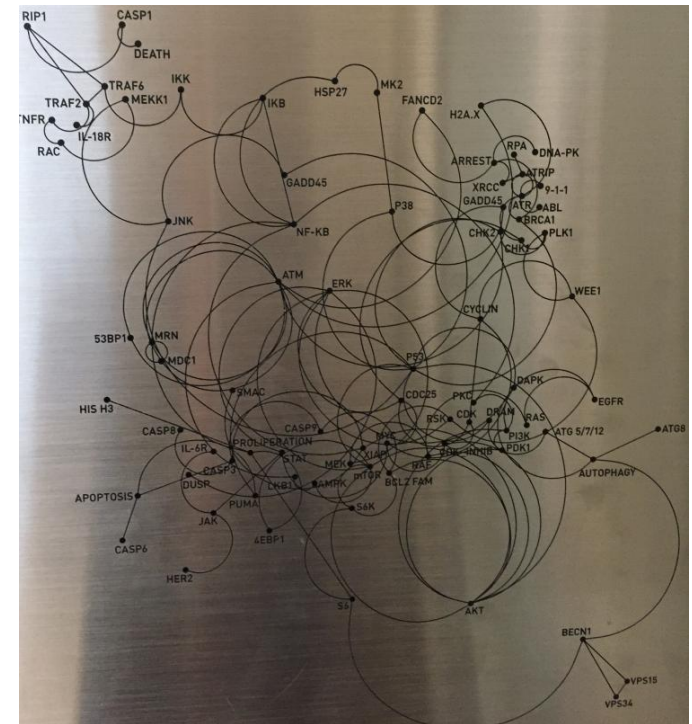


Механізми злоякісної трансформації еукаріотичних клітин

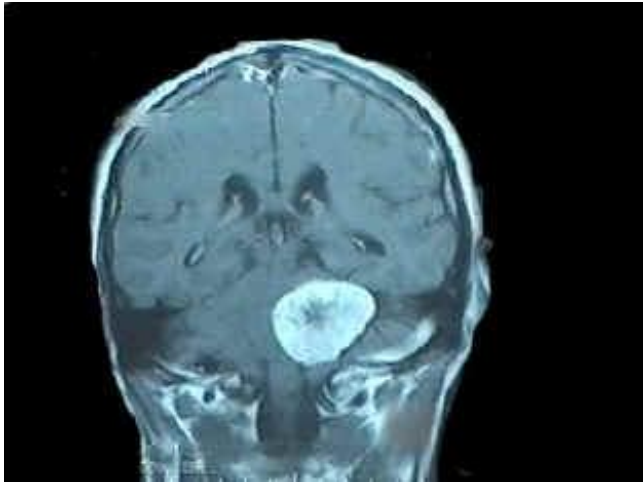


КОСТЕНКО
ВІТАЛІЙ
ОЛЕКСАНДРОВИЧ,
доктор медичних наук,
професор,

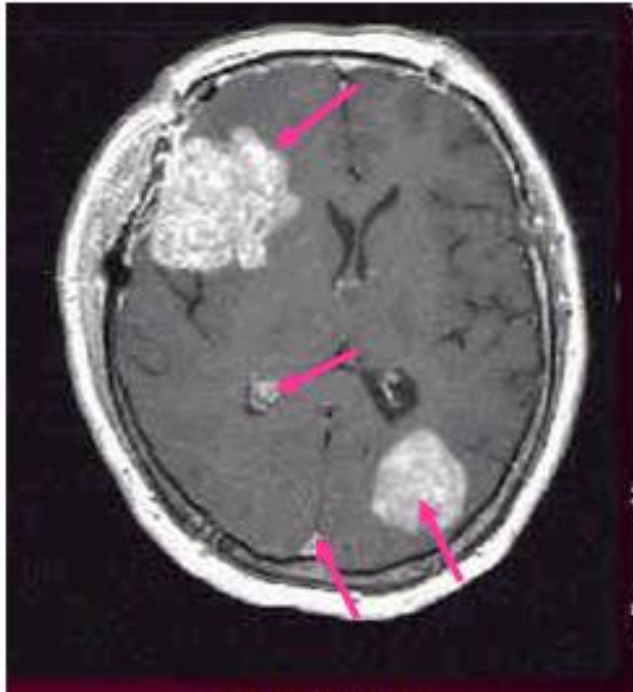




У людини 90% всіх злоякісних опухолей мають епітеліальне походження, тобто є раком. В той же час у великої рогатої худоби, кіней, свиней 80% злоякісних опухолей виникають з клітин крові, тобто є гемобластозами, а у собак 50% злоякісних новоутворень представлені саркомаами - опухолями з клітин сполучної тканини.



Доброякісні пухлини мають експансивний ріст, унаслідок якого навколишні тканини відсуваються або розсуваються, іноді стискаються й піддаються атрофічним змінам. Чіткі межі між пухлиною і оточуючими її тканинами при експансивному рості імітують утворення капсули, хоча справжніх капсул у пухлини немає.



Злоякісні пухлини інфільтрують і руйнують тканини, що їх оточують. Інфільтративний (інвазивний) ріст є головним критерієм, що відрізняє злоякісні пухлини від доброякісних. Для злоякісних пухлин характерна також здатність до метастазування.

БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЗЛОЯКІСНИХ НОВОУТВОРЕНЬ

- ❑ Відносна автономність і **нерегульованість росту** пухлини організмом.
- ❑ **Іммор탈ізація** (втрата ліміту Хейфліка, відсутність апоптозу)
- ❑ Зниження рівня диференціювання пухлинних клітин – **атипізм, анаплазія** (грец. *anaplasia* перетворення в сенсі зворотного розвитку). Ці перетворення (спрощення) зближують їх з ембріональною тканиною. Розрізняють: **біохімічну анаплазію; морфологічну (тканинну і клітинну) анаплазію; фізико-хімічну анаплазію; функціональну анаплазію; імунологічну анаплазію.**

БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЗЛОЯКІСНИХ НОВОУТВОРЕНЬ (продовження)

- ☐ Вихід з-під контролю імунної системи
- ☐ Інвазивний і деструктивний ріст.
- ☐ Метастазування.
- ☐ Пухлинна прогресія.

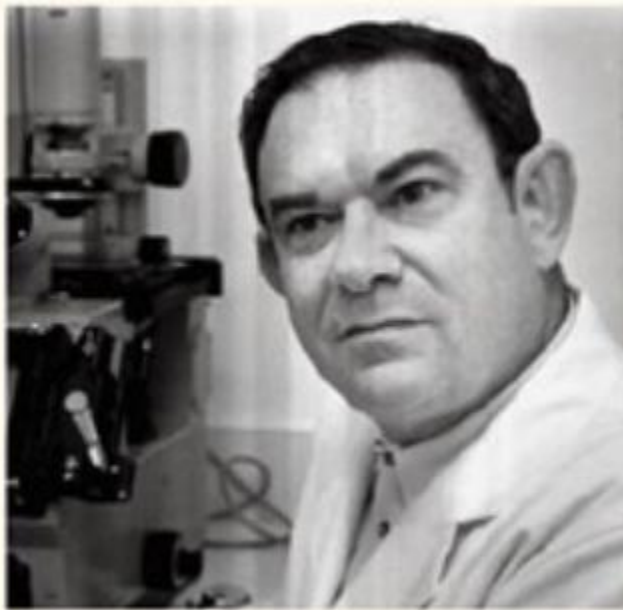
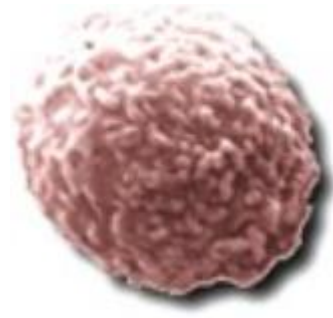


Figure 1 | Leonard Hayflick in 1988.
(Photograph: Peter Argentine.)

Межа Хейфліка.

Середньостатистична клітина ділиться близько 50–70 разів, перш ніж померти. У міру поділу клітини теломери на кінці хромосоми стають меншими.

Debunked Carrel (1940): cultured cells were immortal (HeLa Cells)

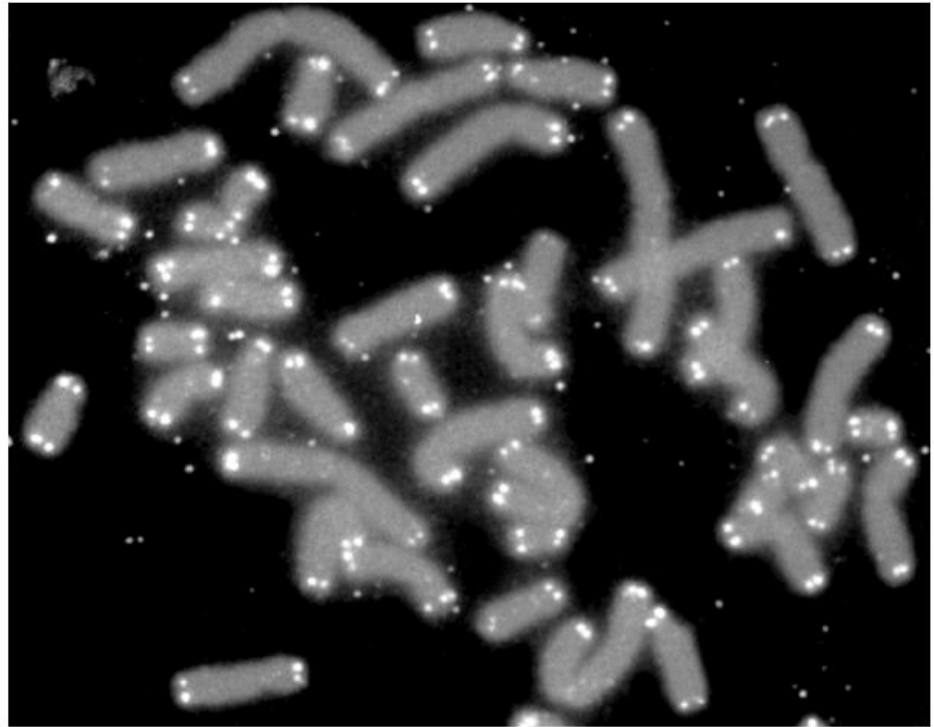


Henrietta Lacks

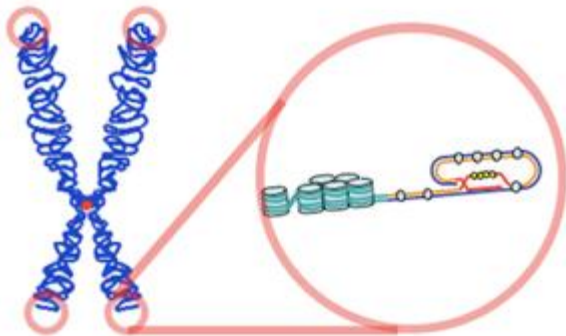


Реплікація теломерних відділів ДНК

If you could zoom in and look at the DNA on the tip of one of your chromosomes, what would you see? You might expect to find genes, or perhaps some DNA sequences involved in gene regulation. Instead, what you'd actually find is a single sequence – **TTAGGG** – repeated over and over again, hundreds or even thousands of times.



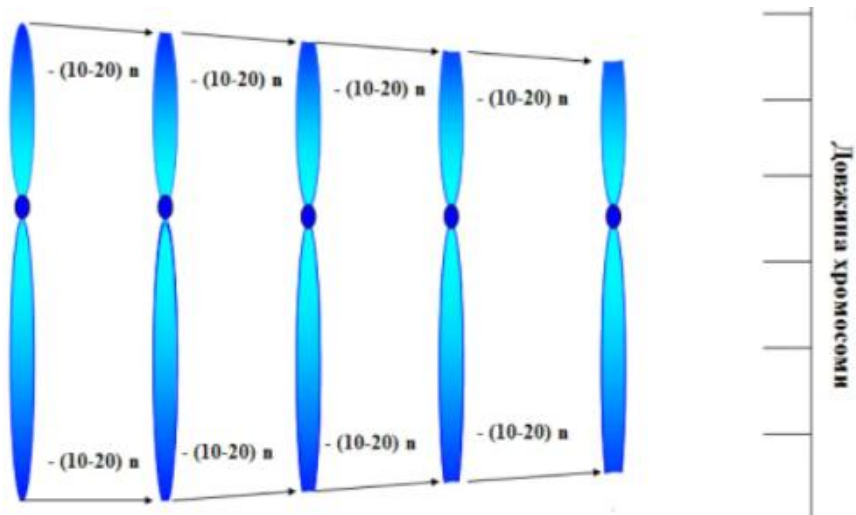
Теломеры представлены яркими пятнами на концах каждой хромосомы



14:37:57

<https://www.khanacademy.org/science/biology/dna-as-the-genetic-material/dna-replication/a/telomeres-telomerase>

Реплікація теломерних відділів ДНК



In humans, a six base pair sequence, TTAGGG, is repeated 100 to 1000 times. After each round of DNA replication, some telomeric sequences are lost at the 5' end of the newly synthesized strand on each daughter DNA, but because these are noncoding sequences, their loss does not adversely affect the cell. However, even these sequences are not unlimited. After sufficient rounds of replication, all the telomeric repeats are lost, and the DNA risks losing coding sequences with subsequent rounds.

ТЕЛОМЕРА - кінцева ділянка хромосоми, що складається з некодуючих послідовностей нуклеотидів (**TTAGGG**) n , де n - кількість повторів ($n \cong 1000$)



Алексей Оловников

ТЕОРІЯ МАРГІНОТОМІЇ

A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon.

J Theor Biol. 1973 Sep
14;41(1):181-90.



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2009



Photo: U. Montan

**Elizabeth H.
Blackburn**



Photo: U. Montan

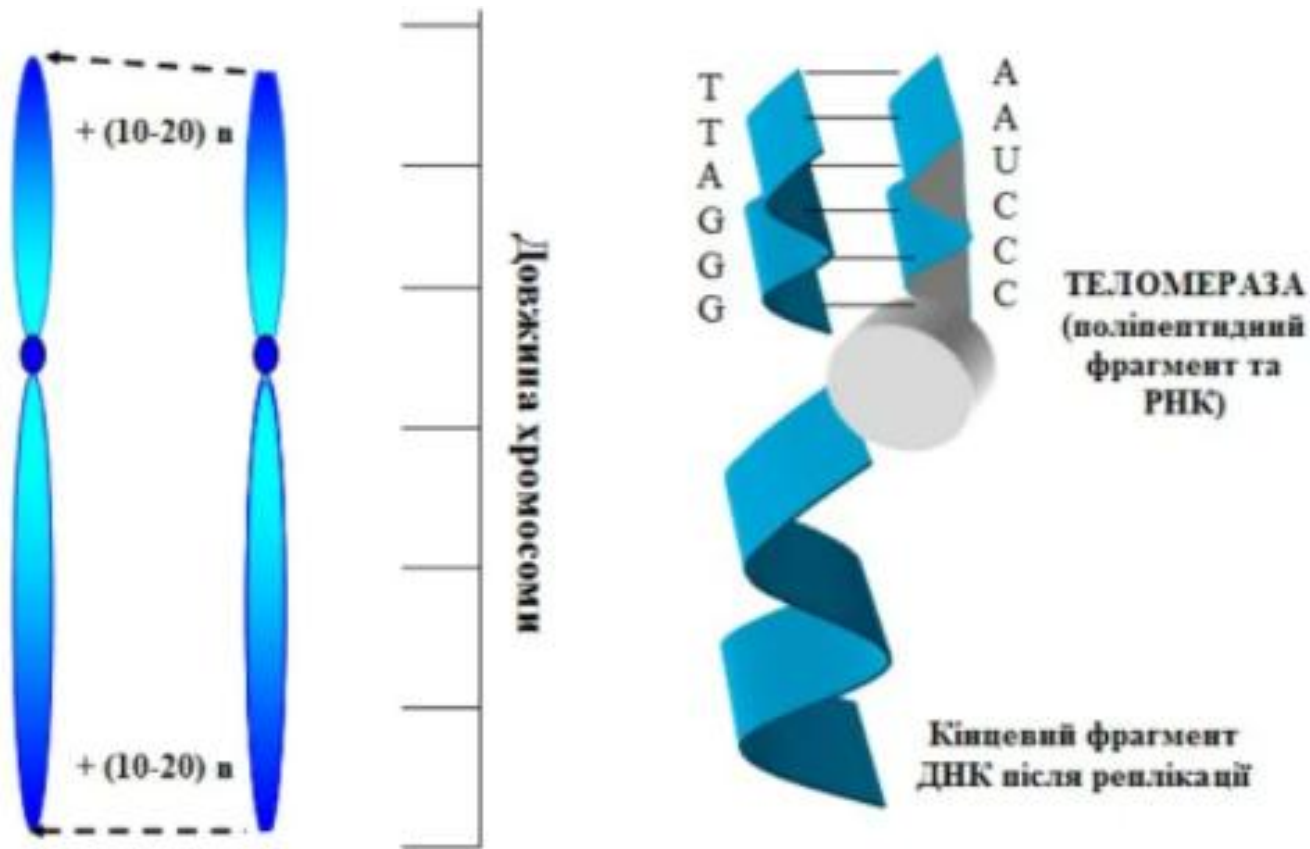
Carol W. Greider



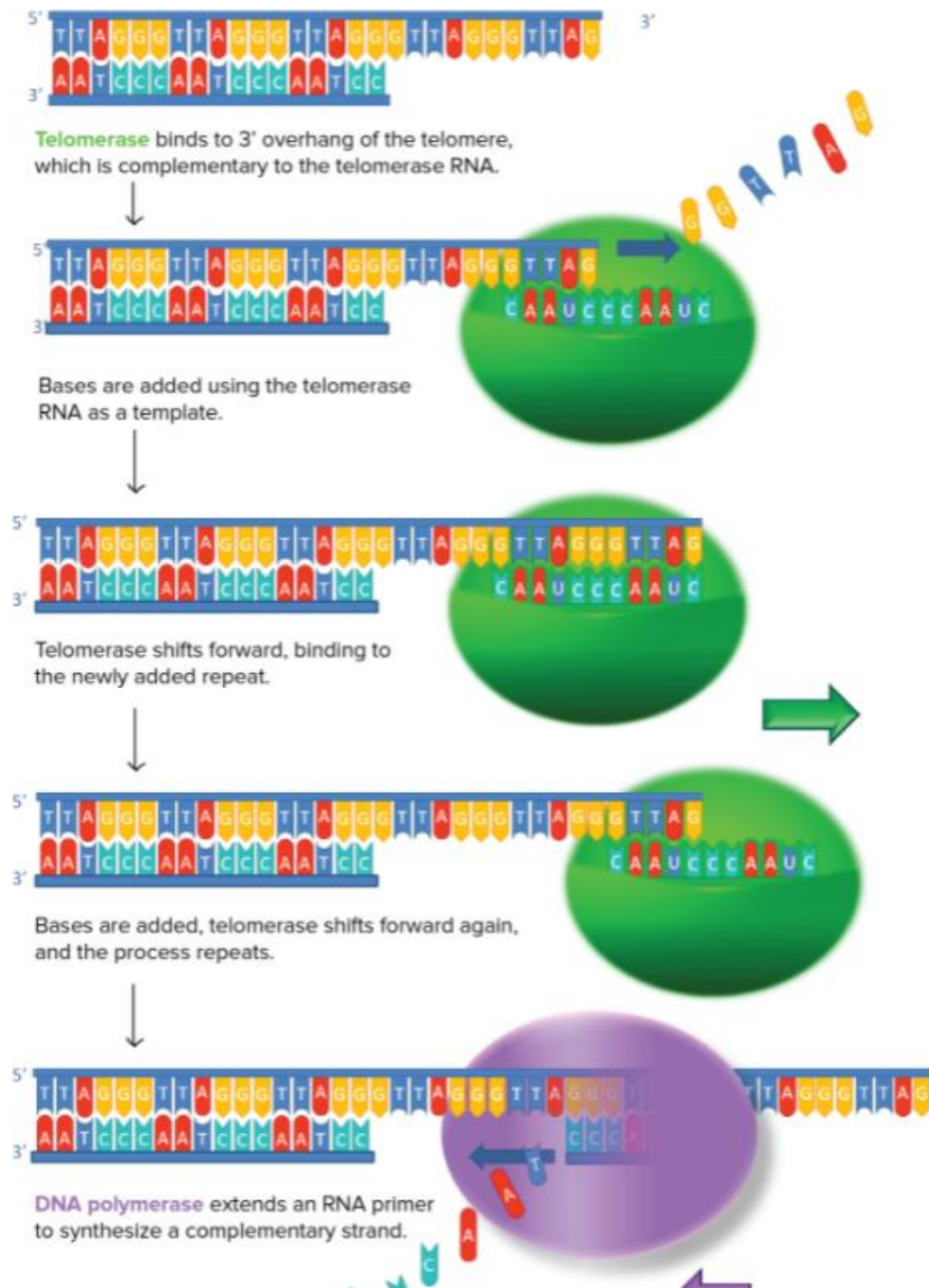
Photo: U. Montan

Jack W. Szostak

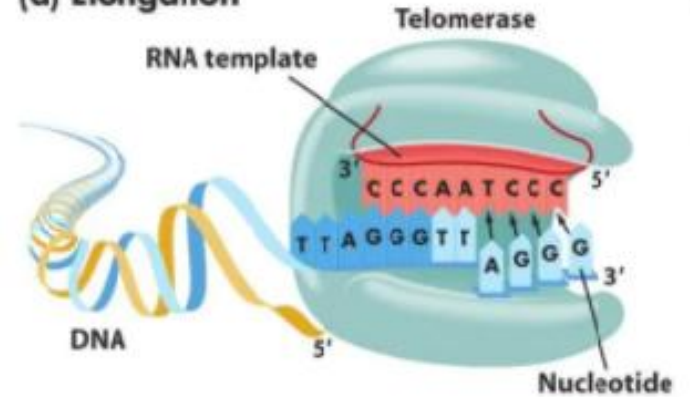
*"for the discovery of how chromosomes are protected by telomeres
and the enzyme telomerase"*



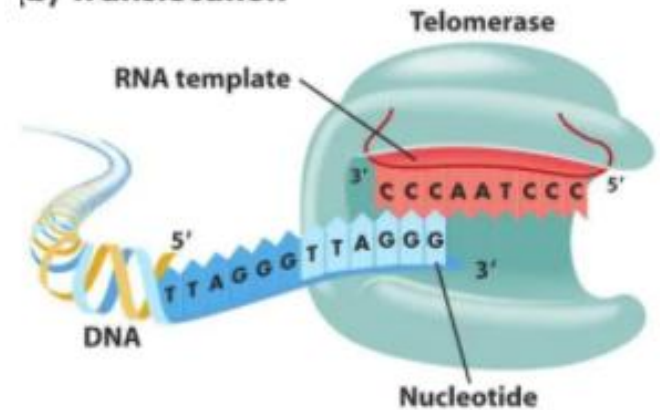
ТЕЛОМЕРАЗА - фермент, що відновлює послідовність нуклеотидів на кінцях хромосоми та може забезпечити необмежену кількість клітинних поділів



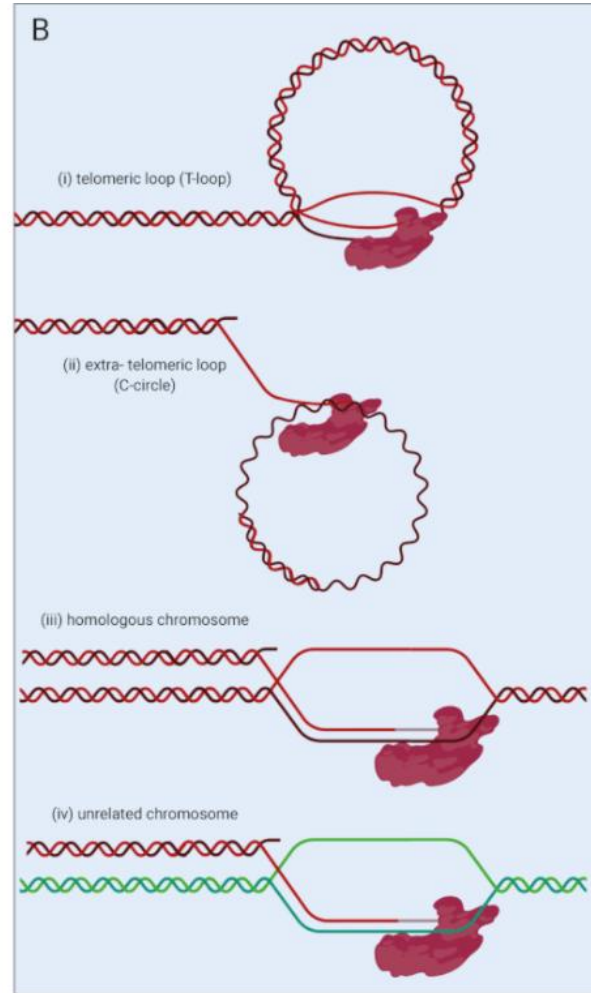
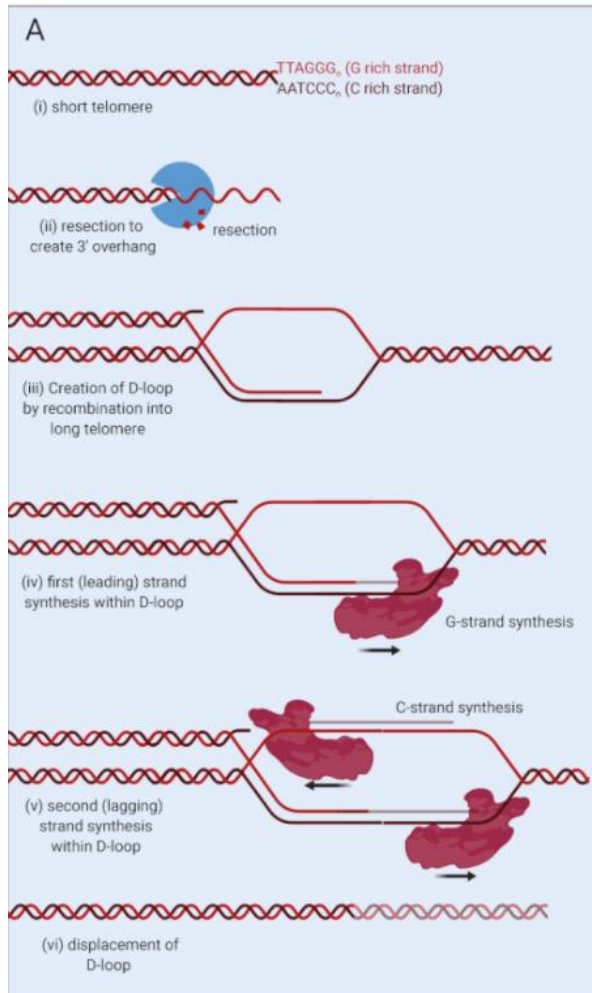
(a) Elongation



(b) Translocation



Alternative lengthening of telomeres (recombination-mediated telomere synthesis)



About 10% of all cancers, including some that have a particularly poor prognosis, use the alternative lengthening of telomeres (ALT) pathway to prevent the telomere shortening that accompanies proliferation of normal cells.

Mechanisms of Alternative Lengthening of Telomeres by a recombination based mechanism. (a) Schematic of conservative replication of DNA by break-induced telomere synthesis. (b) Four potential sources of DNA/telomere sequence that can be copied during new telomere synthesis by ALT

Біохімічна (метаболічна) анаплазія

I. Білковий обмін

- ☐ "пастки для азоту" – амінокислоти інтенсивно витягуються з крові;
- ☐ переважають процеси анаболізму над процесами катаболізму;
- ☐ різко підвищений синтез ДНК, РНК;
- ☐ порушено процеси переамінування та дезамінування амінокислот;
- ☐ синтезуються білки, властиві ембріональному періоду розвитку або тканинам інших органів.

II. Вуглеводний обмін

- ❑ "пастки для глюкози" – глюкоза інтенсивно витягується з крові;
- ❑ збільшується активність анаеробного гліколізу на тлі нормального вмісту кисню (негативний ефект Пастера);
- ❑ знижується окисне фосфорилування і тканинне дихання;
- ❑ часто відзначається розвиток метаболічного ацидозу (рН 6,4).

III. Жировий обмін

- ❑ "пастки для ліпідів" – жирні кислоти, ліпопротеїди, холестерин активно витягуються з крові;
- ❑ активується синтез ліпідних структур клітин;
- ❑ активуються процеси ліпопероксидації

Метаболічний атипізм злоякісних клітин створює умови для суттєвого підвищення їхньої "конкурентноздатності" та виживання в організмі.

❑ ФУНКЦІОНАЛЬНА АНАПЛАЗІЯ – втрата або невідповідність, непідпорядкування функції пухлинних клітин регуляторним впливам організму.

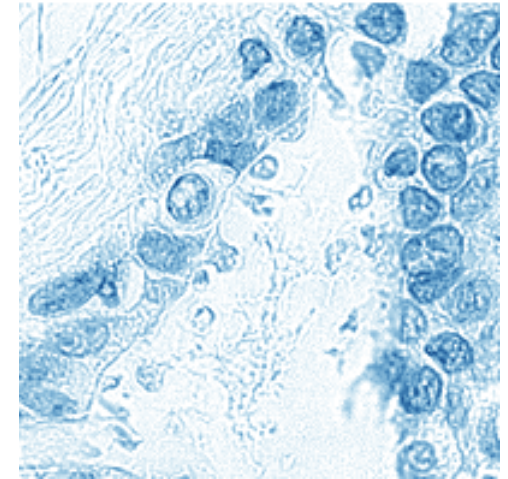
❑ ІМУНОЛОГІЧНА АНАПЛАЗІЯ:

- **антигенне спрощення** характеризується зменшенням АГ у злоякісних клітинах порівняно з клітинами, з яких вони трансформувалися;
- **антигенне ускладнення** – поява нових АГ, наприклад, пов'язаних із наявністю в клітині онкогенного вірусу.

Cancer cells

Are little differentiated

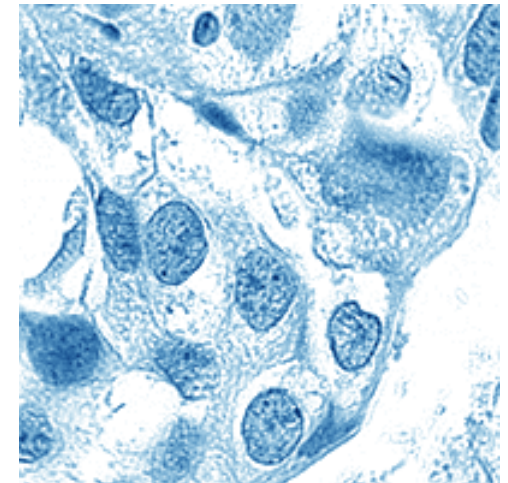
- have lost of normal functions
- adopt inappropriate functions (excessive production of certain factors)



Normal breast duct cells

Are characterized by

- an enlarged nucleus with a big nucleolus
- little cytoplasm and altered morphology
- fewer contacts with neighbours



Breast duct in cancer cells

ОНКОГЕННІ ФАКТОРИ

ЕКЗОГЕННІ

ФІЗИЧНІ: іонізуюче
опромінення, ультрафіолетове
опромінення

ХІМІЧНІ: поліциклічні та
гетероциклічні вуглеводні,
алкілюючі, ацетилюючі
сполуки, ароматичні аміни,
аміди та ін.

БІОЛОГІЧНІ: ДНК та
РНК-вмісні віруси

ЕНДОГЕННІ

- порушення
гормонального
гомеостазу

- генетична схильність

- хромосомні хвороби
(нестабільність геному)
та ін.

Властивості канцерогенів

- ❑ **Мутагенність**, тобто здатність прямо або побічно впливати на геном клітини.
- ❑ Здатність проникати через зовнішні та внутрішні бар'єри.
- ❑ **Органотропність**, тобто здатність проявляти канцерогенність у певних органах і тканинах.
- ❑ Здатність пригнічувати тканинне дихання і функцію імунної системи
- ❑ **Дозованість дії**, що забезпечує незначні пошкодження клітини.
- ❑ **Синканцерогенез** – прискорена пухлинна трансформація клітин при дії декількох канцерогенів.
- ❑ **Коканцерогенез** – здатність деяких факторів, які не є канцерогенами, посилювати ефект канцерогенів.

Стадії онкогенезу

- 1. Трансформація (ініціація) – утворення клітини, що має потенційну здатність до безмежного, неконтрольованого поділу**
- 2. Промоція (розбурювання) – активація поділу клітин, що мають потенцію здатність до безмежного, неконтрольованого поділу**
- 3. Прогресія – набуття нових властивостей пухлинними клітинами, що дозволяють безмежно, та неконтрольовано ділитися та розповсюджуватися**

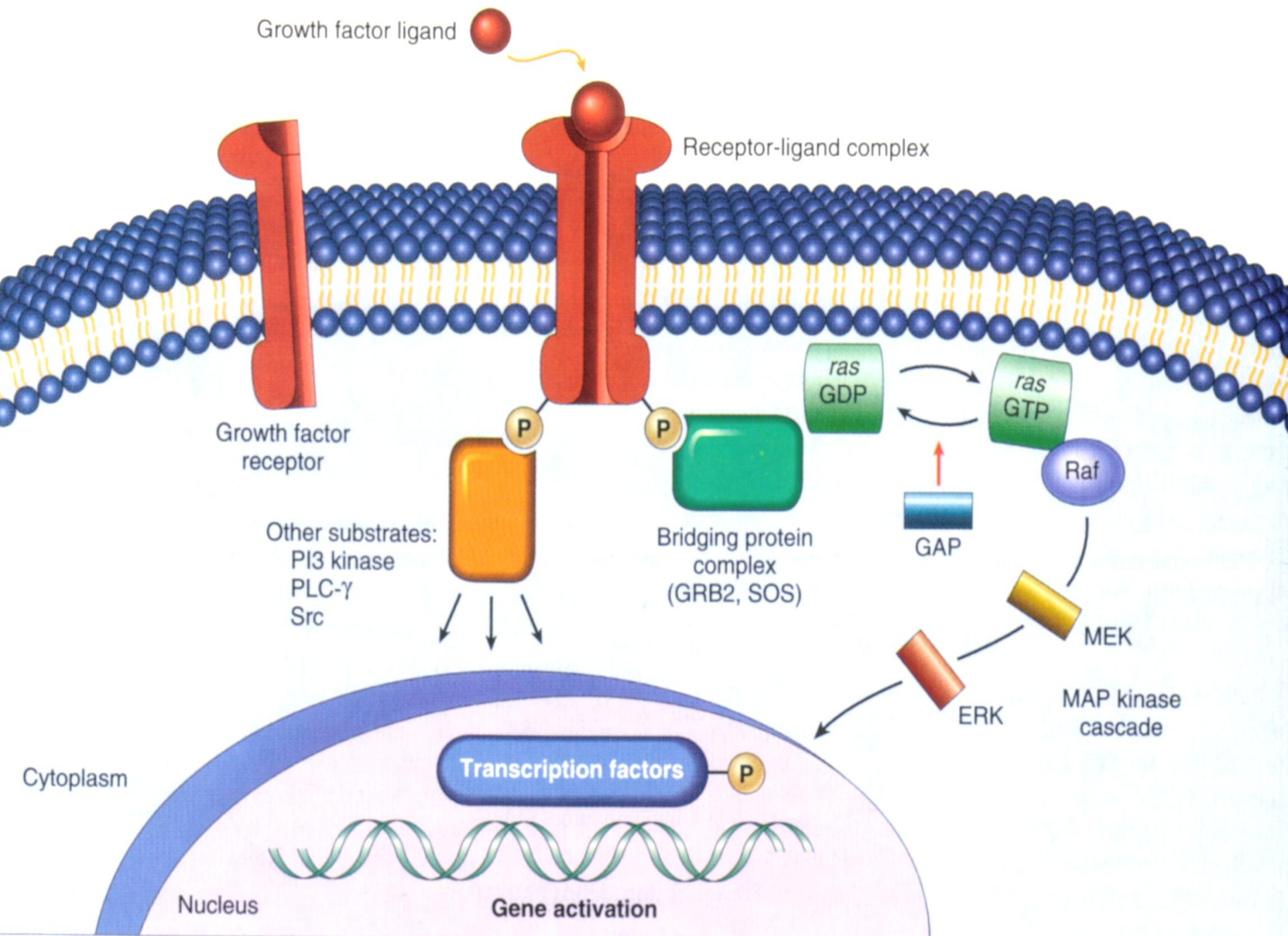
Молекулярні механізми пухлинного росту

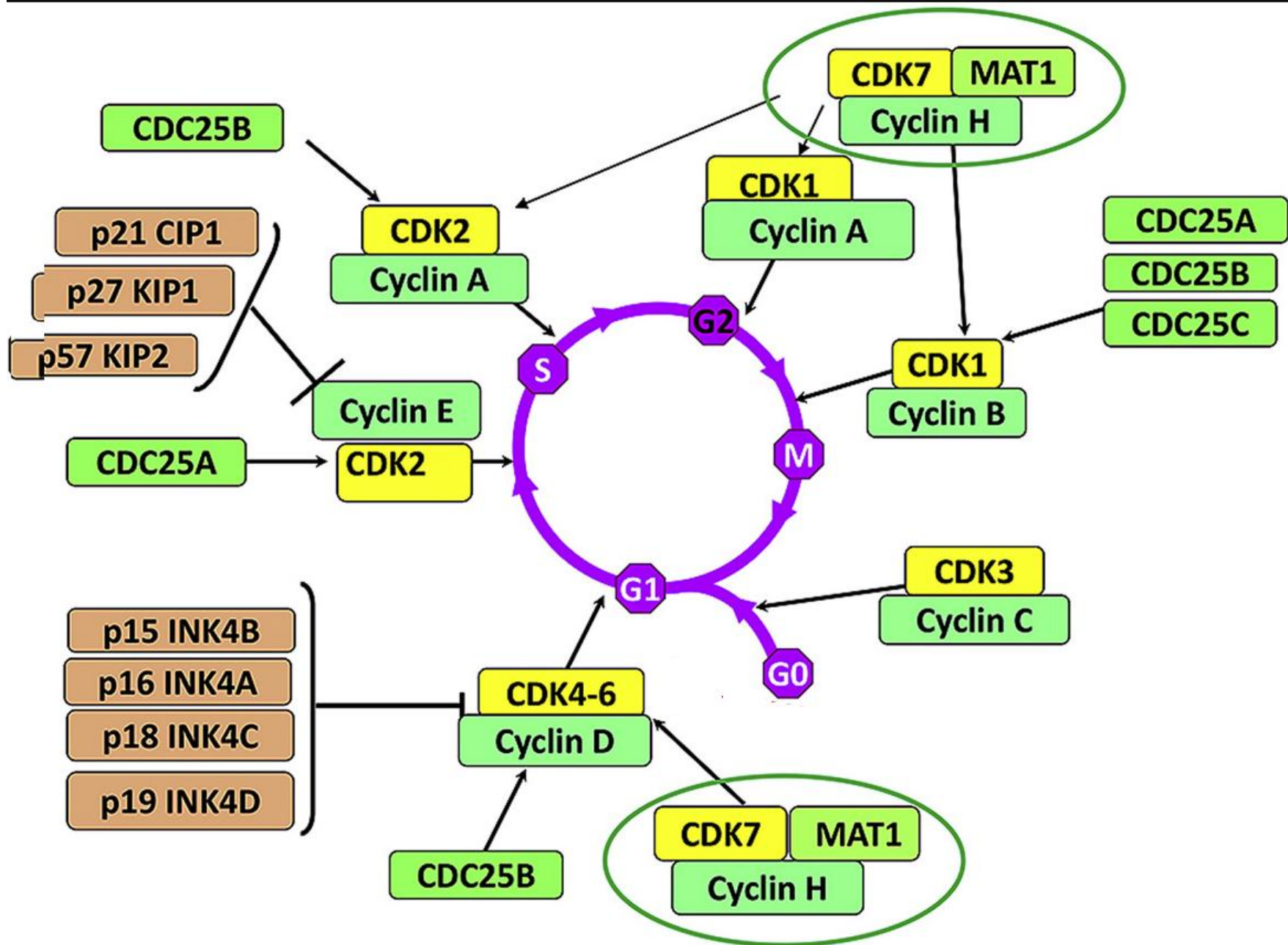


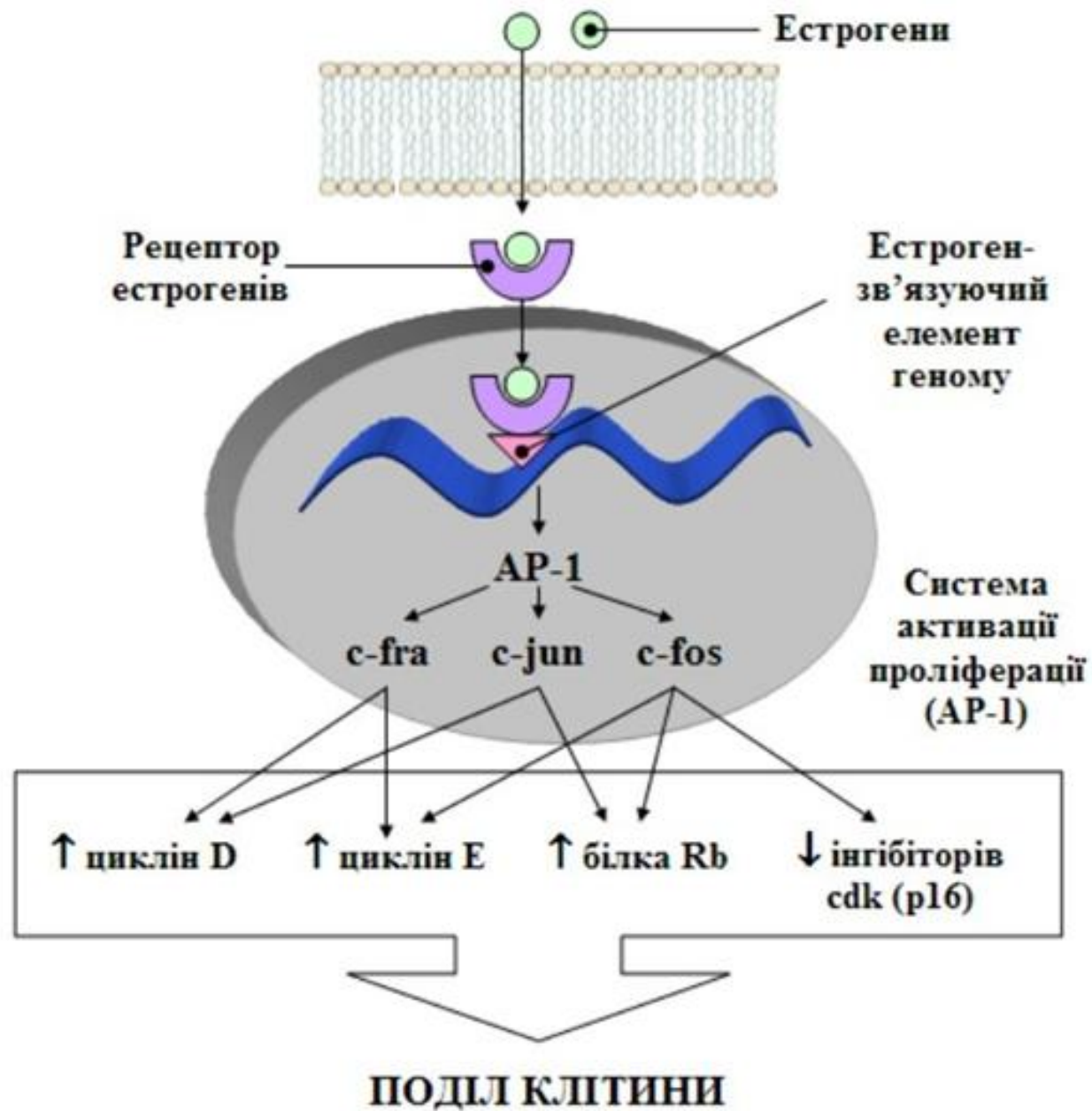
J.M. Bishop

(лауреат Нобелівської премії 1989 р.)

Два типи генів керують розмноженням клітин: **протоонкогени**, які відіграють роль акселераторів поділу, і **гени-супресори**, що виконують функцію гальм. Заклинить акселератор або приборить гальма - і клітина, ніби спущена з ланцюга, почне безупинно ділитися.



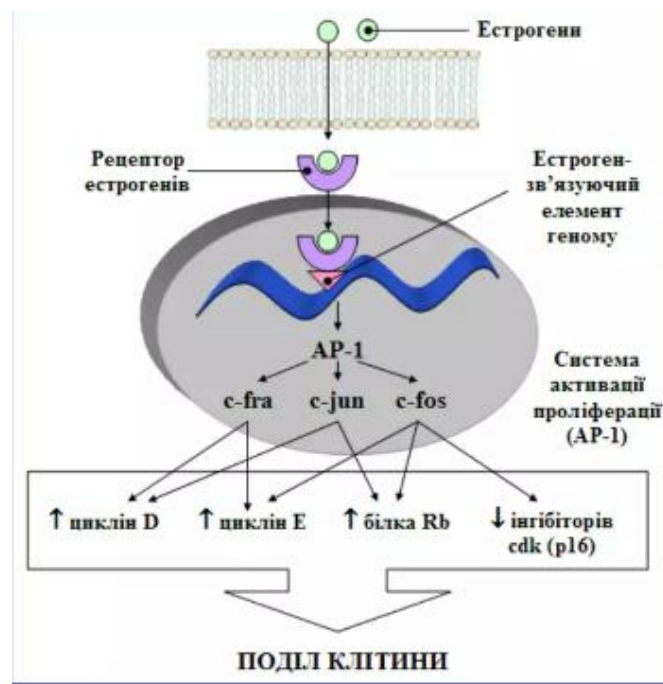
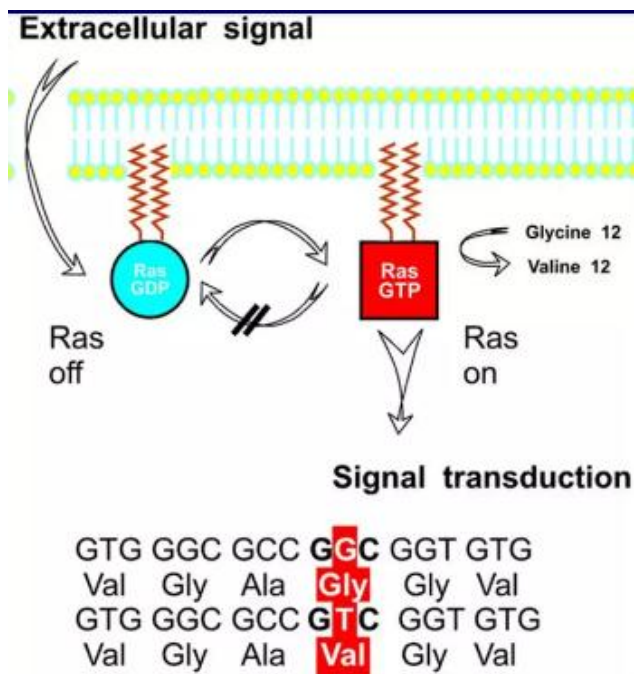




МЕХАНІЗМИ ОНКОГЕНЕЗУ

МУТАЦІЙНІ
передбачають
стійкі зміни в
генетичному
апараті клітин
(мутації)

ЕПІГЕНЕТИЧНІ
не передбачають
стійких змін в
генетичному апараті
клітин, а вказують на
порушення регуляції
поділу клітин



Молекулярні механізми пухлинного росту

- ☐ Гени, що контролюють поділ клітин за допомогою цитокінів.

Чотири класи регуляторних генів:

- ☐ промотори – протоонкогени;
- ☐ інгібітори - гени-супресори раку - p53;
- ☐ гени, що регулюють апоптоз;
- ☐ гени репарації днк.

Oncogenes

- The first oncogene (src) was discovered in 1970 in a chicken retrovirus. In 1976, Bishop and Varmus demonstrated that oncogenes were defective proto-oncogenes that coded for normal growth and differentiation proteins (“the enemy within”), for which they received the Nobel Prize in 1989.
- Oncogenes are “driver” mutations that encode
 - Receptor/cytoplasmic tyrosine kinases (EGFR, PDGFR, Ras/MAPK)
 - Ser/thr kinases (AKT, mTOR)
 - Lipid kinases (PI-3K)
 - Transcription factors (c-MYC, STATs, c-JUN, c-FOS)
 - Cyclins/CDKs (Cyclin D)
 - Regulators of protein stability (MDM2)
 - Anti-apoptotic factors (BCL-2, BCL-XL)

В основі канцерогенезу лежить нелетальне генетичне пошкодження.

- ☐ Втрата/пошкодження генів-супресорів.
- ☐ Дуплікація промоторних генів.
- ☐ Втрата/пошкодження генів апоптозу.
- ☐ Втрата/пошкодження генів репарації ДНК.

МЕХАНІЗМИ ПЕРЕХОДУ ПРОТООНКОГЕНА В ОНКОГЕН

- 1.Дефект регуляції транскрипції (інсерція гетеротопного промотора)** – включення (вставка) промотора. Промотор - ділянка ДНК, призначена для підсадки РНК-полімерази, що ініціює транскрипцію гена, зокрема й онкогена. Промоторами можуть бути ДНК-копії онковірусів, "транспозони" (стрибаючі гени). Можлива їхня велика роль в онкогенезі дітей.
- 2.Ампліфікація протоонкогенів** – збільшення кількості протоонкогенів обумовлює гіперекспресію. Це призводить до неадекватного за місцем і часом надлишкового синтезу відповідних онкобілків (у 30-50 разів більше). Приклад, С-тус, N-тус (дрібноклітинний рак легені, нейробластома).

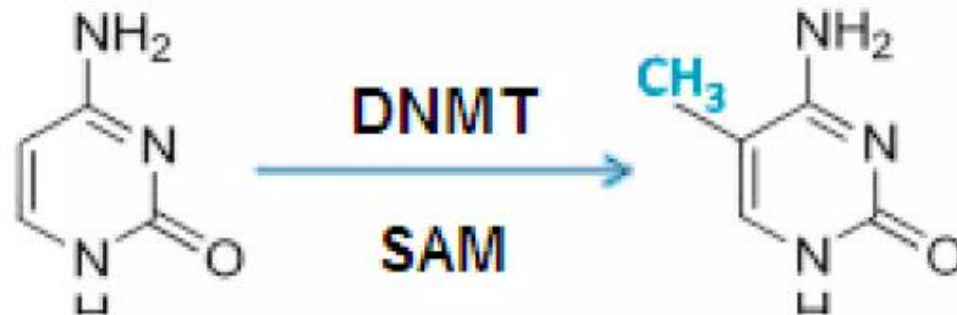
3. Транслокація протоонкогена – переміщення протоонкогена в ділянку іншої хромосоми з функціонуючим геном (генами). У цій ситуації структурна частина протоонкогена позбавляється своїх нормальних регуляторних механізмів і потрапляє під контроль "чужого" оточення (промотора або енхансера). Таким є механізм активації С-тус при лімфомі Беркіта.

4. Точкова мутація – структурні пошкодження, які зумовлюють синтез сигнального білка (продукту онкогена) в активній конформації. Наприклад, рак шлунка, сечового міхура точкова мутація с-Ha-ras 1.

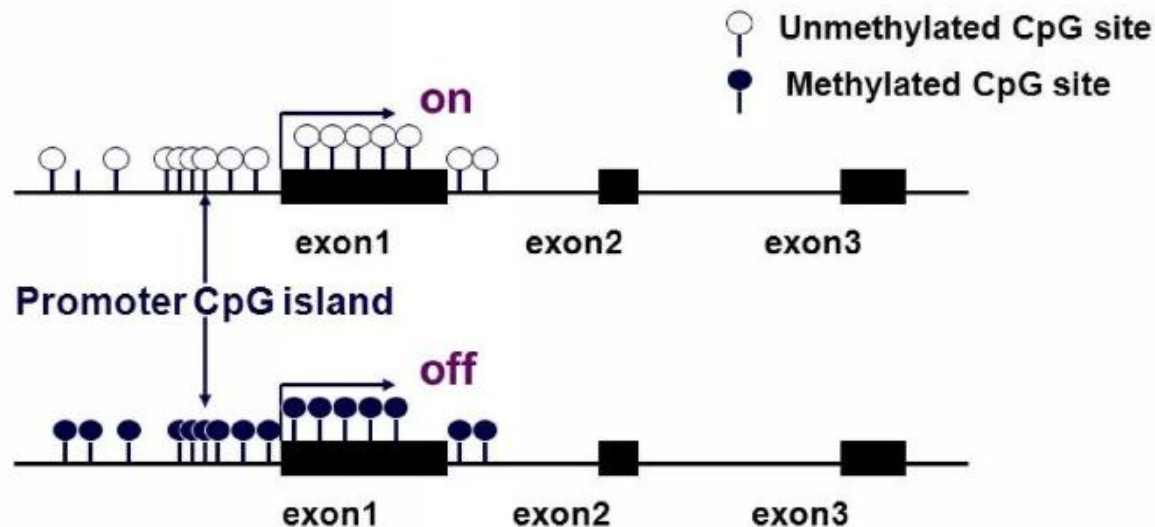
5. Деметилування ДНК – під впливом хімічних канцерогенів і активних радикалів деметильована ділянка стає активною і може призводити до стимуляції поділу клітин.

ЦИТОЗИН

5-МЕТИЛЦИТОЗИН



Methylation of CpG islands at promoters and gene expression



1. Транслокація в ділянку активної транскрипції

Наприклад, перенос гену тус з 8 на 14 хромосому в ділянку генів легких ланцюгів імуноглобулінів → збільшення тус → активація поділу (лімфома Беркіта)

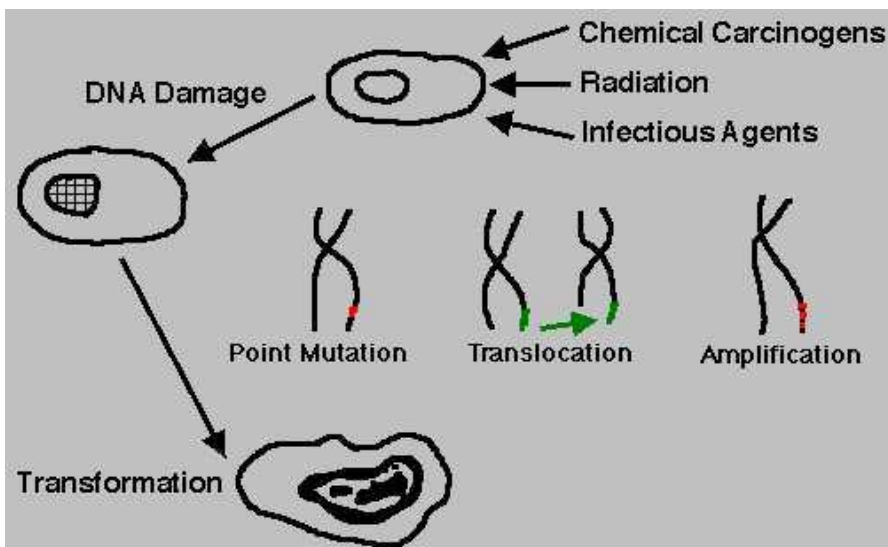
Транслокація гена *abl* з 9 на 22 хромосому → надлишкова продукція ABL (тир-ПК) → активація поділу (хронічний мієлолейкоз)

2. Ампліфікація

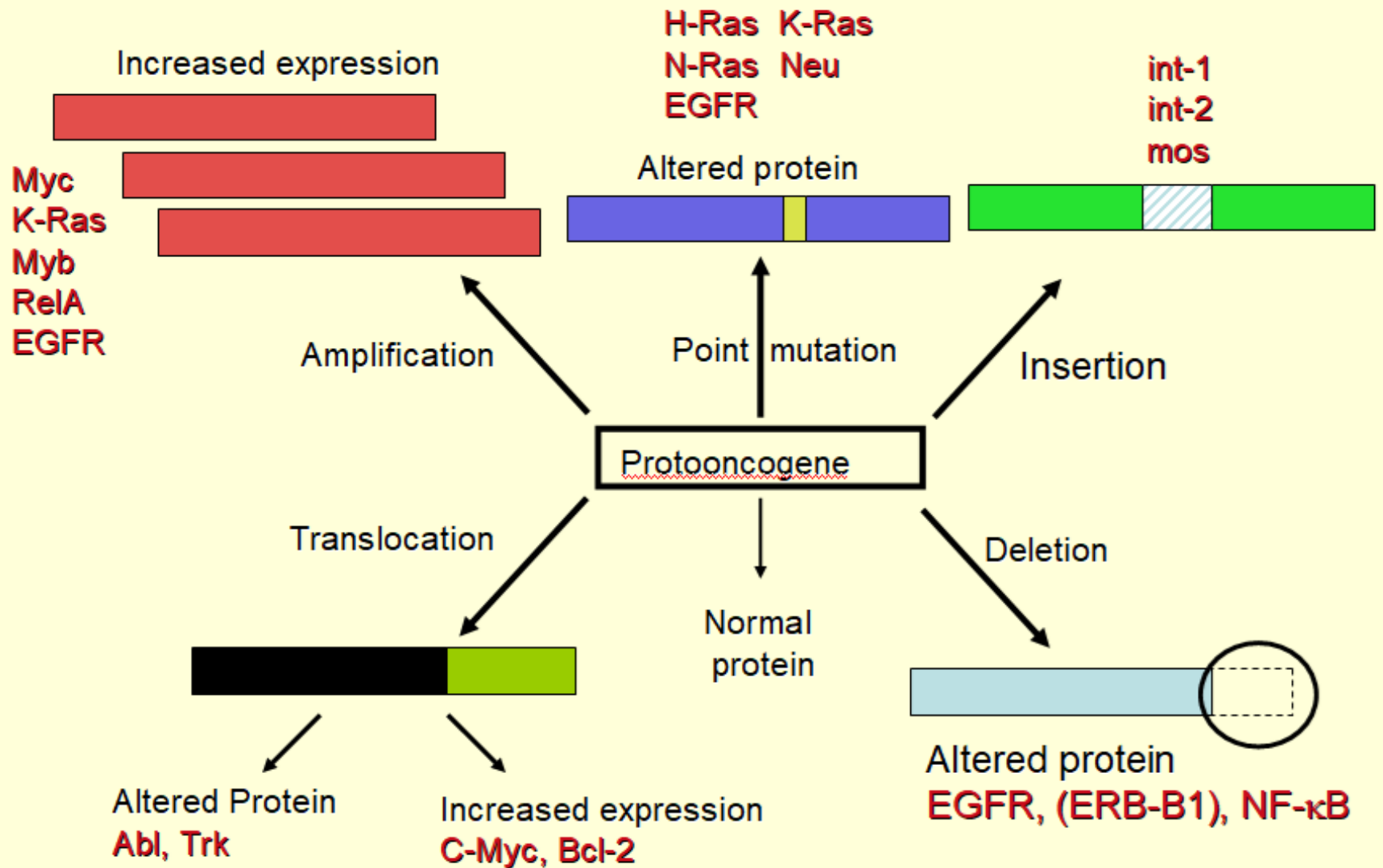
Наприклад, збільшення кількості копій N-тус (в нормі знаходиться в 2 хромосомі) → утворення гомогеннозabarвлених регіонів, інтеграція копій до інших хромосом (4, 9, 13), накопичення екстрахромосомних копій → активація транскрипції ДНК (нейробластома, рак легень)

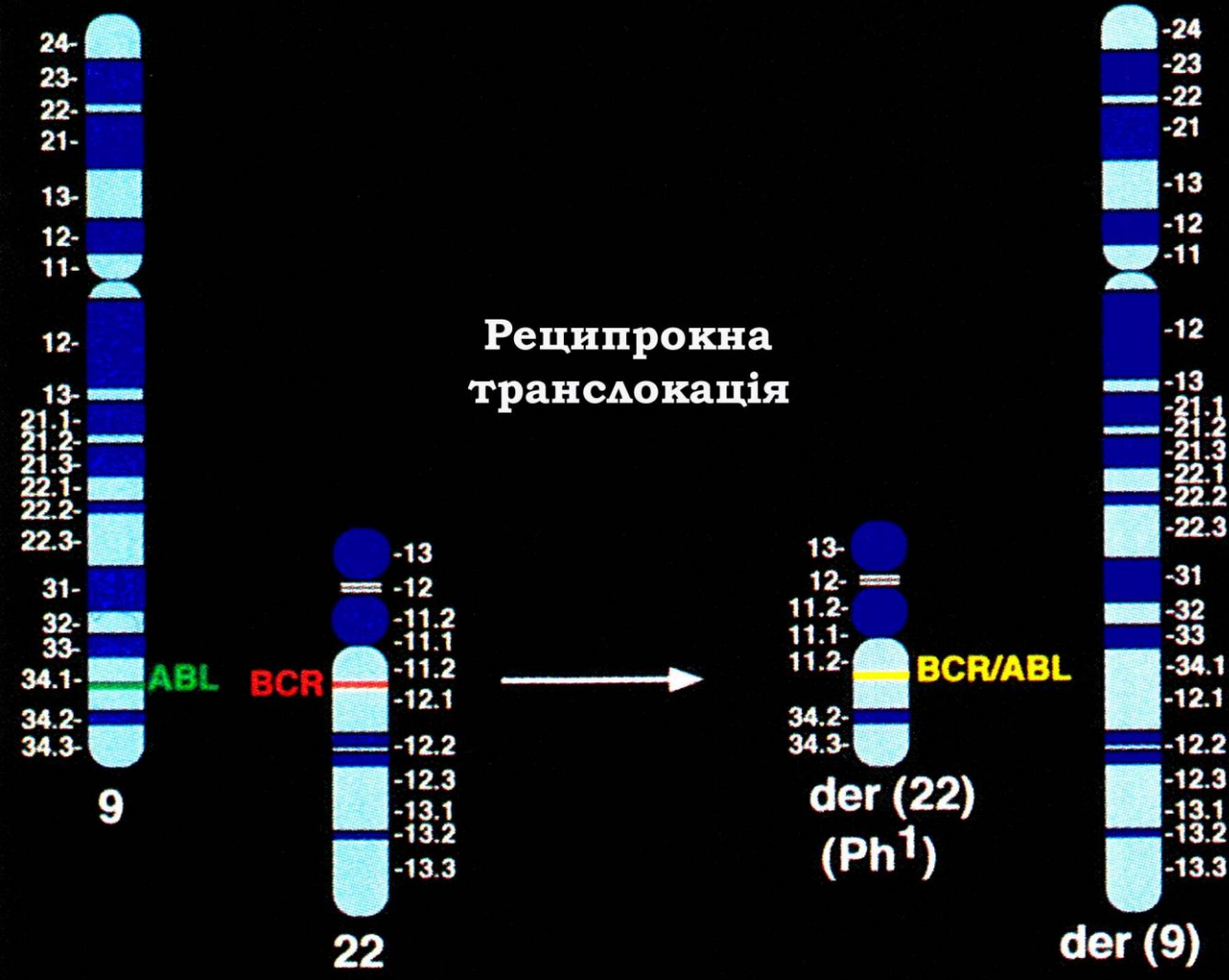
3. Генна мутація

Наприклад, мутація гена *ras* → порушення гідролізу ГТФ (ГДФ має пригнічувати активність G-протеїна) → підтримання G-протеїна в постійно активному стані → активація транскрипції ДНК (разні пухлини)



Oncogenic Mutations in Cancer





При ХМЛ
опухолевые клетки
содержат
филадельфийскую
хромосому $[t(9,22)]$.

Транслокация состоит
в переносе
протоонкогена **c-abl**
хромосомы 9 в
содержащий **bcr**
участок хромосомы
22.

Гибридный фрагмент **c-abl/bcr** транскрибируется как
тирозинкиназа, запуская безудержную репликацию клеток
опухолевого клона.

Tumor Suppressor Genes

- Loss of function mutations include genes encoding
 - Phosphatases (eg. PTEN)
 - Transcription factors/repressors (p53)
 - Repair genes (BRCA1/2, MSH)
 - Cell cycle inhibitors (Rb)
 - Regulators of protein stability (c-Cbl)
 - Apoptosis inducers (Bax, Bad)
- Leading to
 - Lack of cell cycle arrest
 - Decreased apoptosis
 - Increased metastasis

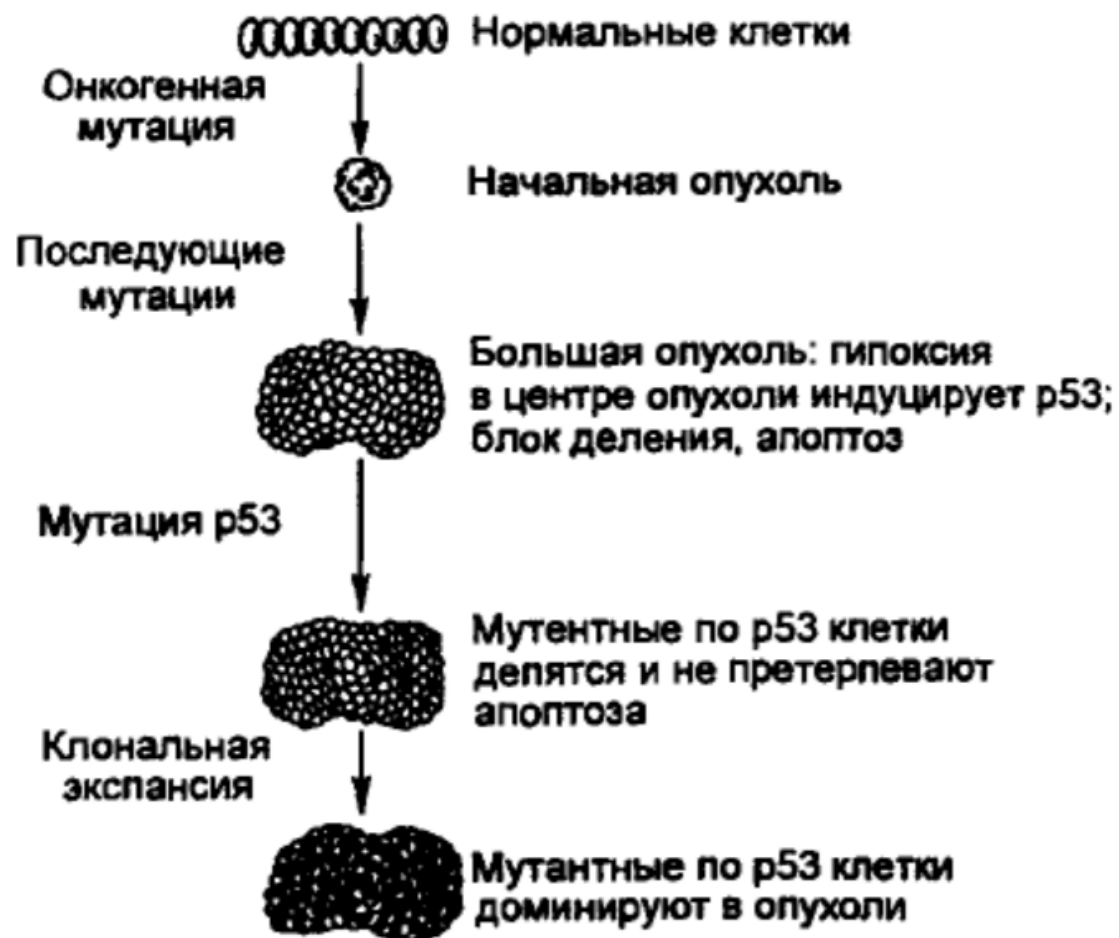
The PTEN Ts Gene

Genetic Mutations

Glioblastoma	25-75%
Gastric	28%
Melanoma	20-30%
NHL	10%
Breast	15%
Prostate	30%
Endometrium	40-80%
Ovary	5%
Lung	22%
Bladder	10%

Gene Methylation

Glioblastoma	35%
Colorectal	8%
Invasive Breast	48%
Melanoma	62%
Thyroid	50%
Endometrium	20%
Prostate	50%

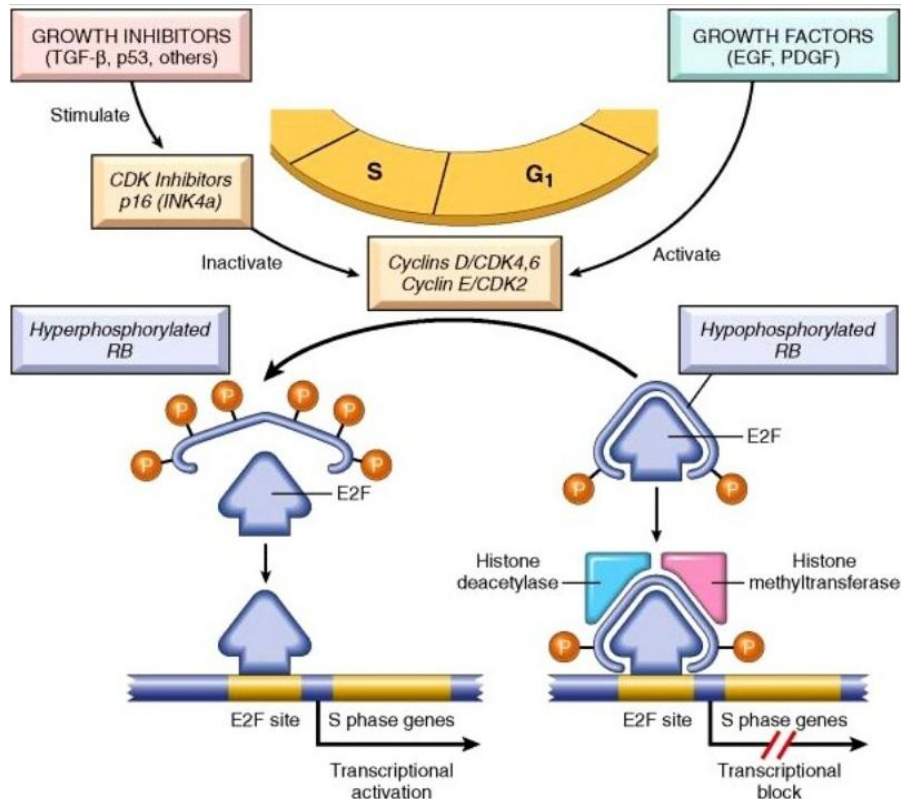


- Клетки в блоке/апоптозе
- Мутантные по p53 клетки

Вовлечение *p53* в эволюцию опухоли. Мутантные по *p53* клетки устойчивы к гипоксии, смертельной для других клеток.

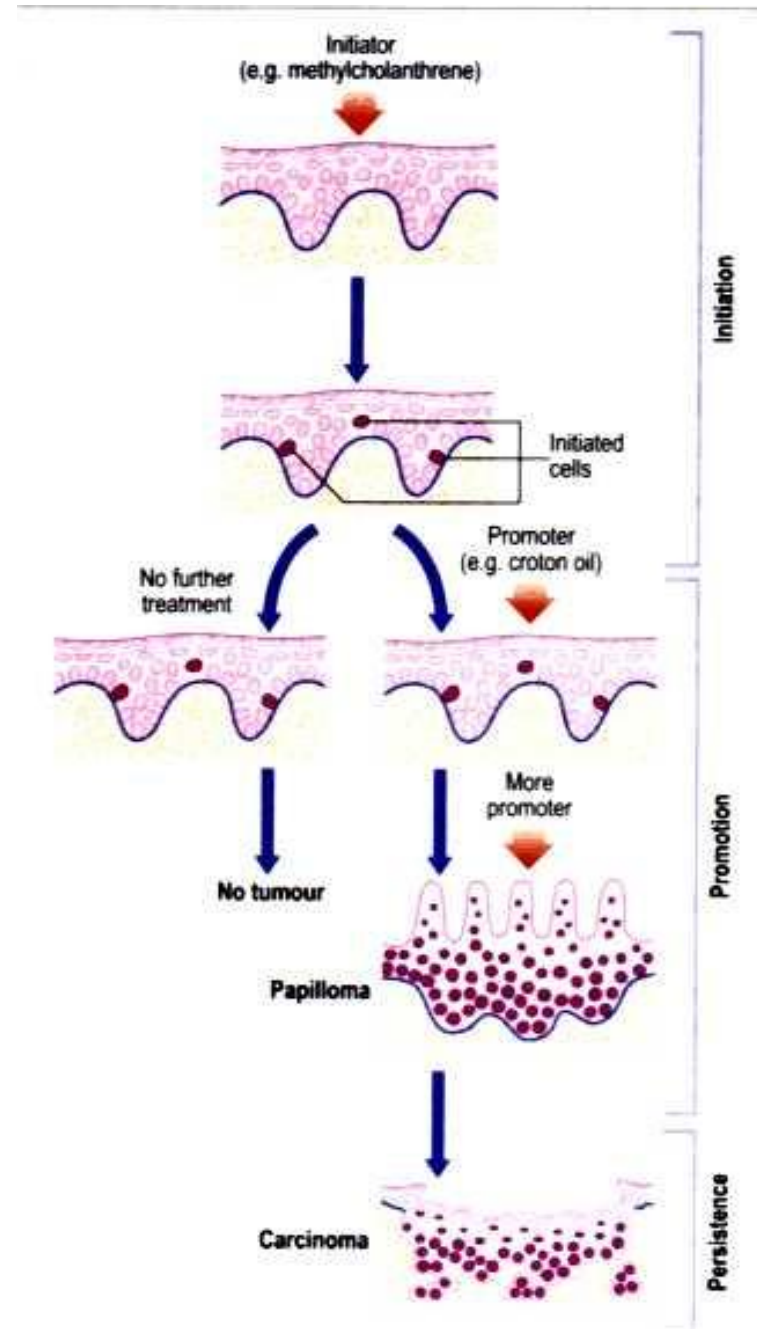
Retinoblastoma Gene Mutations in Cancer

Retinoblastoma	70%
Small Cell Lung Carcinoma	80%
Non-Small Cell Lung Carcinoma	20-30%
Osteosarcoma	>50%
Multiple Myeloma	30%



Chemical Oncogenesis:

- **Initiation**
 - DNA damage eg. Benzpyrene
- **Promotion**
 - Histologic change – eg. Turpentine (co-carcinogens)
- **Progression (malignant transformation):**
 - Visible tumor formation – further DNA damage.



Chemical Oncogenesis:

- Direct Acting Carcinogens:
 - Alkylating Agents: Cyclophosphamide
- Procarcinogenes (needs activation)
 - Polycyclinc hydrocarbons – Benzpyrene
 - Aromatic amines, dyes - Benzidine
 - Natural products: Aflotoxin
 - Others: Vinyl chloride, turpentine etc.

Viral Oncogenesis:

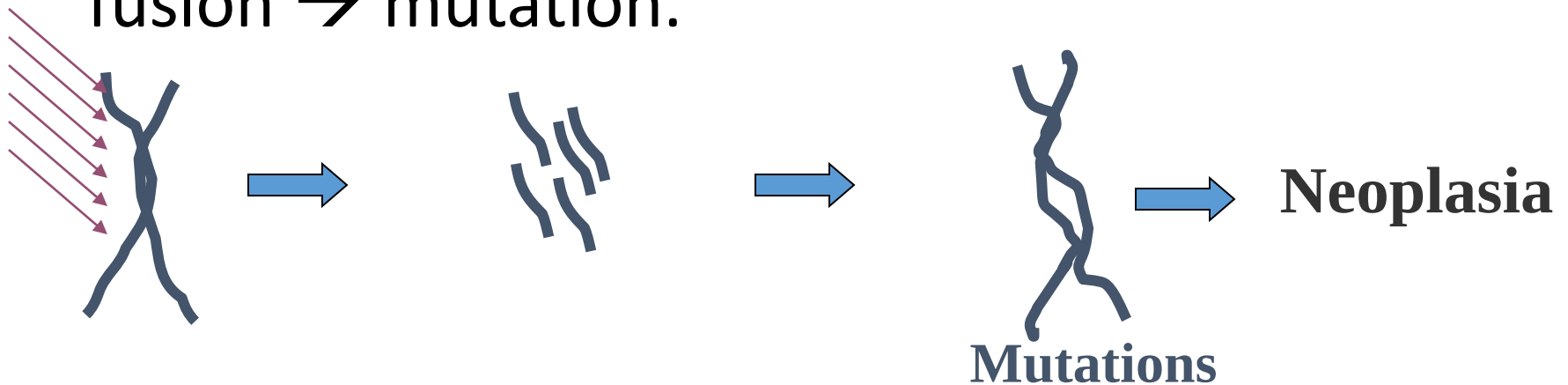
- Insertion of viral nucleic acids → mutation
- Alterations in Oncogenes, cancer suppressor genes and genes regulating DNA repair resulting in up-regulation of cell division → Carcinogenesis.
- Nobel Laureates – Varmus and Bishop
 - v-fes, v-sis → proto-oncogenes.
 - v-sis → sis → PDGF → Brain tumours.

Viral Oncogenesis:

- **Human Papilloma Virus**
 - Cervical neoplasia – warts, papilloma, ca cx
- **Epstein-Barr virus –**
 - Burkitts Lymphoma, Nasopharyngeal ca.
- **Hepatitis B & C virus**
 - Hepatocellular carcinoma.

Radiation Carcinogenesis:

- Ionizing radiation → dysjunction → random fusion → mutation.

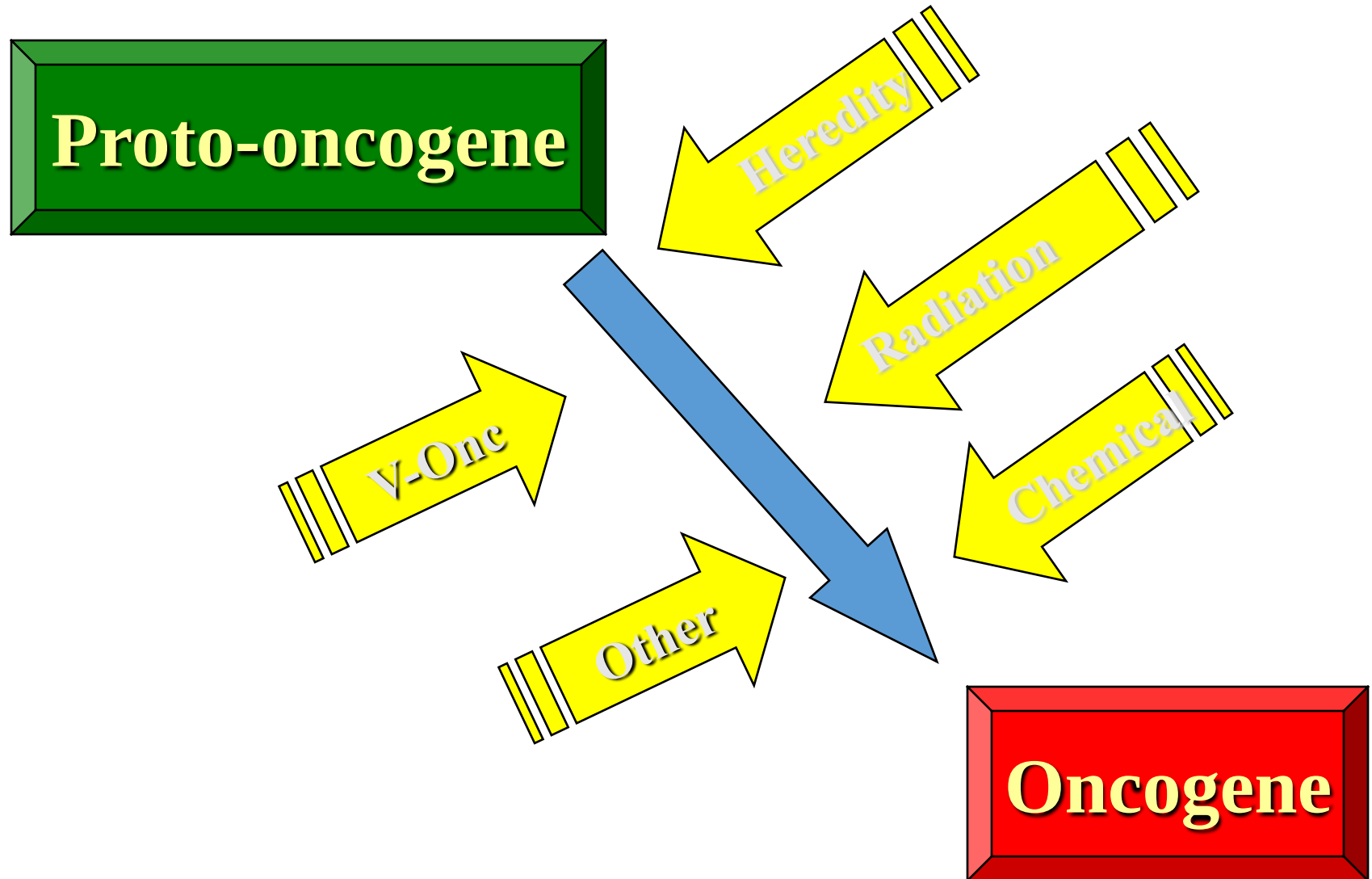


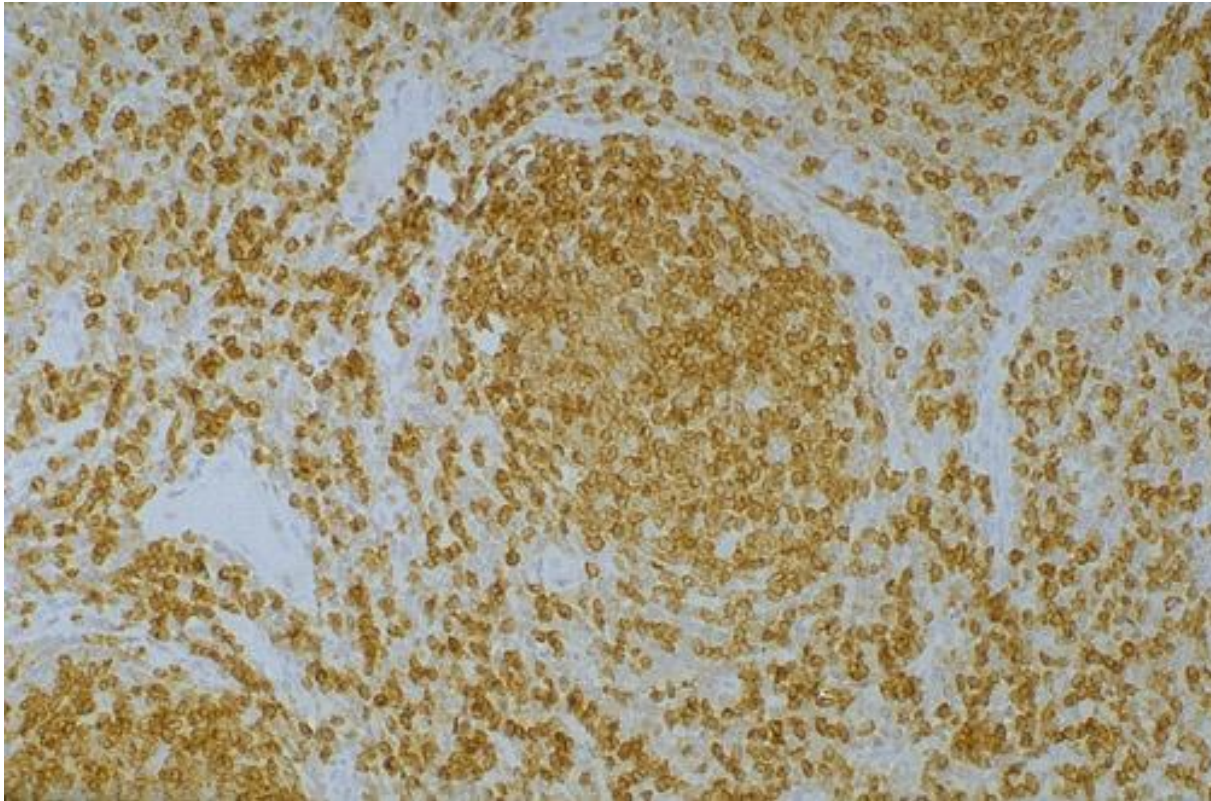
- X Ray workers – Leukemia
- Radio-isotopes – Thyroid carcinoma
- Atomic explosion – Skin cancer, Leukemia

Hereditary Causes:

- Due to inherited abnormal genes.
- FAP (familial adenomatous polyposis syndrome) – gene C5, polyposis
→ Adenocarcinoma colon
- Retinoblastoma – Rb gene – (C13)
- Neuroblastoma – (C17)
- Trisomy 21 – Down's syndrome – Leukemias in infants.

Molecular Basis of Neoplasia:

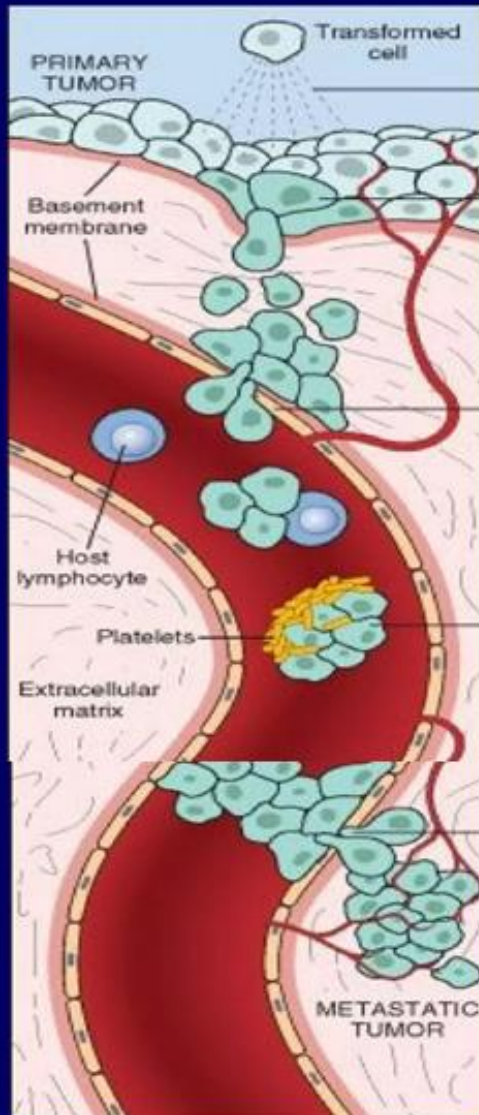




This is an example of **bcl-2** positivity in a lymphoma. In this case, the overexpression of this oncogene results in an inhibition of apoptosis, and increased numbers of lymphocytes.

The immunoperoxidase stain here highlights the lymphocytes in lymphoid follicles and interfollicular areas.

Метастазування

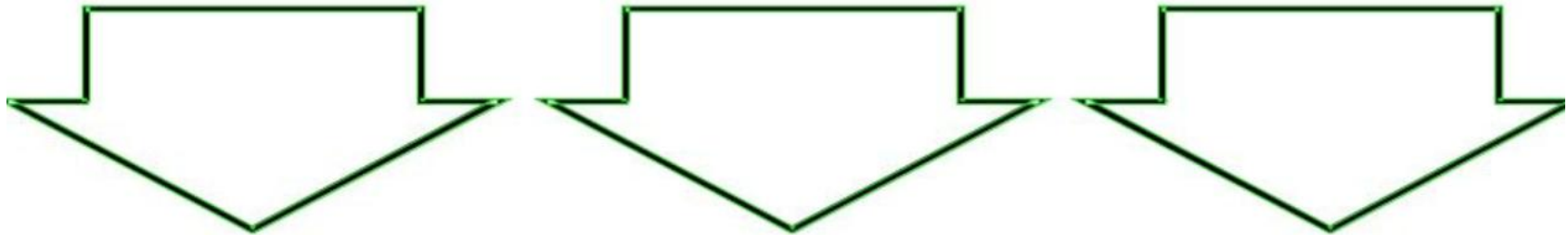


- 1. Адгезія та проникнення крізь базальну мембрану**
- 2. Проникнення крізь судинну стінку (інтравазація)**
- 3. Виживання в циркулюючій крові**
- 4. Прикріплення до судинної стінки**
- 5. Проникнення крізь ендотелій та базальну мембрану (екстравазація)**
- 6. Активація ангиогенезу та проліферація в іншому органі**

АНТИБЛАСТОМНА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

- ☐ властивість організму перешкоджати проникненню канцерогенних агентів у клітину, її ядро та/або їх дії на геном;
- ☐ виявляти й усувати онкогени або пригнічувати їхню експресію;
- ☐ виявляти і руйнувати пухлинні клітини, гальмувати їх ріст (феномен cancer in situ).

МЕХАНИЗМЫ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА



препятствие
проникновению
канцерогенов в
организм, клетку,
ядро
препятствие действию
канцерогенов на

подавление
экспрессии
онкогена
обнаружение
и устранение
онкогена

обнаружение и
разрушение
опухолевой
клетки
обнаружение и
торможение
роста

РОЛЬ ІМУННОЇ СИСТЕМИ В ОНКОГЕНЕЗІ

**ЗАХИСТ ОРГАНІЗМУ ВІД
ПУХЛИННИХ КЛІТИН
(реалізується переважно
при вірусіндукованих
пухлинах)**

**- неспецифічна
цитотоксичність
натуральних кілерів**

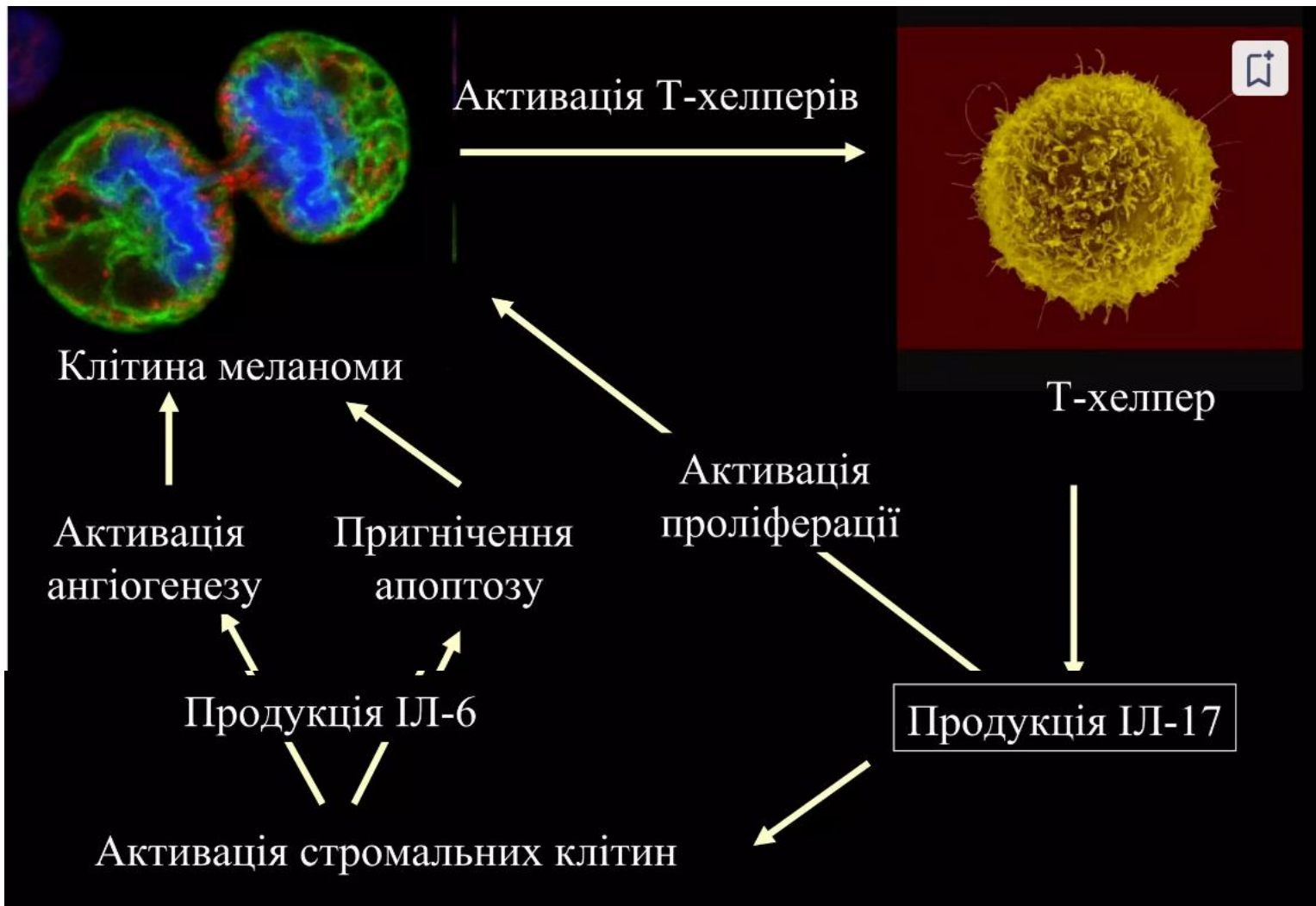
**- специфічна
цитотоксичність**

**“СПІВПРАЦЯ” ІЗ
ПУХЛИННИМИ
КЛІТИНАМИ**

**- виділення факторів
росту для пухлинних
клітин**

**- знищення більш
диференційованих
клонів**

**- добір більш
злоякісних клітин
та ін.**



Дякую за увагу!