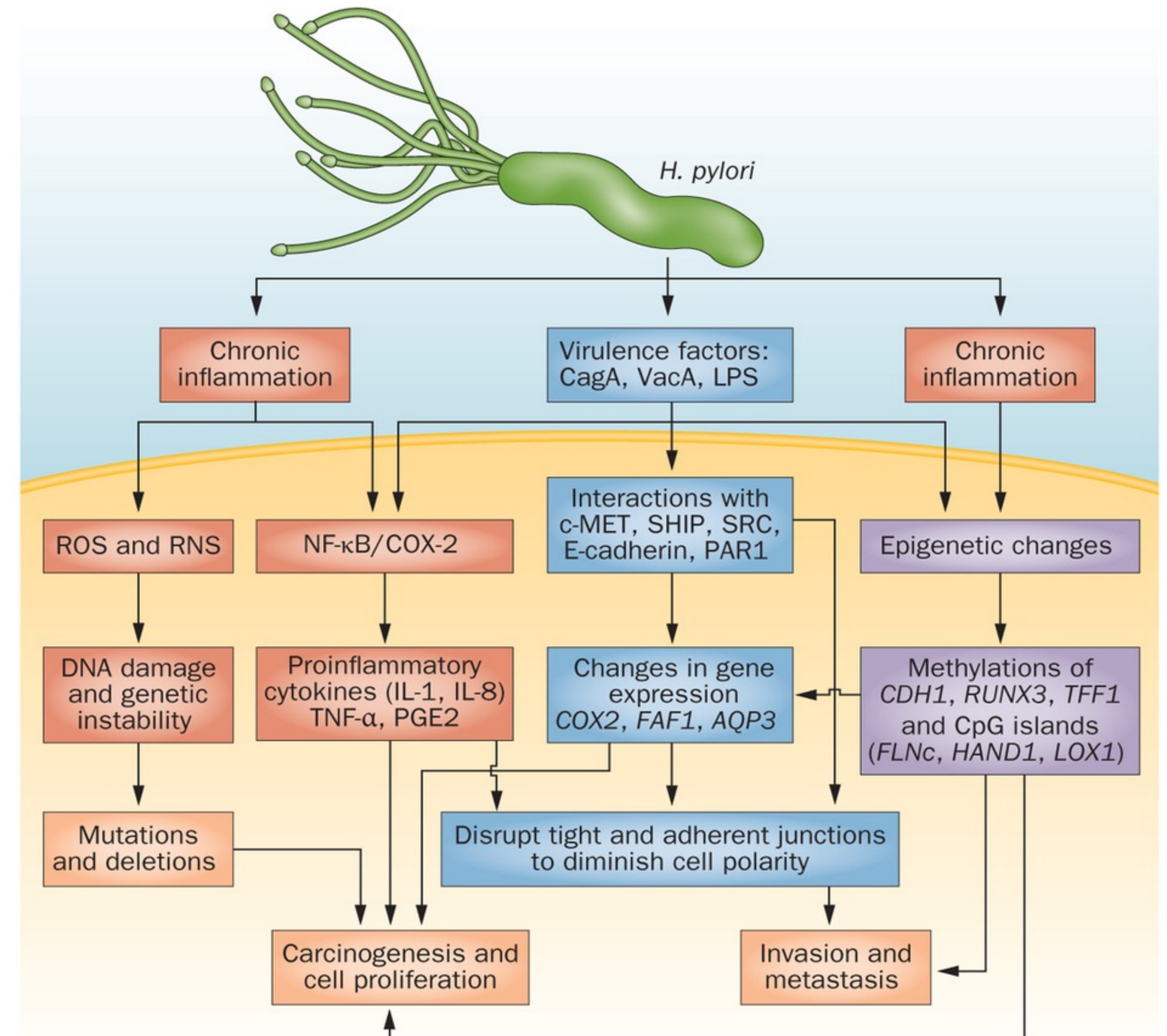
- Wirusy przenoszony drogą płciową
- Najczęstsze infekcje przenoszone tą drogą - ponad 50% dorosłych
- HPV typu 16 i 18 są istotnym czynnikiem ryzyka nowotworów
 - **70% wszystkich przypadków raka szyjki macicy, 85% raka odbytu**, raki jamy ustnej
- Od 2006 roku **dostępne szczepionki**
 - w Polsce dostępne, ale przeważnie nie refundowane



NIH-Visuals Online

Bakteria kancerogenna - *Helicobacter pylori*

- Czynn timer sprawczy wrzodów żołądka
- Karcynogen grupy I



Nobel 2005

- Barry Marshall & Robin Warren
- Odkrycie roli *H. pylori* w patogenezie wrzodów żołądka

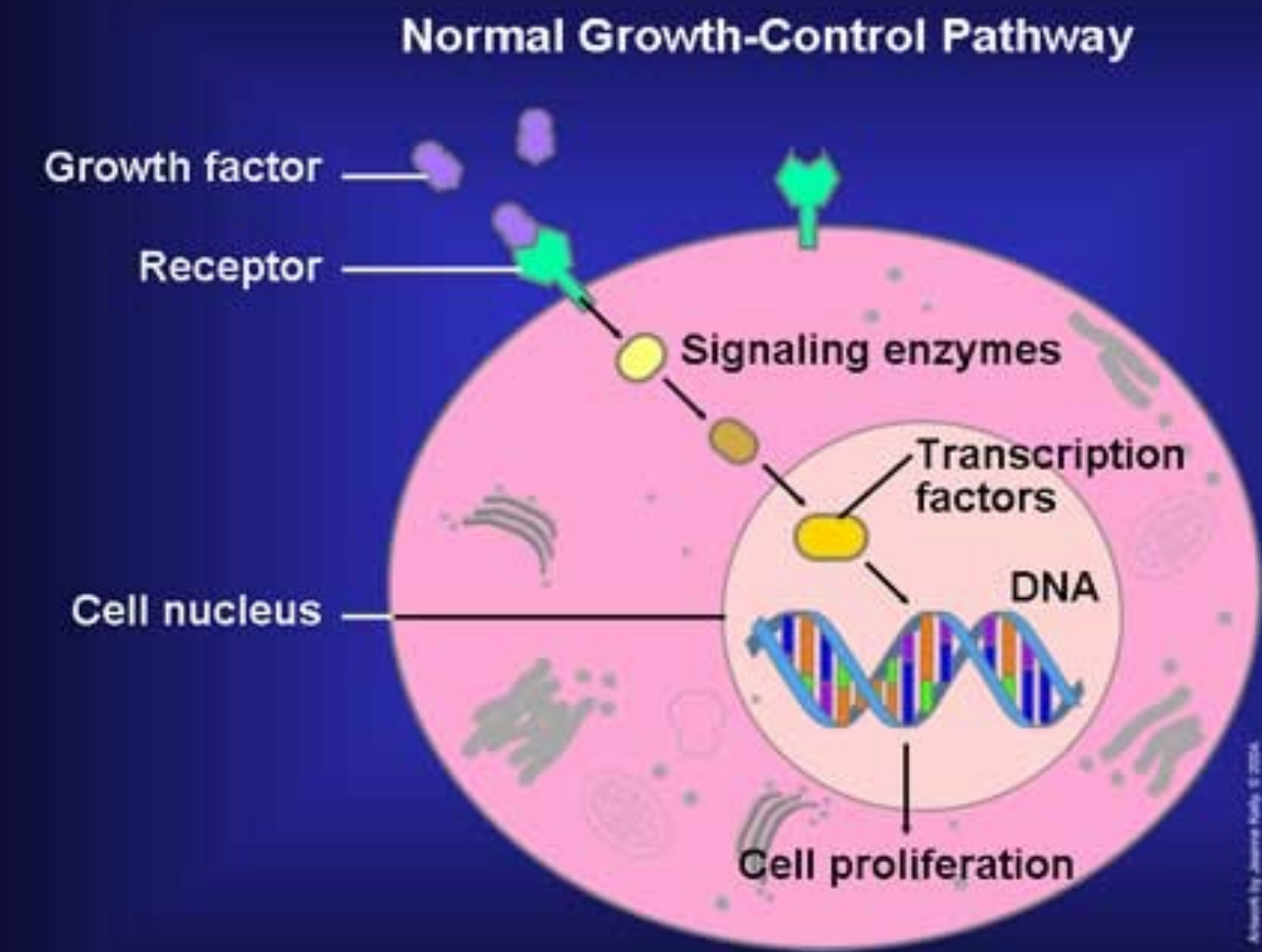


Barry Marshall

Mechanizmy komórkowe

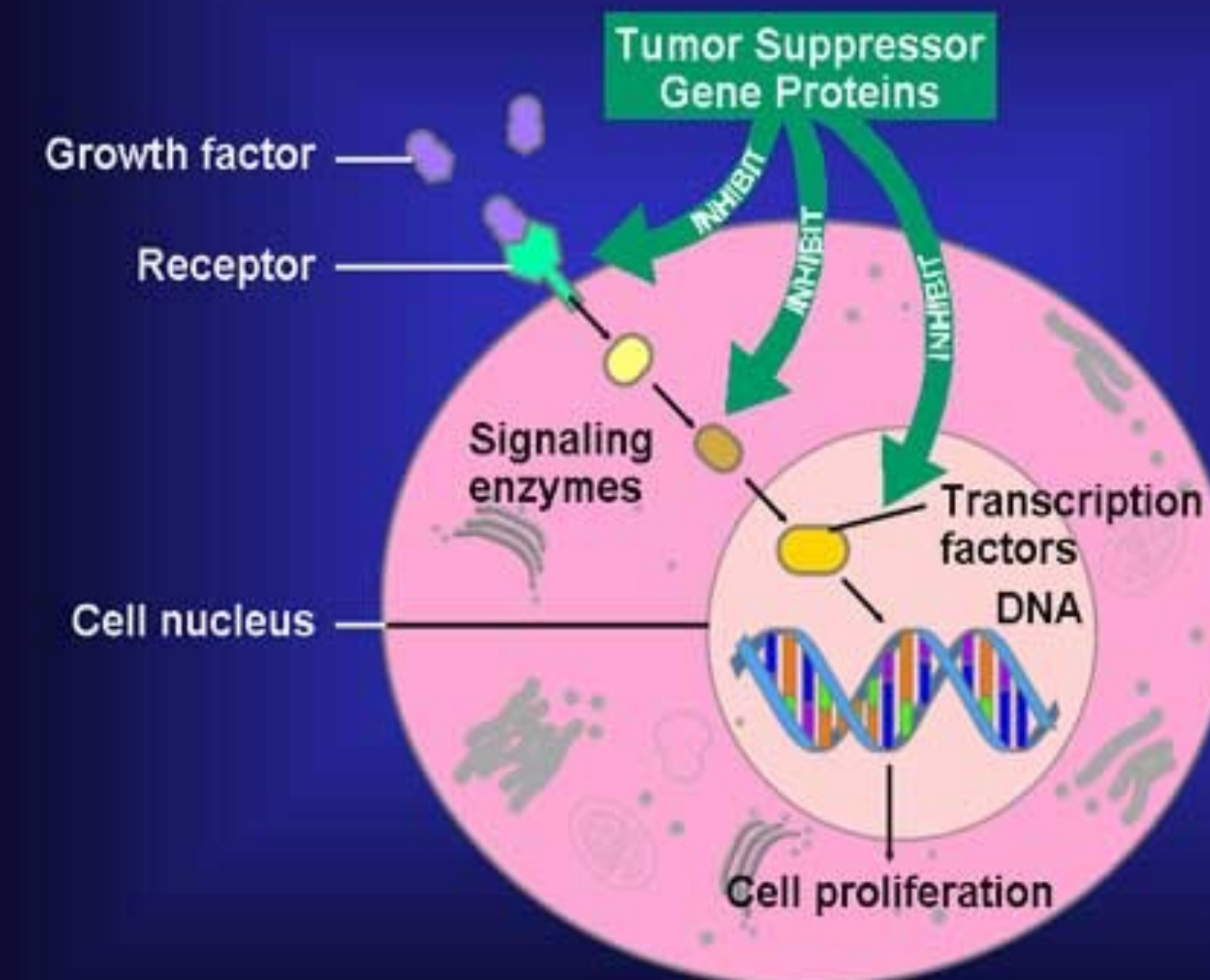
- Czynniki kontroli podziałów
- **pozytywnej - protoonkogeny/onkogeny**
- **negatywnej - supresory nowotworów (antyonkogeny)**

Proto-Oncogenes and Normal Cell Growth



NATIONAL
CANCER
INSTITUTE

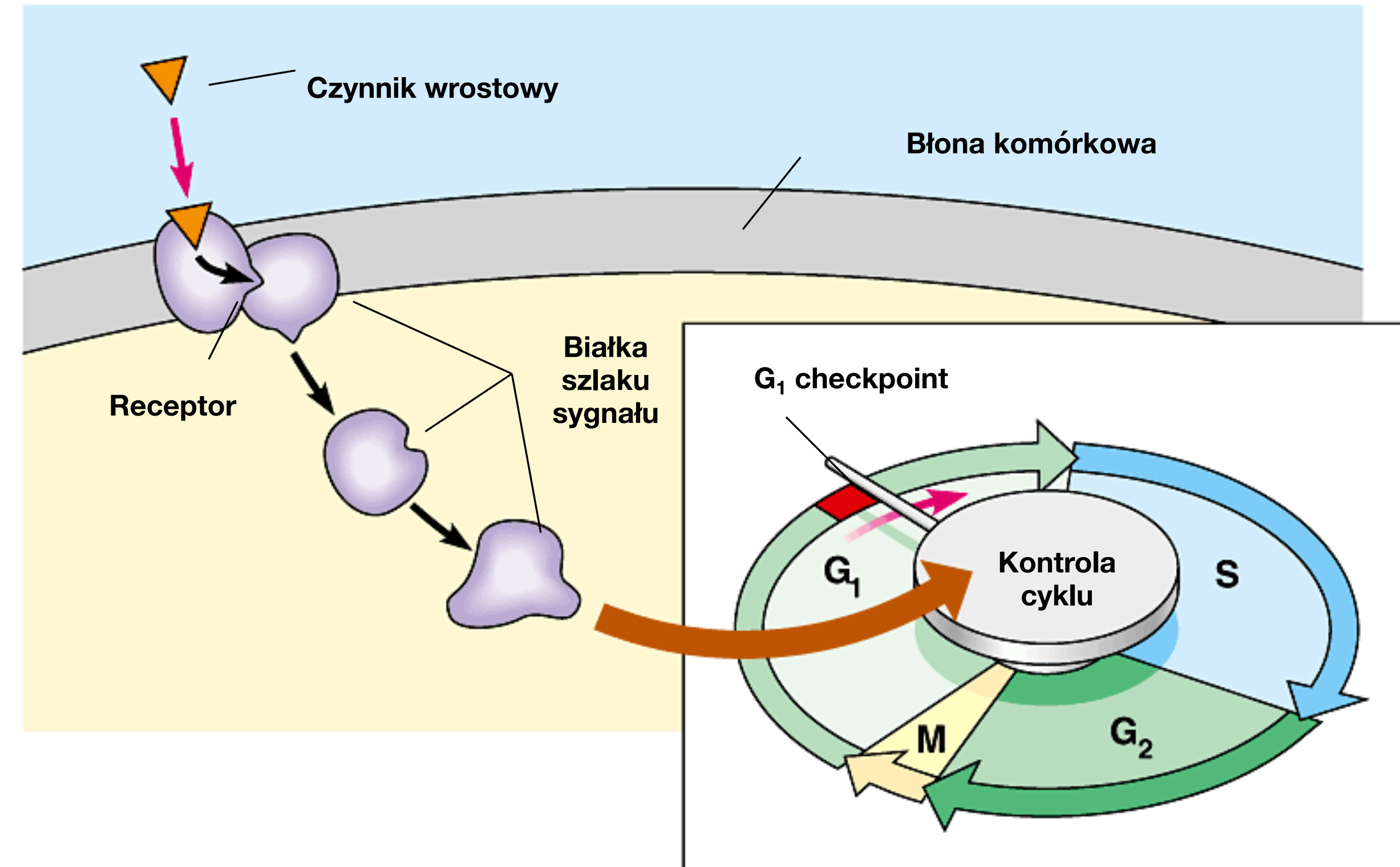
Tumor Suppressor Genes Act Like a Brake Pedal



NATIONAL
CANCER
INSTITUTE

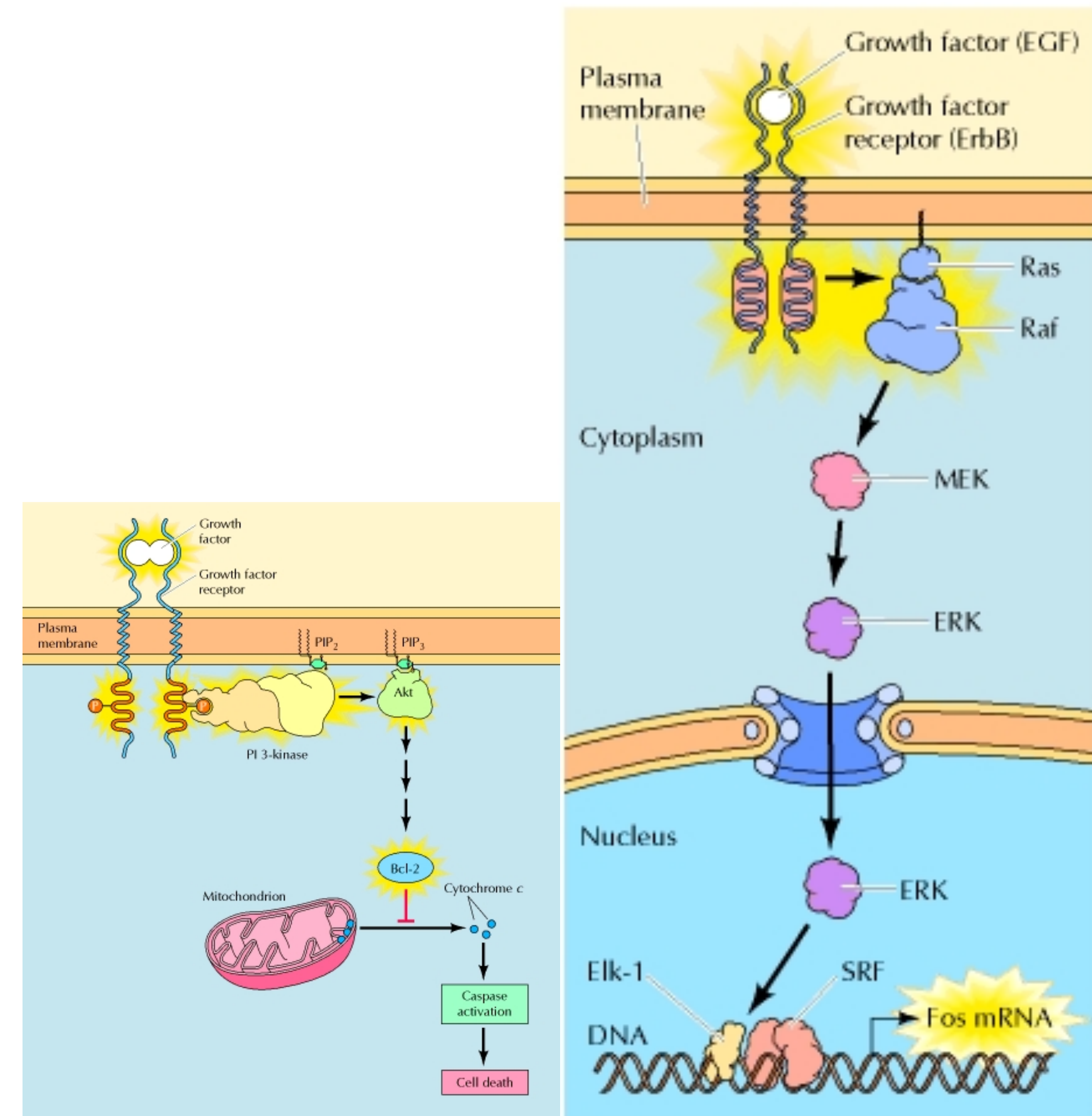
Protoonkogeny i onkogeny

- czynniki dodatniej kontroli podziałów
- **onkogen** – allel zmutowany, **protoonkogen** – prawidłowy
- nowotworom sprzyjają mutacje **neomorficzne** i **hipermorficzne** powodujące aktywację
- zwykle mutacje dominujące
- mutacje somatyczne, sporadycznie dziedziczne



Protoonkogeny i onkogeny

- kodują przykładowo:
 - czynniki wzrostu i ich receptory
 - elementy szlaków przekazywania sygnału (np. kinazy białkowe, białka G)
 - czynniki transkrypcyjne
 - negatywne regulatory apoptozy



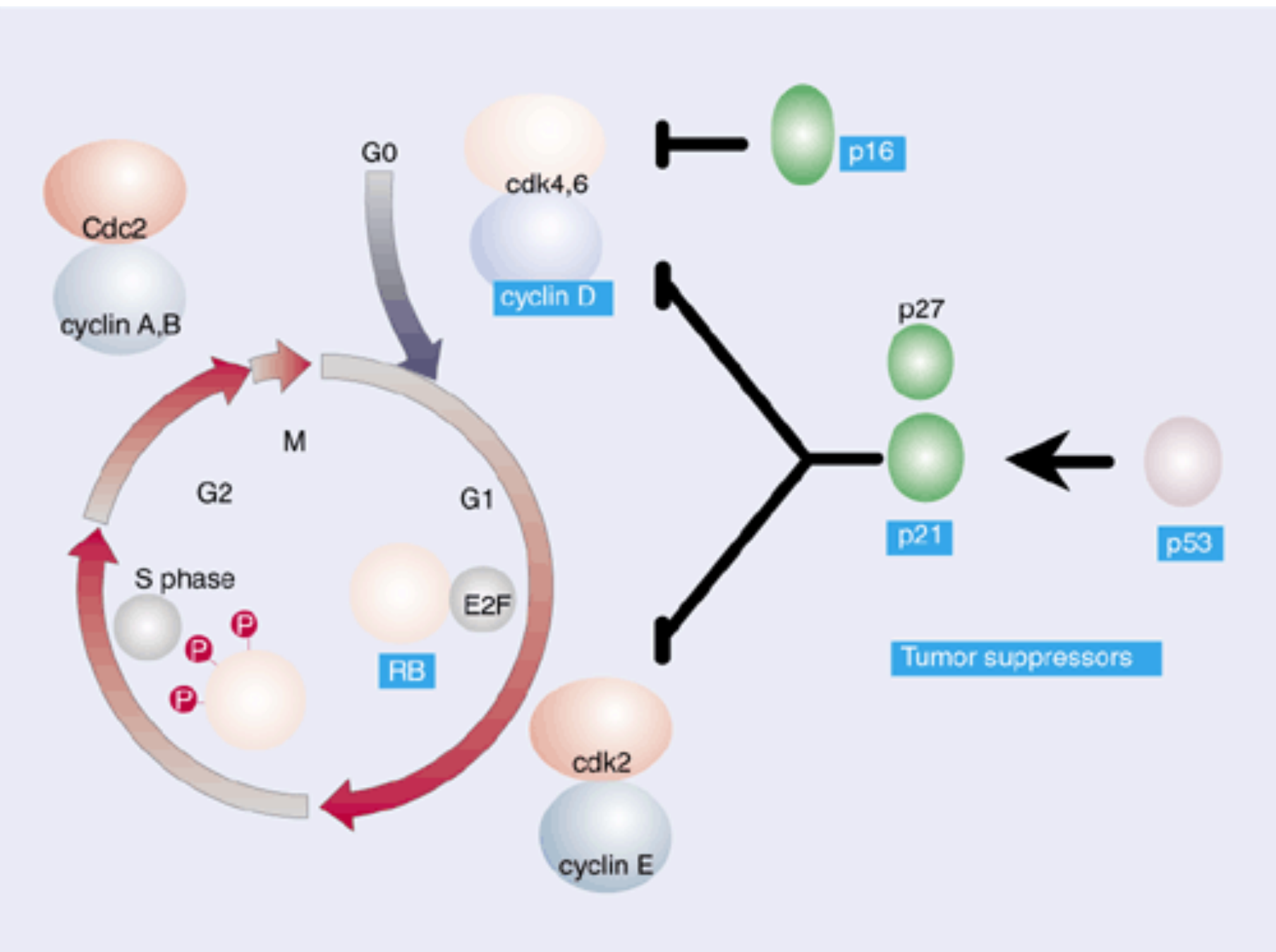
Co aktywuje onkogeny?

- Mutacja somatyczna
- Czynniki mutagenne (UV, promieniowanie jonizujące, chemiczne)
- Patogen (np. HPV, *H. pylori*)

Antyonkogeny (supresory nowotworów)

- Czynniki **negatywnej** kontroli podziałów
- nowotworom sprzyjają mutacje **nullomorficzne** i **hipomorficzne** - inaktywujące
- np. p53, pRb
- mutacje somatyczne i niekiedy odziedziczone

Figure 28.23
Several components concerned with G0/G1 or G1/S cycle control are found as tumor suppressors.



Ile jest protoonkogenów i antyonkogenów?

- Zidentyfikowano ~600 protoonkogenów ludzkich, z czego ~ 100 to najbardziej znane i często zmutowane w nowotworach
- Zidentyfikowano ~700-800 supresorów nowotworów, z czego ~15 to najbardziej znane i często zmutowane w nowotworach
 - w tym ~80 miRNA

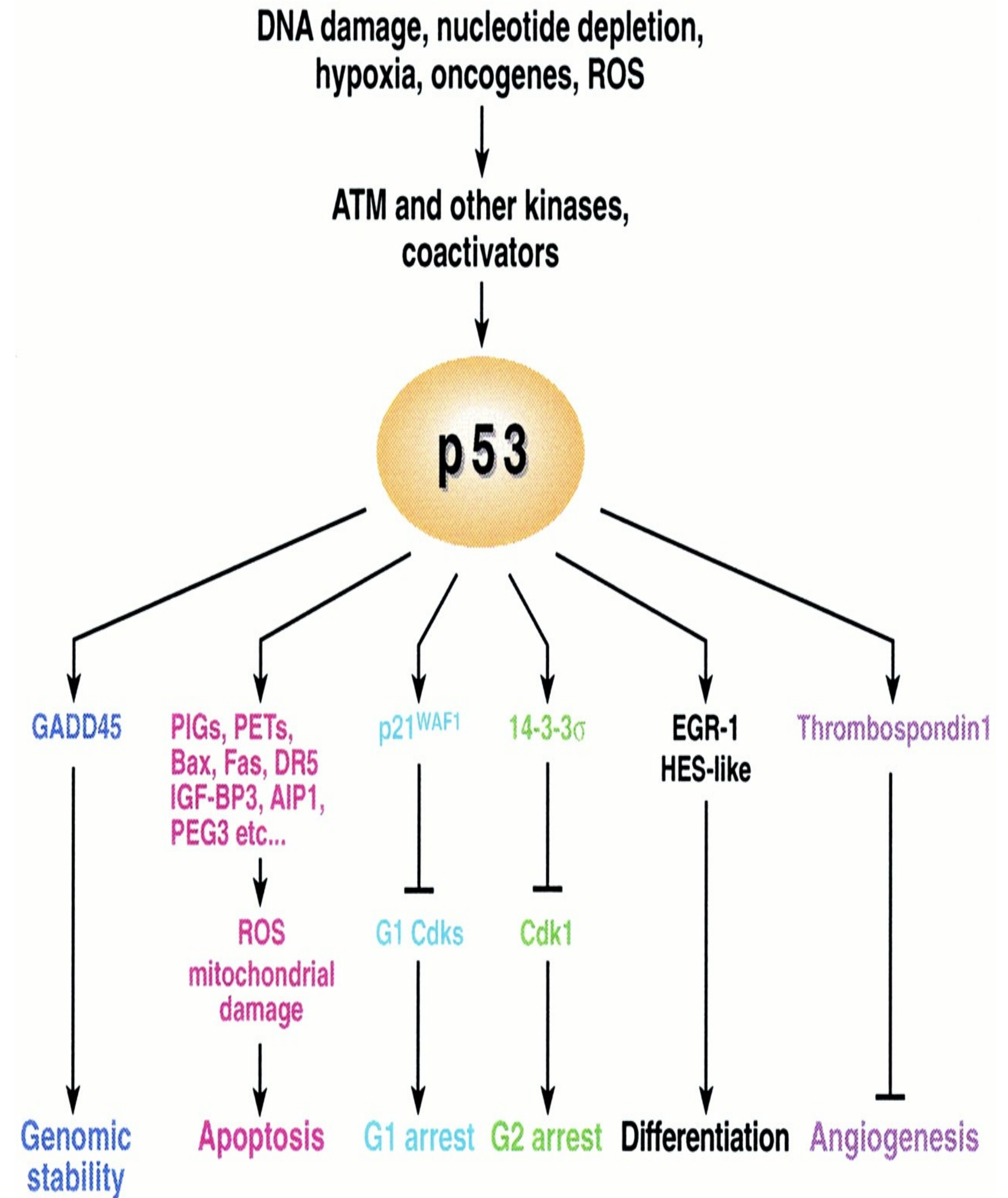
Źródła:

<http://www.uniprot.org/uniprot/?query=keyword:KW-0656>

<http://bioinfo.mc.vanderbilt.edu/TSGene/>

p53

- gen *TP53* zmutowany w większości nowotworów
- Działa jako tetramer - uszkodzenie jednego allelu częściowo osłabia funkcje i destabilizuje genom
- “Strażnik genomu”
 - aktywacja naprawy DNA
 - zatrzymanie cyklu (G1/S) przy uszkodzonym DNA
 - inicjacja apoptozy



p53 - strážník genomu

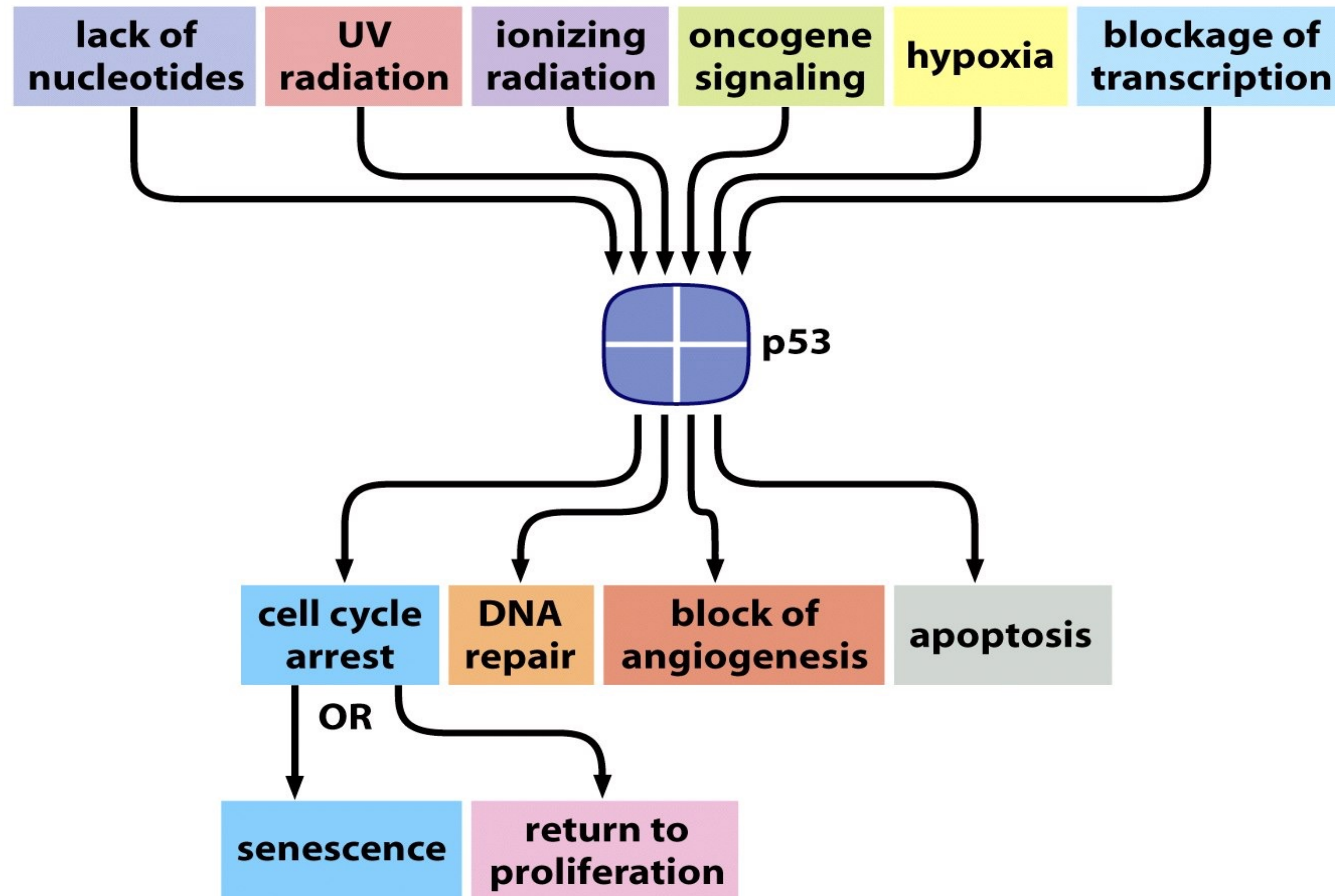
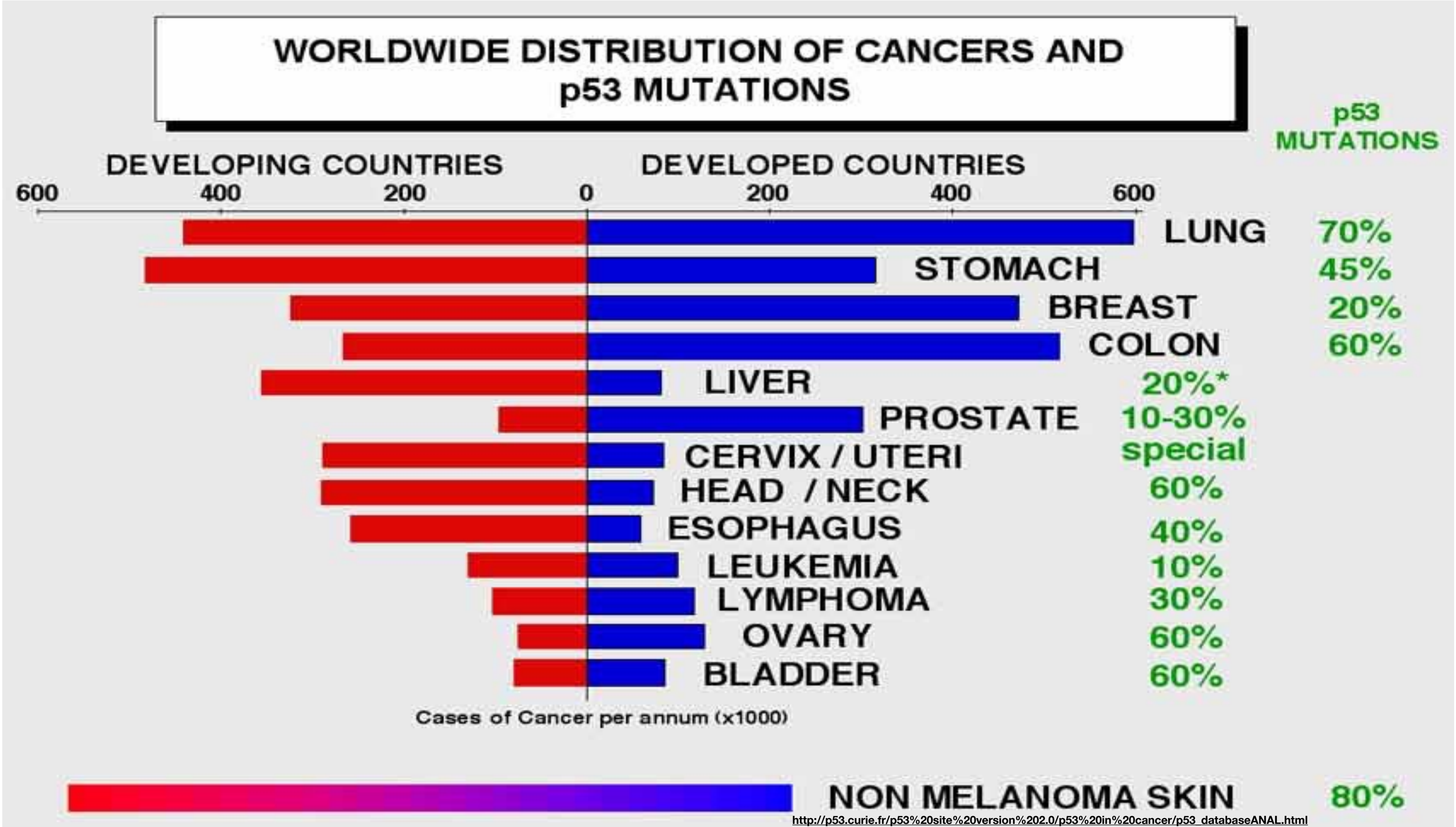


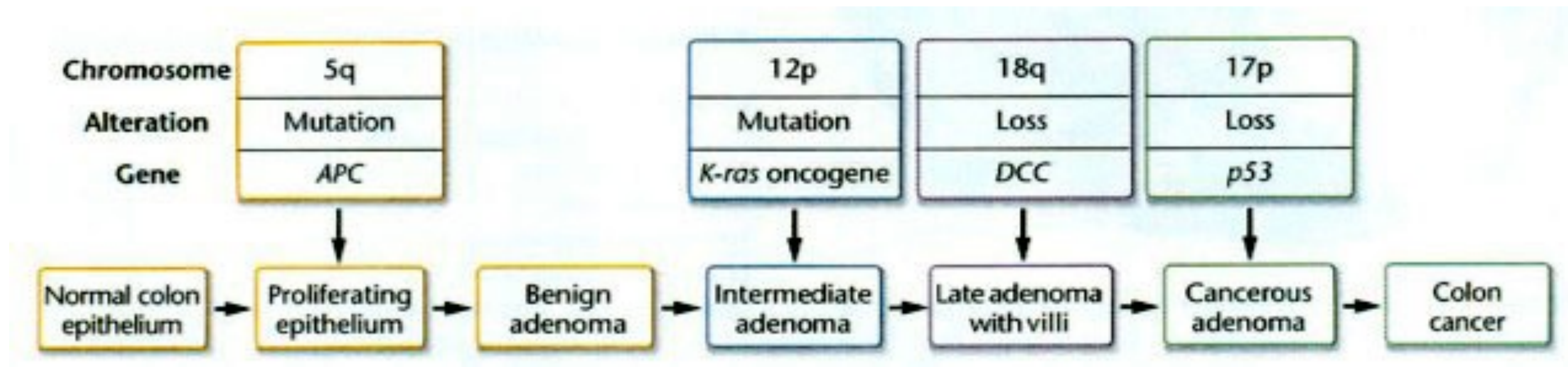
Figure 9-8 The Biology of Cancer (© Garland Science 2007)

Mutacje *TP53*



Przykłady zaburzeń w nowotworach

- Aktywacja onkogenów
- Inaktywacja supresorów nowotworów
- Zaburzenia naprawy DNA/stabilności genomu
- Aktywacja telomerazy



Mutacje mtDNA w nowotworach

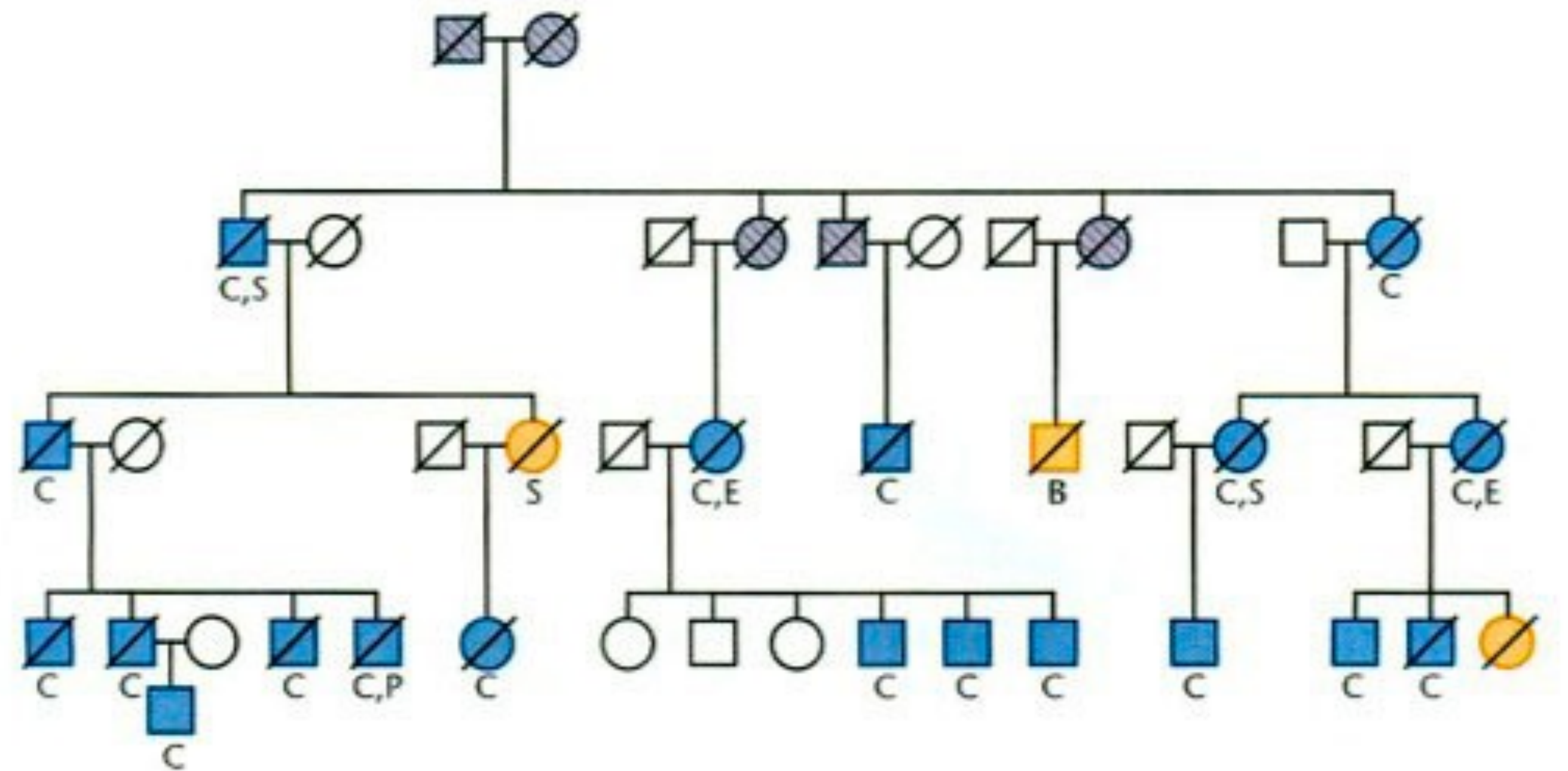
- Komórki nowotworowe charakteryzują się przejściem z metabolizmu tlenowego (oddychanie) na beztlenowy (glikoliza) – **efekt Warburga** (1936, 1956)
- W komórkach nowotworowych często obserwowane są mitochondrialne mutacje somatyczne nie występujące w prawidłowej tkance tego samego pacjenta.
 - polimorfizmy
 - mutacje upośledzające działanie mitochondriów
- Przyczyna (selekcja) czy skutek uboczny (dryf)?

Dziedziczne zespoły podatności na określone nowotwory

- heterozygotyczne mutacje antyonkogenów
 - p53 – zespół Li-Fraumeni
 - Rb – retinoblastoma (siatkówczak)
- Mutacje genów związanych z naprawą DNA i rekombinacją
 - *BRCA1*, *BRCA2* w raku piersi (<10% przypadków)
 - HNPCC (rak jelita grubego)
- Mutacje zmieniające profil metaboliczny
 - np. SDH (dehydrogenaza bursztynianowa)

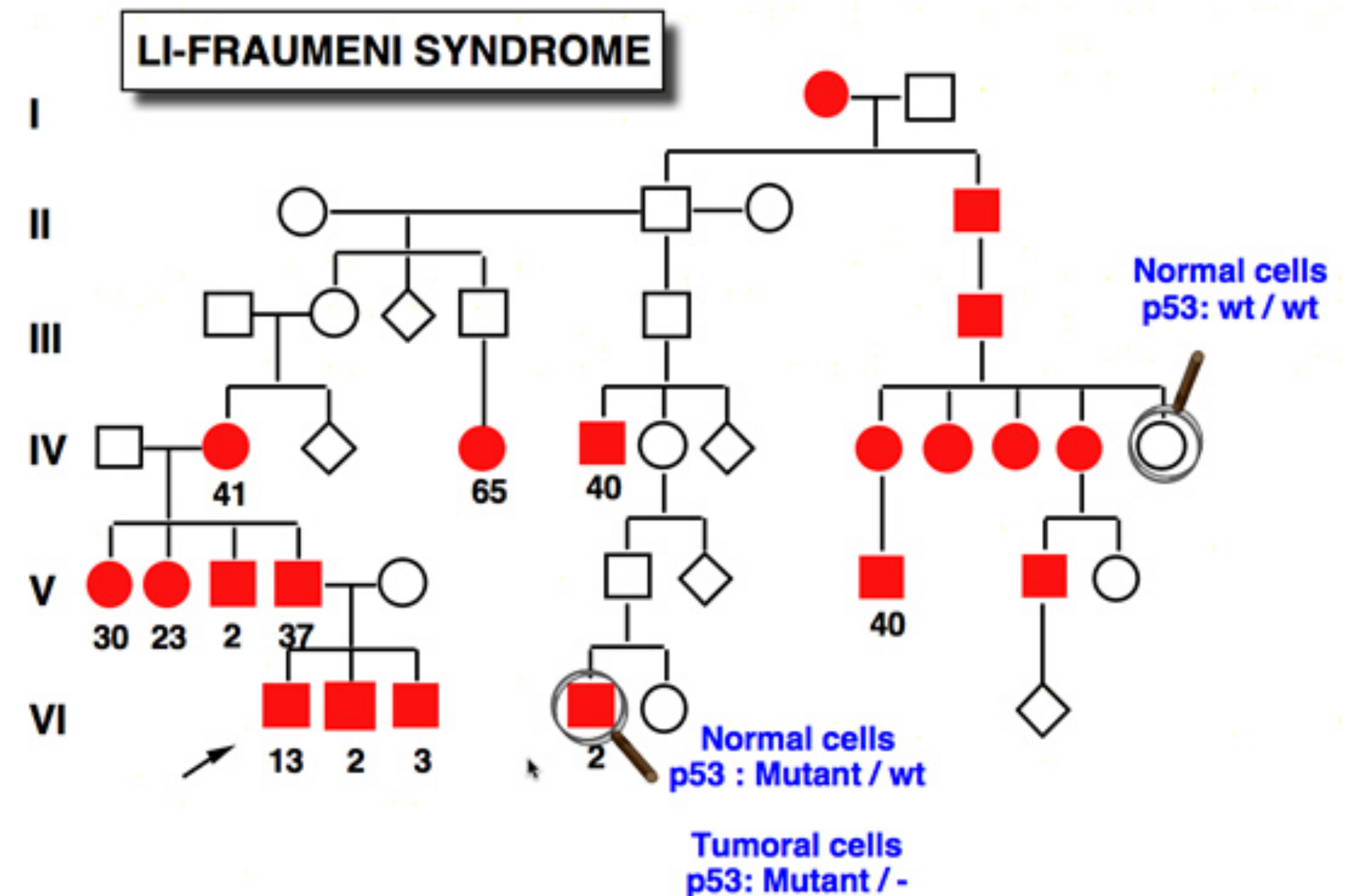
HNPPCC

- Dziedziczny rak jelita grubego niezwiązany z polipowatością (HNPPCC), zespół Lyncha
- 5% wszystkich raków jelita grubego
- Mutacje utraty funkcji różnych genów (6) związanych z naprawą DNA, najczęściej systemem MMR



Zespół Li-Fraumeni

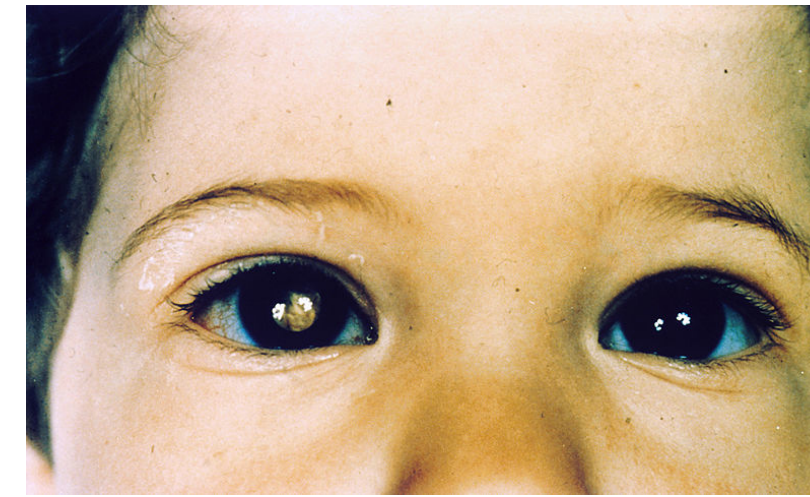
- Rzadki (~60 rodzin w USA, ok. 400 osób)
- Dziedziczony jako cecha dominująca z niepełną penetracją
- Liczne nowotwory w wieku dziecięcym
- Mutacje p53 (heterozygota 85-90% ryzyko nowotworu)



VI-1: OSTEOSARCOMA (13) - BRAIN TUMOR (25)
 VI-3: SCHWANNOMA (3) - OSTEOSARCOMA (13)
 V-2: LEIOMYOSARCOMA (23) - BILATERAL BREAST CANCER (25)

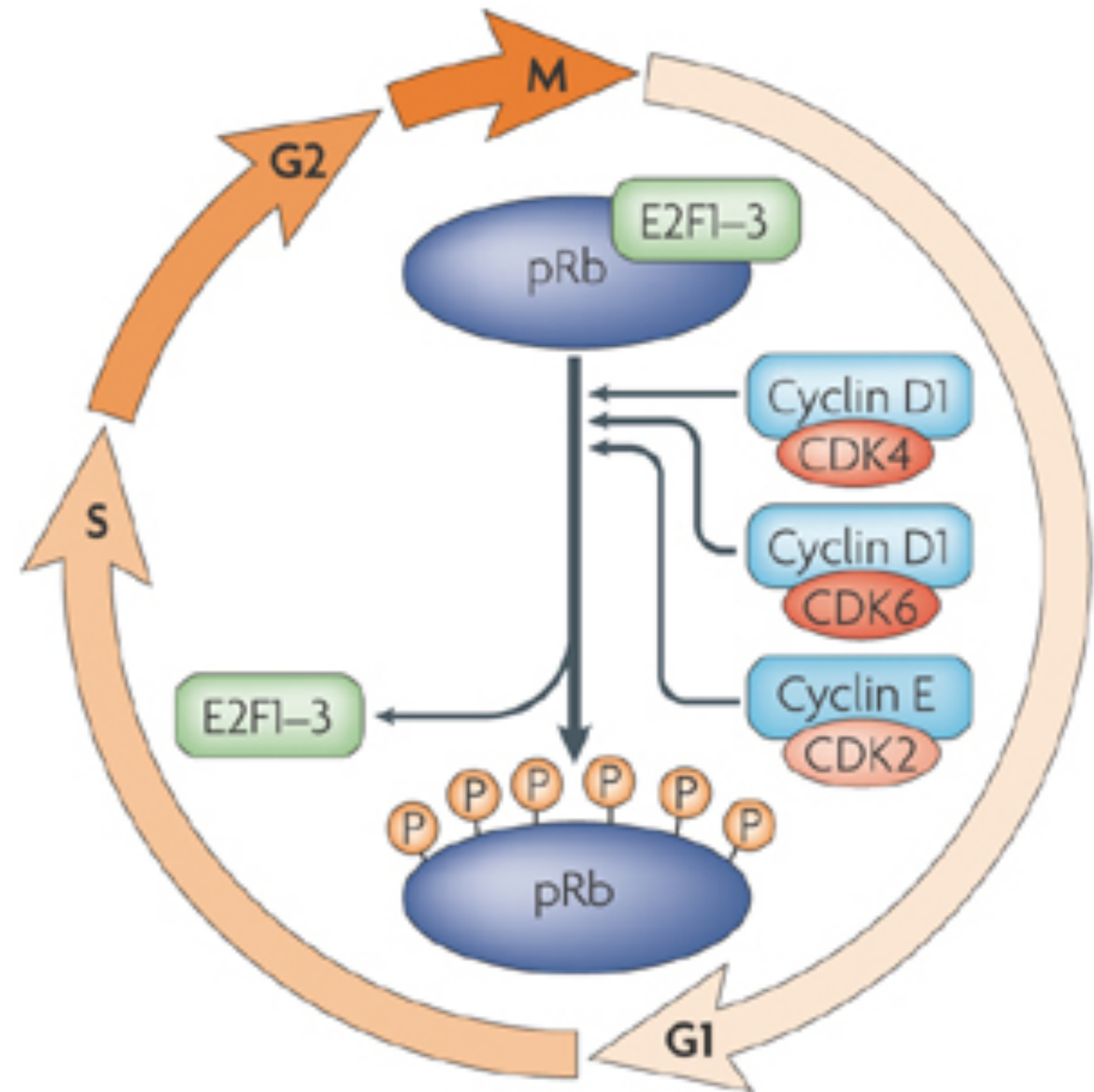
Retinoblastoma (siatkówczak)

- Rzadki (1/15 000) nowotwór siatkówki u dzieci
- Postać sporadyczna (55%) i dziedziczna (45%)
- Postać dziedziczna – mutacje genu Rb
- białko pRb – antyonkogen, kontrola cyklu komórkowego
 - W dzielących się komórkach hamuje przejście G1/S przy uszkodzonym DNA i aktywuje apoptozę
 - W komórkach spoczynkowych blokuje wyjście z G0, ale nie aktywuje apoptozy



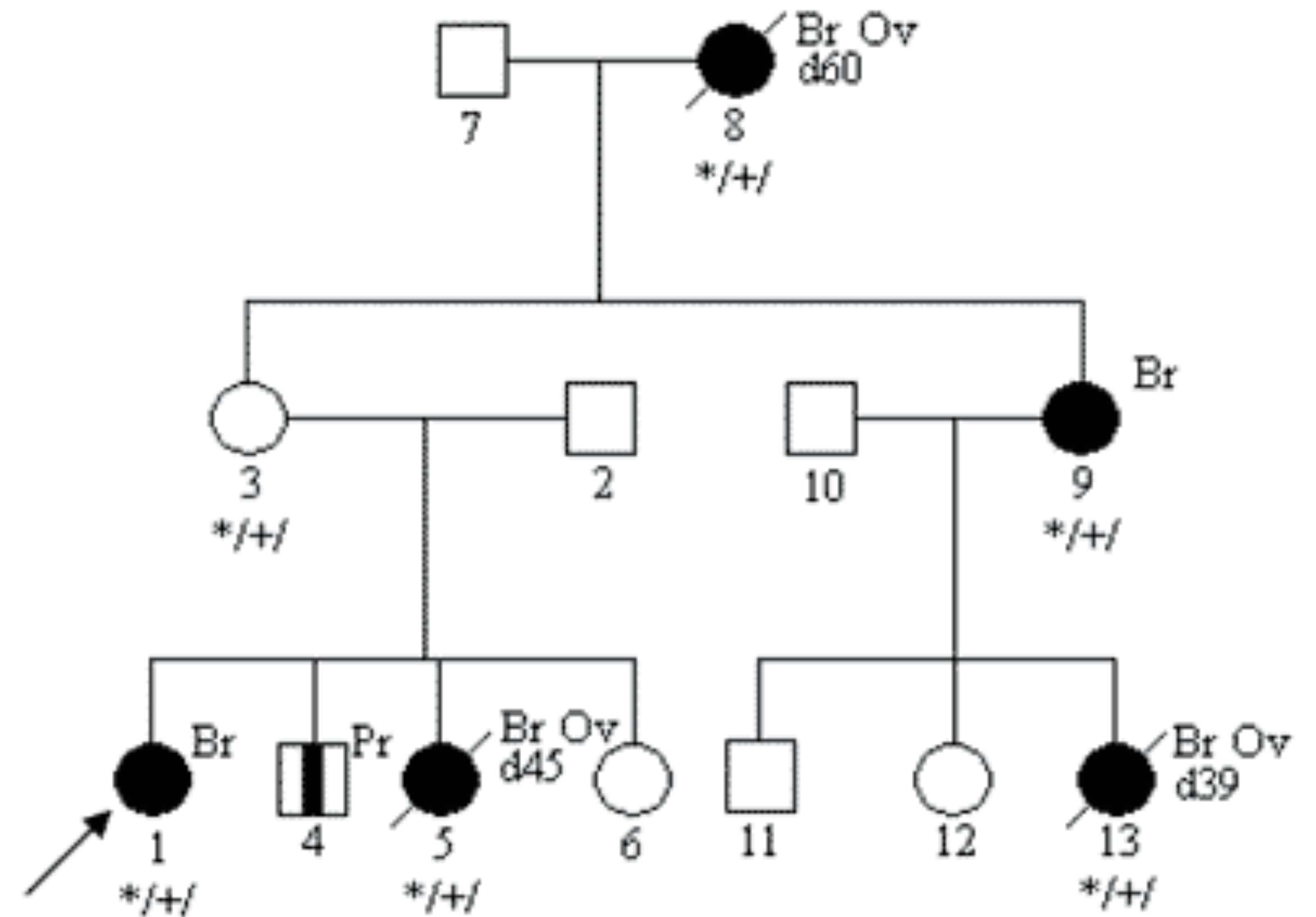
pRb w regulacji cyklu

- Hamuje cykl komórkowy wiążąc czynniki transkrypcyjne E2F aktywujące fazę S
- Fosforylacja pRb (kinazy CDK) odblokowuje wejście w fazę S



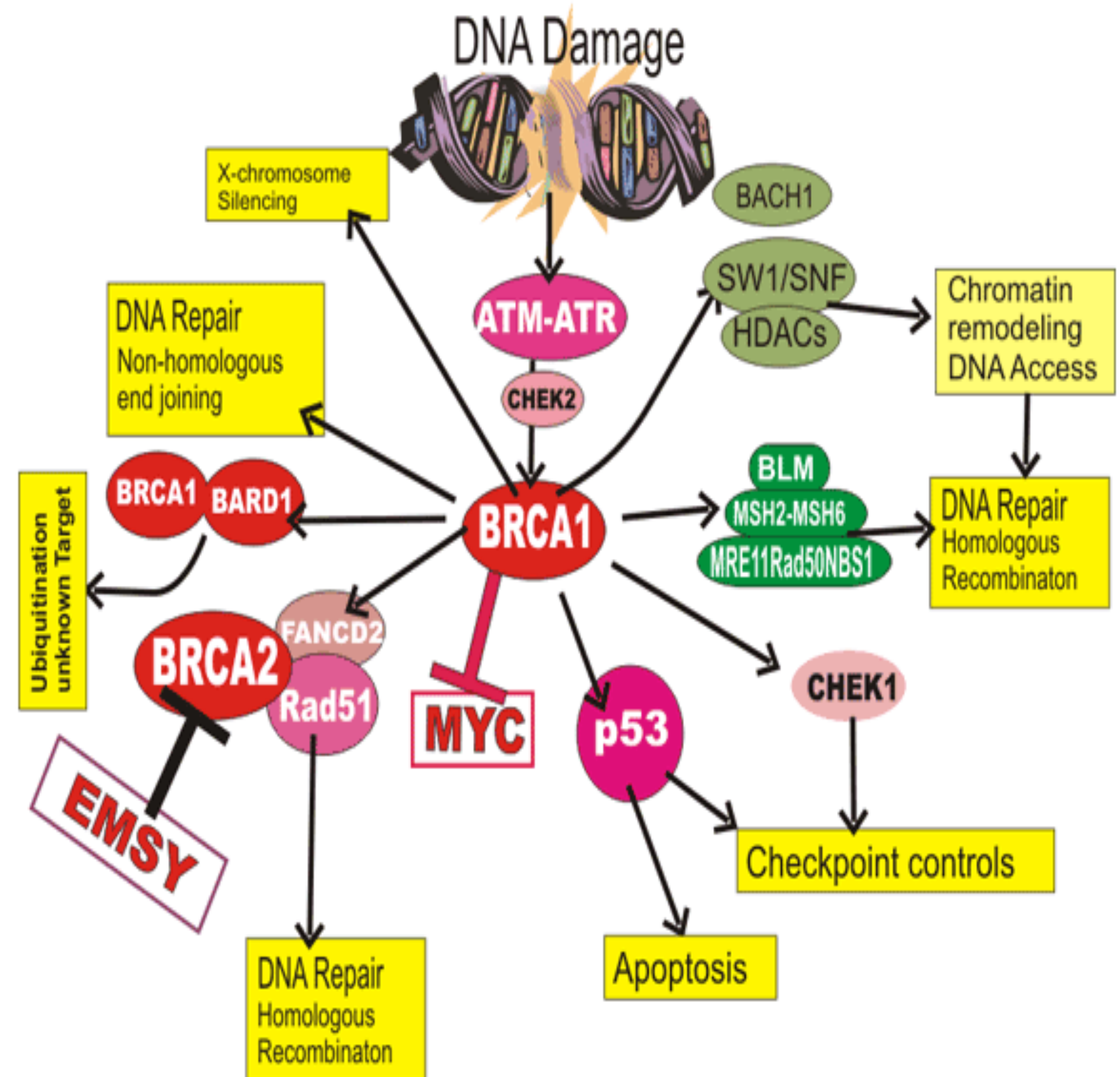
Rak piersi

- Większość przypadków to przypadki pojedyncze, niezwiązane z dziedziczeniem mutacji
- Ok. 5-10% przypadków - formy rodzinne
- W rodzinie rak piersi lub jajnika



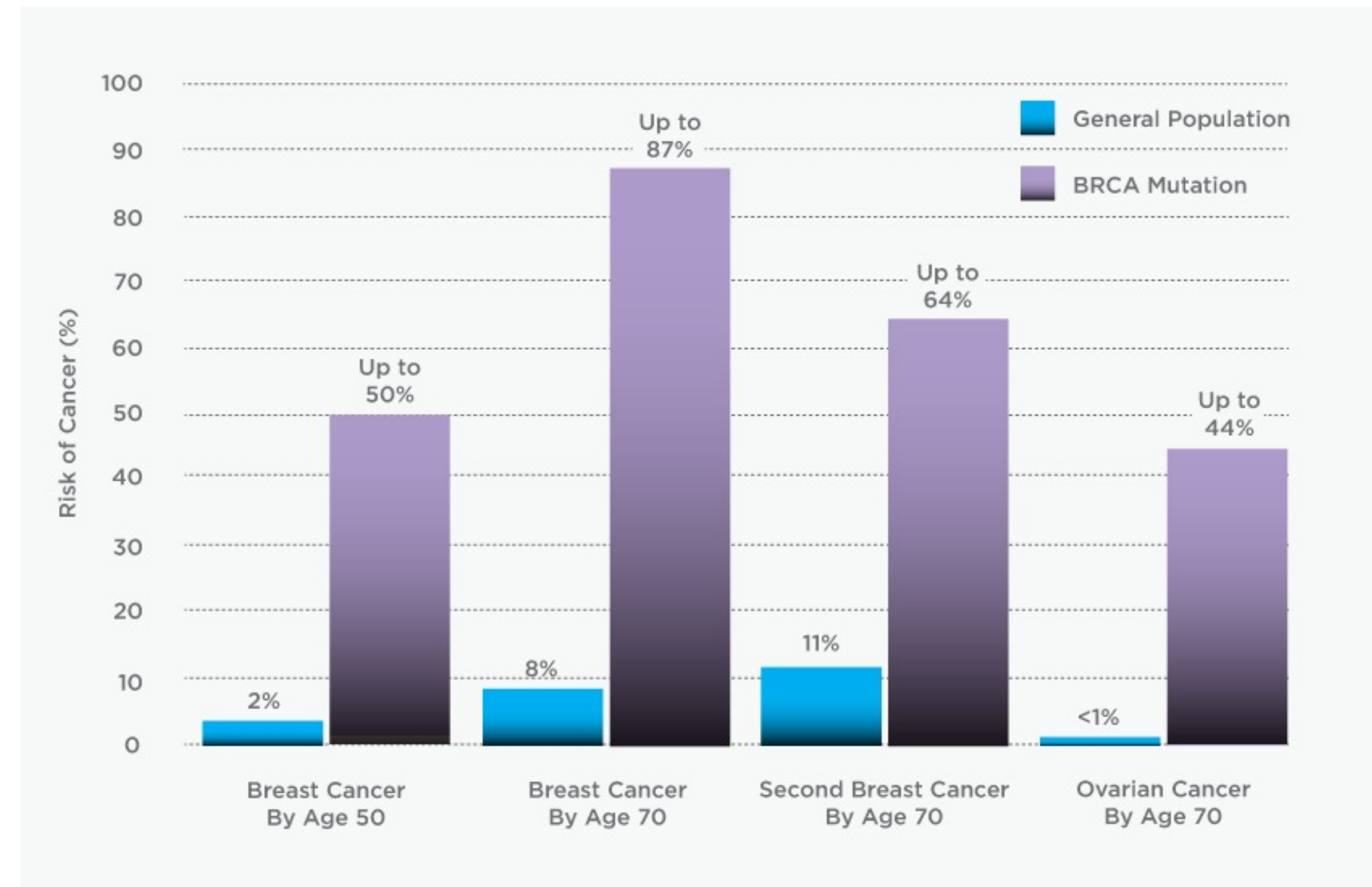
Rodzinny rak piersi

- Mutacje genów *BRCA1* i *BRCA2*
- Produkty zaangażowane w naprawę uszkodzeń DNA



Mutacje *BRCA* a ryzyko

- Jeżeli w rodzinie występuje choroba wskazany test (http://www.coi.pl/wp-content/uploads/2017/08/ankieta_zgloszeniowa.pdf)
- Test genetyczny nie zastąpi innych badań (>80% przypadków bez rodzinnych mutacji *BRCA*)

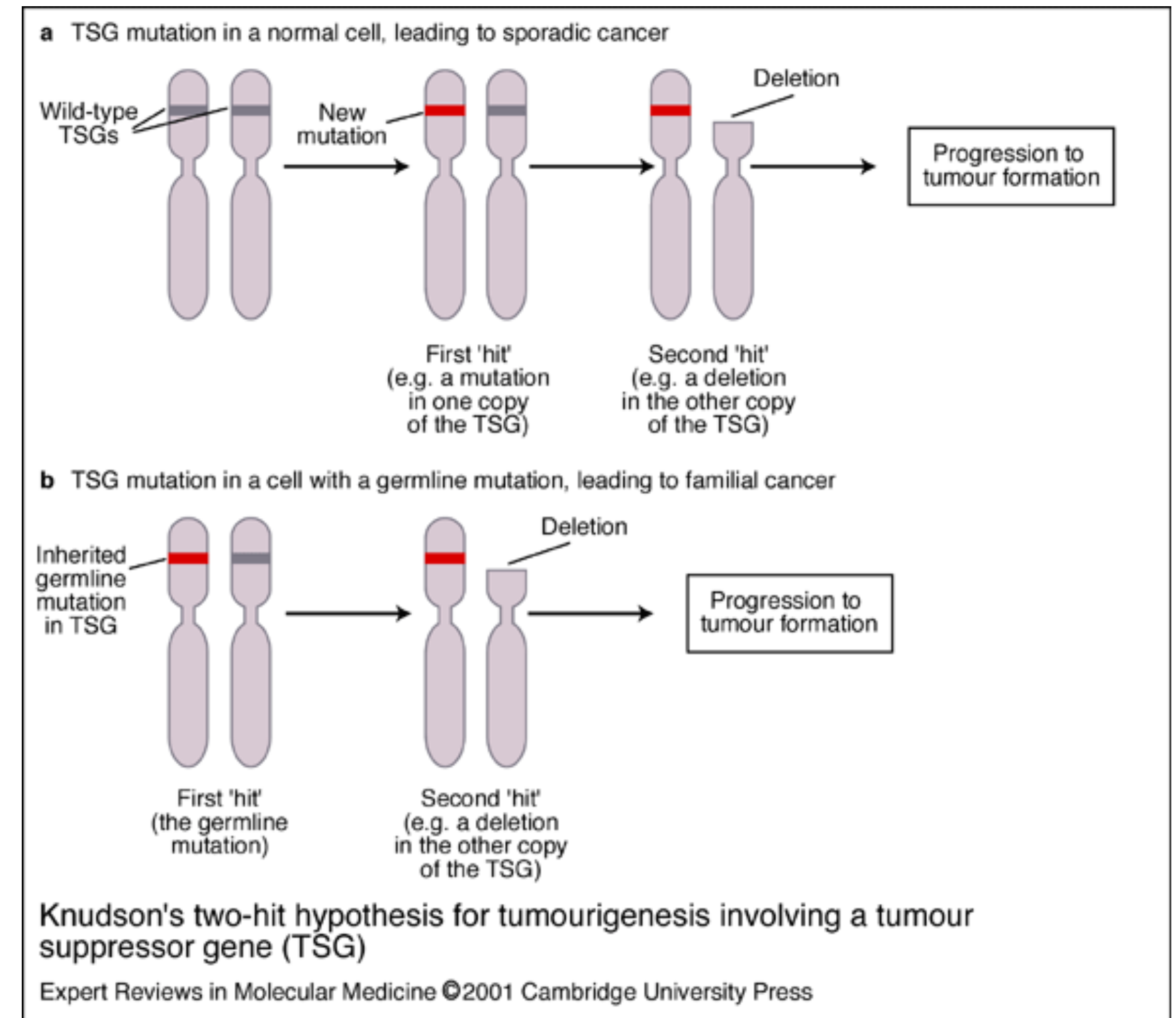


Genetyka nowotworów dziedzicznych

- Z reguły mutacje antyonkogenów lub systemów naprawy DNA
- Mutacje utraty funkcji – recesywne na poziomie komórki
 - oba allele nieaktywne w komórkach nowotworowych
- Ale dziedziczą się (wzór rodowodu) jak cechy dominujące

Teoria dwóch uderzeń

- Knudson (1971) – badania nad siatkówczakiem
- Do rozwoju nowotworu potrzebna inaktywacja obu alleli supresora nowotworów
- Odziedziczenie 1 zmutowanego allelu silnie zwiększa prawdopodobieństwo, że w ciągu życia chory utraci oba funkcjonalne allele
- Utrata drugiego allelu (utrata heterozygotyczności) może nastąpić już na etapie rozwoju zarodkowego



Genetyka nowotworów - podsumowanie

	Onkogeny	Supresory nowotworów	Geny naprawy DNA
Liczba zmutowanych alleli w komórce	1 (dominujące)	2 (recesywne)	2 (recesywne)
Typ mutacji	neomorfy, hipermorfy	nullomorfy, hipomorfy	nullomorfy, hipomorfy
Pochodzenie mutacji	Najczęściej somatyczne	Somatyczne lub odziedziczone	Somatyczne lub odziedziczone
Mechanizm działania	Szlaki aktywacji podziału komórki	Hamowanie podziałów, apoptoza	Utrzymywanie stabilności genomu