



Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ιατρική Σχολή

Π.Μ.Σ

«Μυοσκελετική Ογκολογία: Διάγνωση-Θεραπεία-Έρευνα»



Διάλεξη:

Ογκογονίδια-Ογκοκατασταλτικά γονίδια- Συστήματα επιδιόρθωσης βλαβών στο DNA

Επικ. Καθ. Χρήστος Αδαμόπουλος

cadamop@med.uoa.gr

Κτήριο 16, 2^{ος} όροφος, Γραφείο 240

Εκπαιδευτικοί Στόχοι:

1. **Κατανόηση** των ρόλων των ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων
2. **Εξοικείωση** με τα συστήματα επιδιόρθωσης του DNA και τη σημασία τους για τη διατήρηση της γονιδιακής σταθερότητας
3. **Εφαρμογές** στην κατανόηση της διαδικασίας ογκογένεσης καθώς και στις θεραπευτικές στρατηγικές
4. **Συζήτηση** εφαρμογών στην κλινική πράξη, με έμφαση στη στοχευμένη θεραπεία

Εισαγωγή

Δυο κατηγορίες γονιδίων που προσδίδουν ευαισθησία στην ανάπτυξη του καρκίνου:

- A. Γονίδια που επηρεάζουν την κυτταρική αύξηση:** Τα γονίδια αυτά επιδρούν στην κυτταρική αύξηση μέσω της ικανότητάς τους να ελέγχουν τον **κυτταρικό πολλαπλασιασμό** ή τον **κυτταρικό θάνατο**
 - I. Ογκογονίδια (oncogenes)**
 - II. Ογκοκατασταλτικά γονίδια (tumor suppressive genes)**

- B. Γονίδια φροντιστές (caretakers):** Τα γονίδια αυτά δεν επηρεάζουν άμεσα την κυτταρική αύξηση αλλά επιδρούν στην ικανότητα του κυττάρου να διατηρεί την **ακεραιότητα του γονιδιώματός** του. Κύτταρα με μεταλλαγές στα γονίδια φροντιστές εμφανίζουν **υψηλή μεταλλακτική συχνότητα** σε όλα τα γονίδια, συμπεριλαμβανομένου **ογκογονιδίων** και **ογκοκατασταλτικών γονιδίων**

Εισαγωγή

I. Ογκογονίδια (oncogenes):

- Επηρεάζουν θετικά την κυτταρική αύξηση
- Είναι αυστηρά ελεγχόμενα στα φυσιολογικά κύτταρα, όπου καλούνται **πρωτο-ογκογονίδια (proto-oncogenes)**
- Στα καρκινικά κύτταρα τα πρωτο-ογκογονίδια συσσωρεύουν μεταλλάξεις που οδηγούν σε διαφυγή από αυτό τον έλεγχο με αποτέλεσμα την αυξημένη ενεργότητα του γονιδιακού προϊόντος

II. Ογκοκατασταλτικά γονίδια (tumor suppressive genes):

- Επηρεάζουν αρνητικά την κυτταρική αύξηση
- Εμποδίζουν την κυτταρική αύξηση στα φυσιολογικά κύτταρα
- Η ικανότητά τους αυτή χάνεται στα καρκινικά κύτταρα
- Εξαιτίας της διπλοειδούς φύσης των κυττάρων των θηλαστικών και τα δύο αλληλόμορφα πρέπει να είναι ανενεργά προκειμένου να χάσουν εντελώς τη λειτουργία τους (υπολειπόμενος μηχανισμός σε κυτταρικό επίπεδο)

Εισαγωγή

Χαρακτηριστικά	Ουκογονίδια	Ουκοκατασταλτικά γονίδια
Μεταλλάξεις	Μεταλλάξεις σε ένα από τα δύο αλληλόμορφα είναι ικανές για γονιδιακή ενεργότητα	Μεταλλάξεις και στα δύο αλληλόμορφα είναι απαραίτητες για γονιδιακή ενεργότητα
Πρωτεϊνική λειτουργία	Προσθήκη λειτουργίας “gain of function” που σηματοδοτεί κυτταρική αύξηση	Απώλεια λειτουργίας “loss of function” που οδηγεί σε απώλεια ελέγχου
Κληρονομικότητα	Οι μεταλλάξεις εμφανίζονται σωματικά κύτταρα δεν κληρονομούνται	Οι μεταλλάξεις είναι παρούσες στα γαμετικά κύτταρα και μπορεί να κληρονομούνται
Ιστοειδικότητα	Μερική ιστοειδικότητα	Ισχυρή ιστοειδικότητα

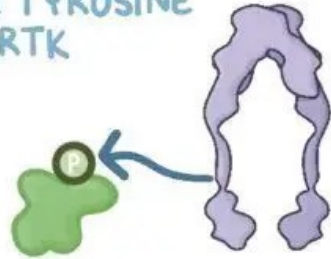
Ογκογονίδια – Πρώτο-ογκογονίδια

PROTO-ONCOGENES

CODE for PROTEINS that PROMOTE CELL CYCLE PROGRESSION

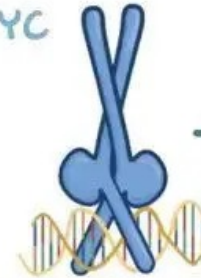
e.g. GROWTH FACTORS or GROWTH FACTOR RECEPTORS

RECEPTOR TYROSINE KINASE or RTK



e.g. TRANSCRIPTION FACTORS

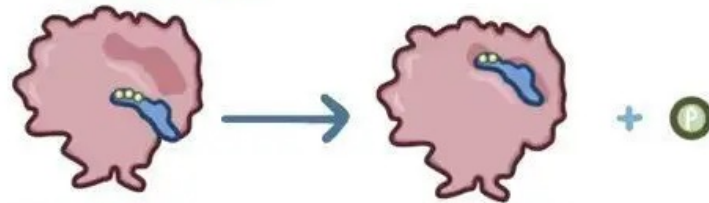
MYC



↑ EXPRESSION of CYCLINS & CYCLIN-DEPENDENT KINASES

e.g. SIGNAL TRANSDUCTION PROTEINS

RAS GTPase



RAS-GTP

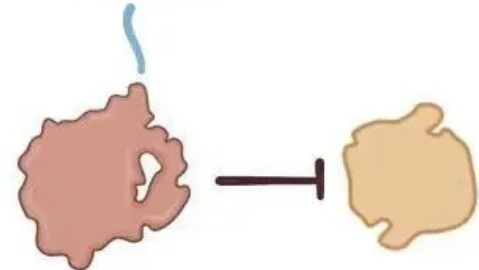
RAS-GDP

ACTIVATES CELLULAR PATHWAYS

CELL GROWTH, DIFFERENTIATION, & SURVIVAL

e.g. PROTEINS that INHIBIT APOPTOSIS

BCL-2

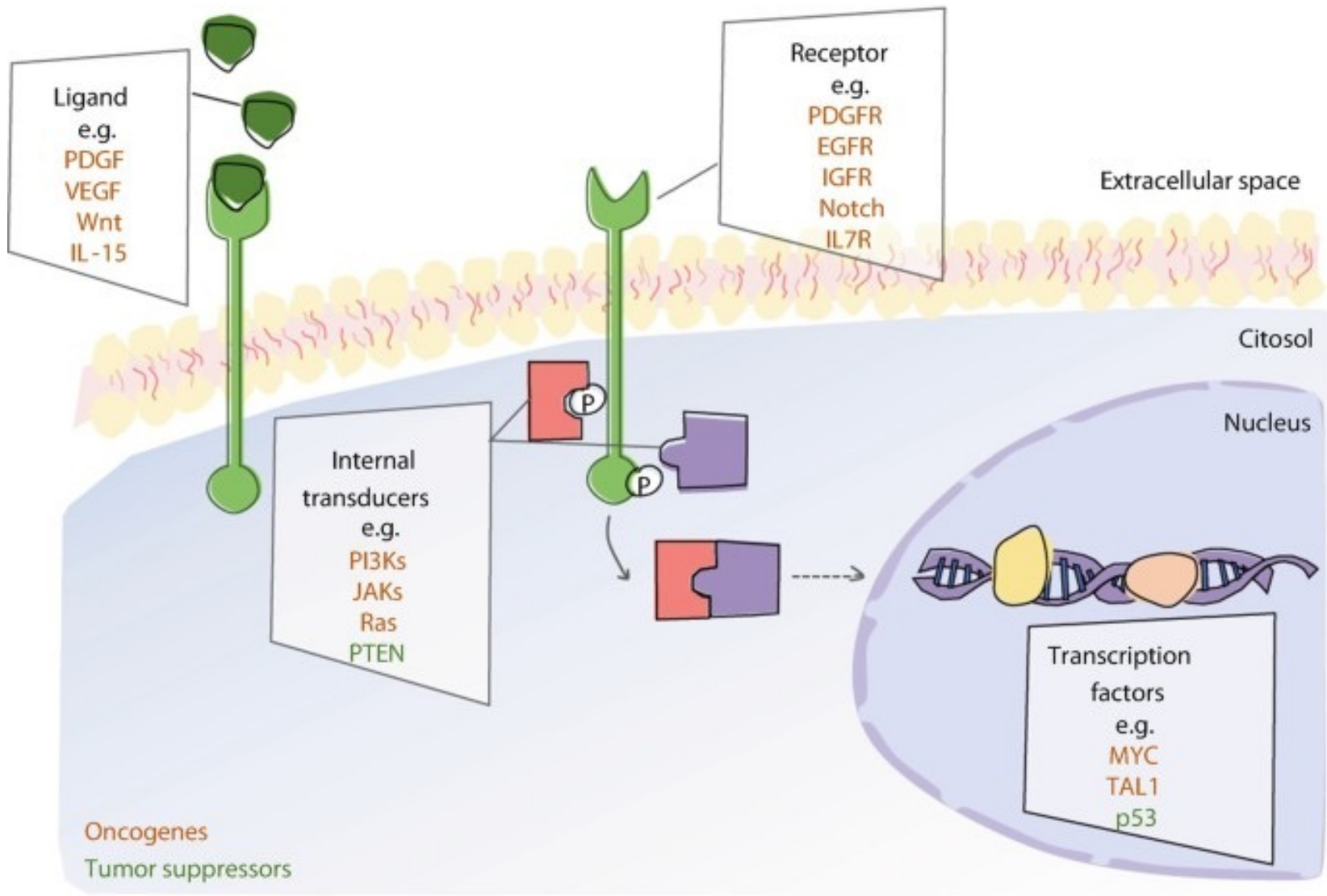


CASPASE

Oncogenes:
mutated or
overexpressed
proto-oncogenes

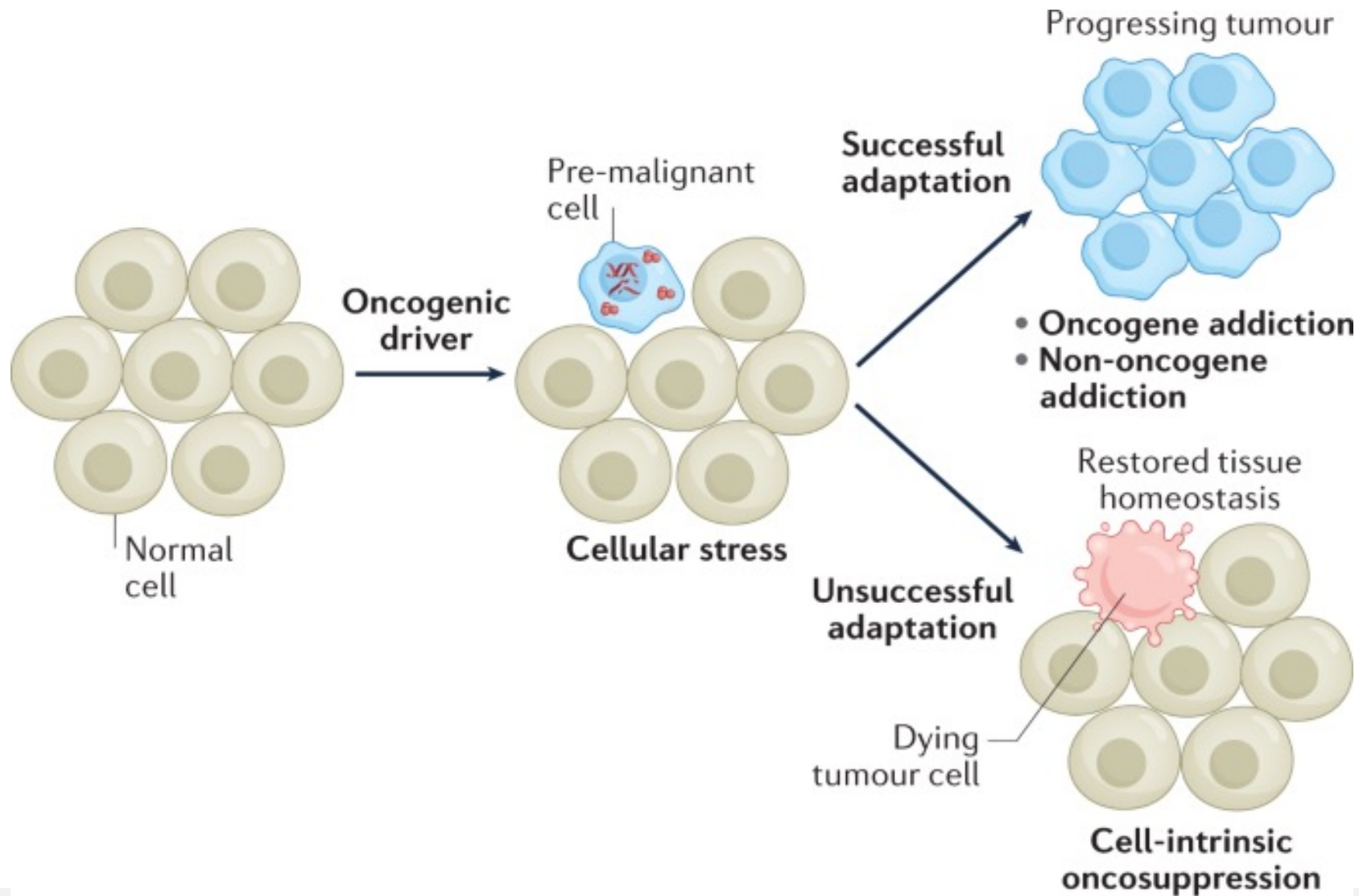
<https://www.osmosis.org/>

Παραδείγματα ογκογονιδίων-ογκοκατασταλτικών γονιδίων



[Chapter 3: Cell Signaling in Cancer, Springer link](#)



Αρχές εθισμού ογκογονιδίου ή μη-ογκογονιδίου



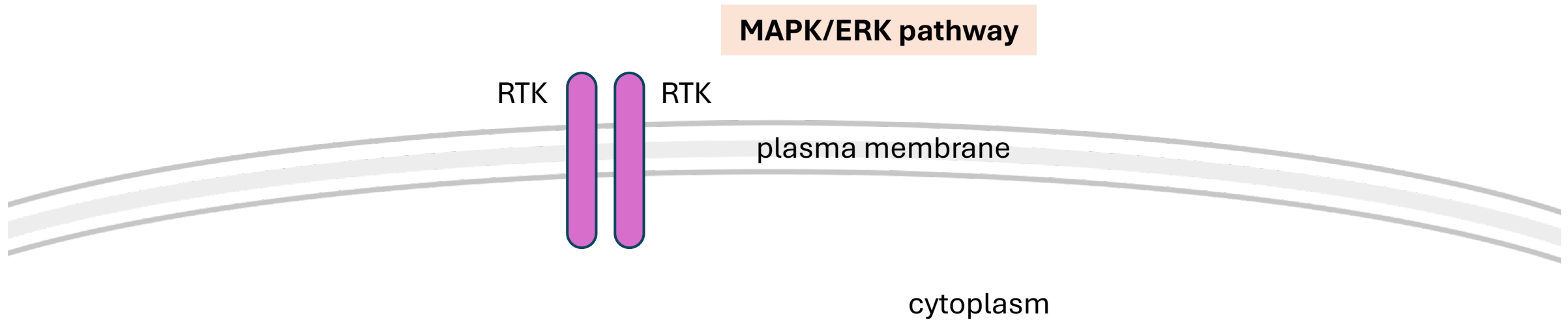
Θεραπευτική στόχευση

[Chapter 3: Cell Signaling in Cancer, Springer link](#)

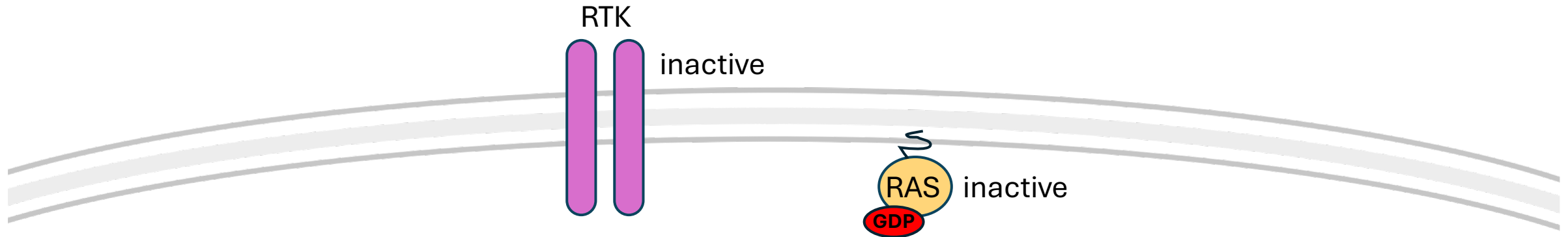
Σηματοδοτικά μονοπάτια που οδηγούνται από ογκογονίδια/ογκοκατασταλτικά γονίδια

Pathways	Activated by	Involved	Available clinical drugs (some..)
 Ras/MAPK	Cytokines and mitogenic growth factors	Melanoma; thyroid, pancreatic and NSCL cancers	Vemurafenib; Trametinib
 PI3K/Akt/mTOR	Insulin; growth factors; chemokines	Glioblastoma; breast, prostate, colon and endometrial cancer	Buparlisib; MK-2206; rapamycin; BEZ-235
JAK/STAT	Cytokines (e.g. IL-3, IL-6 and IL-7)	Myeloproliferative neoplasms; breast and prostate cancers	Ruxolitinib; Tofacitinib
Nuclear hormone receptor	Steroid hormones (e.g. estrogen and progesterone)	Breast and prostate cancers	Tamoxifen; enzalutamide
Notch	Delta-like (DLL) 1, 3 and 4; Jagged (JAG) 1 and 2	T-ALL; CLL; MCL; breast adenocarcinoma; SCC	γ-secretase inhibitors (RO4929097)
Wnt (β-catenin)	Wnt ligands	Melanoma; breast and colorectal cancers	LGK974; PRI-724
TGF-β (Smad)	TGF-β	Prostate, breast and pancreatic cancers	Fresolimumab; Galunisertib
NF-κB	Cytokines (e.g. TNF-α; IL-1)	Breast cancer; B-cell lymphomas; multiple myeloma	Bortezomib
Hippo	DCHS1, DCHS2	Breast cancer; familial and sporadic schwannomas	Verteporfin; Dobutamine
Hedgehog	Sonic (SHH), Indian (IHH), or desert (DHH) hedgehog	Glioblastoma; basal cell carcinoma; medulloblastoma; CML	IPI-926; Vismodegib
DNA repair signaling (ATM/ATR)	Single-stranded DNA (ssDNA) and DNA double-strand breaks (DSBs)	Breast, colorectal and lung cancers	Olaparib; MK-8776

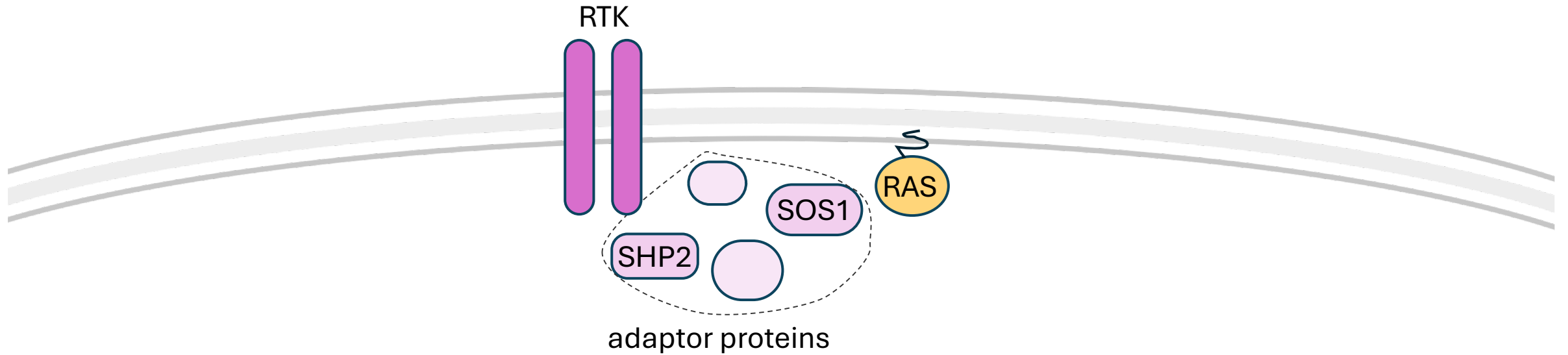
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



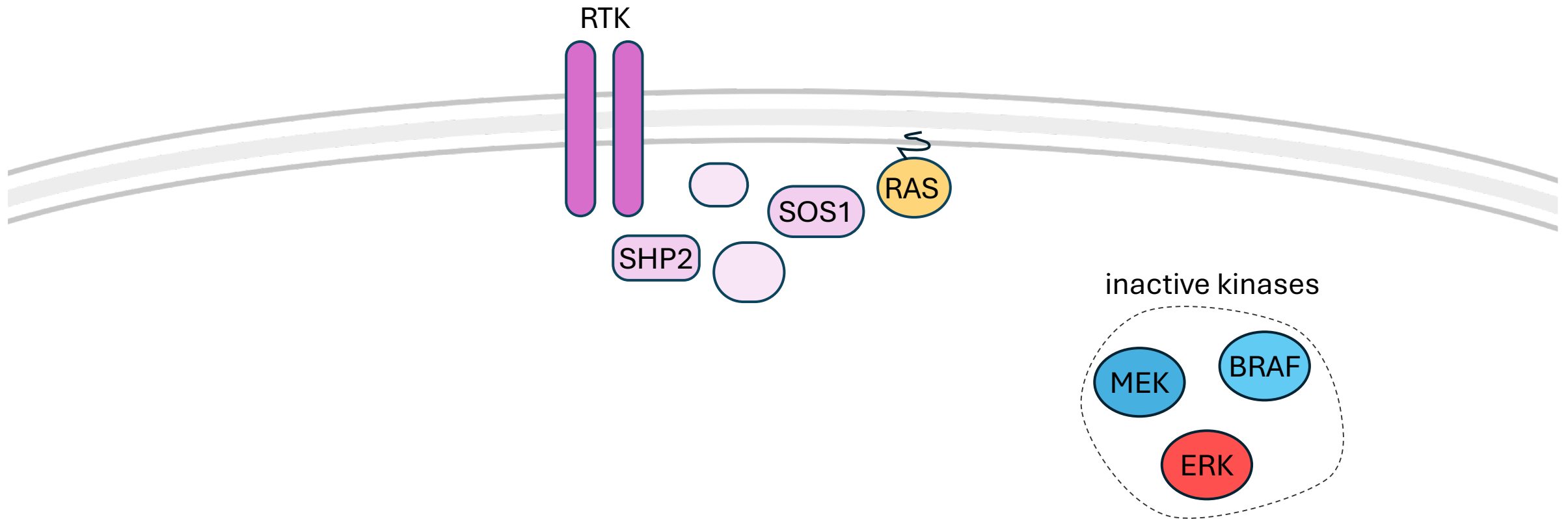
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



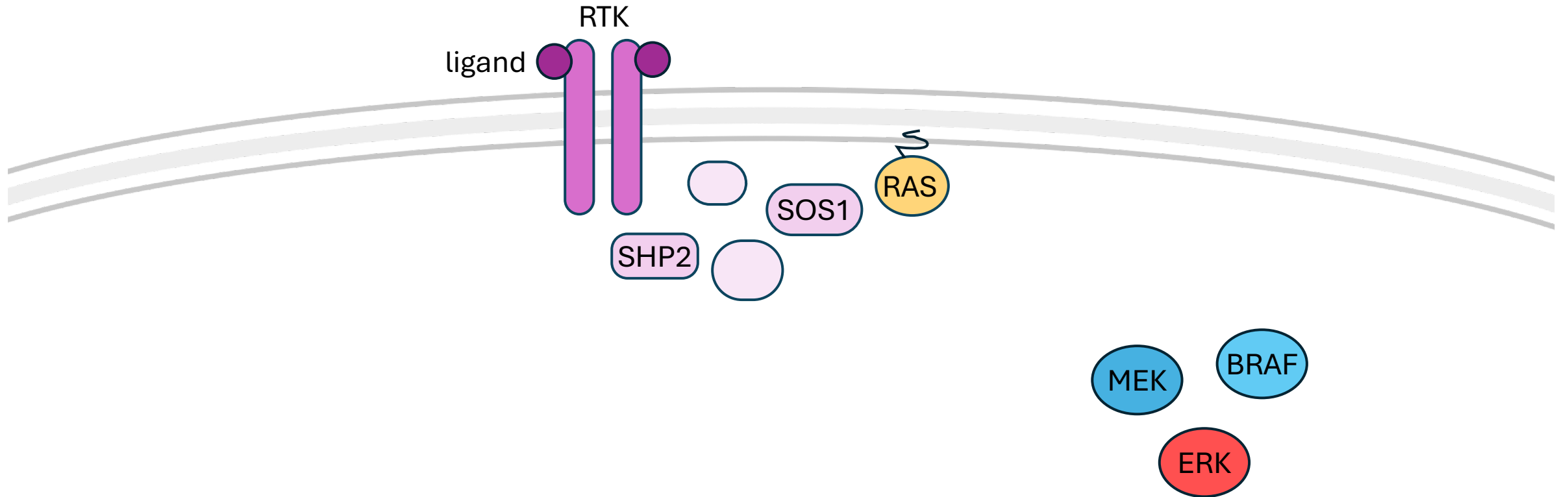
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



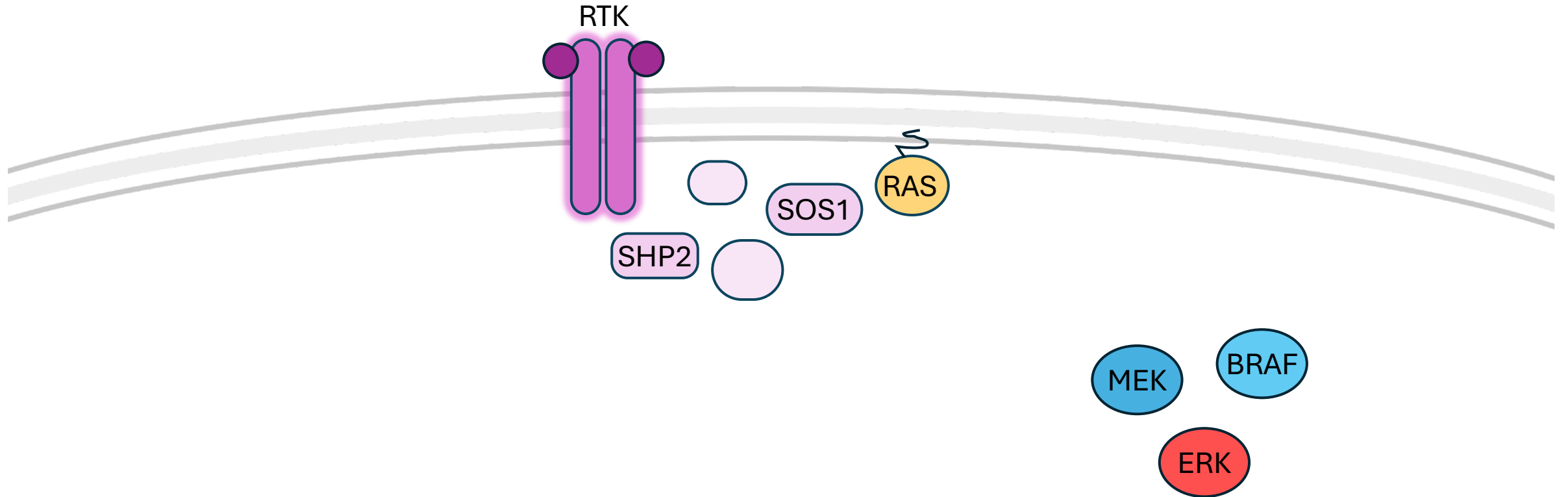
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



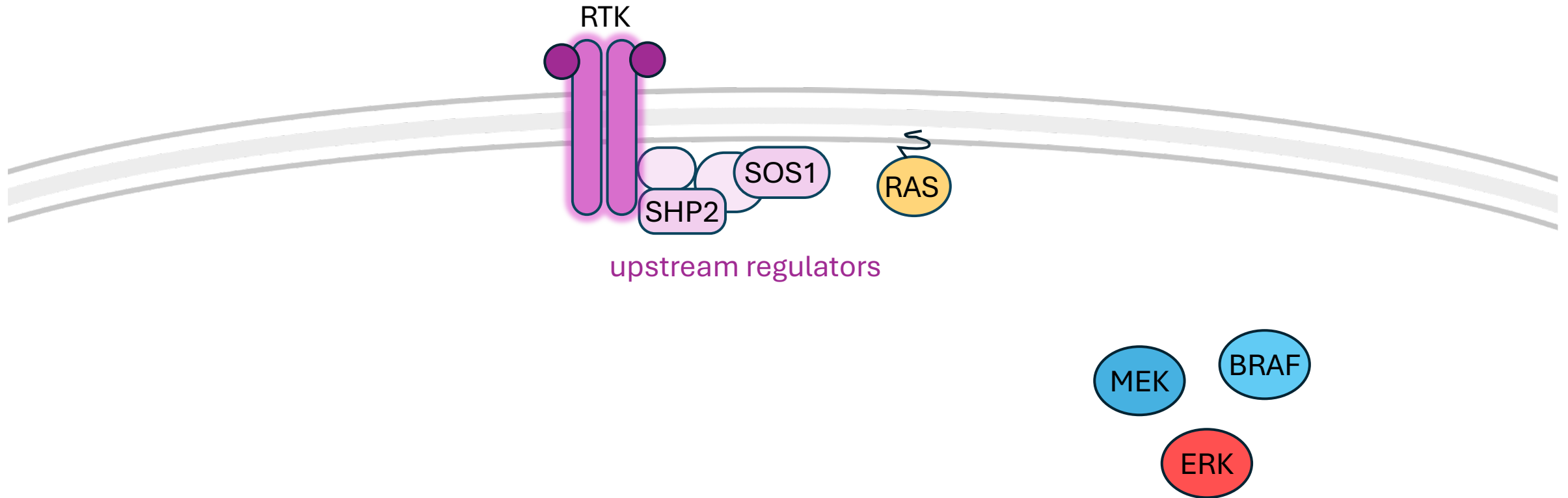
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



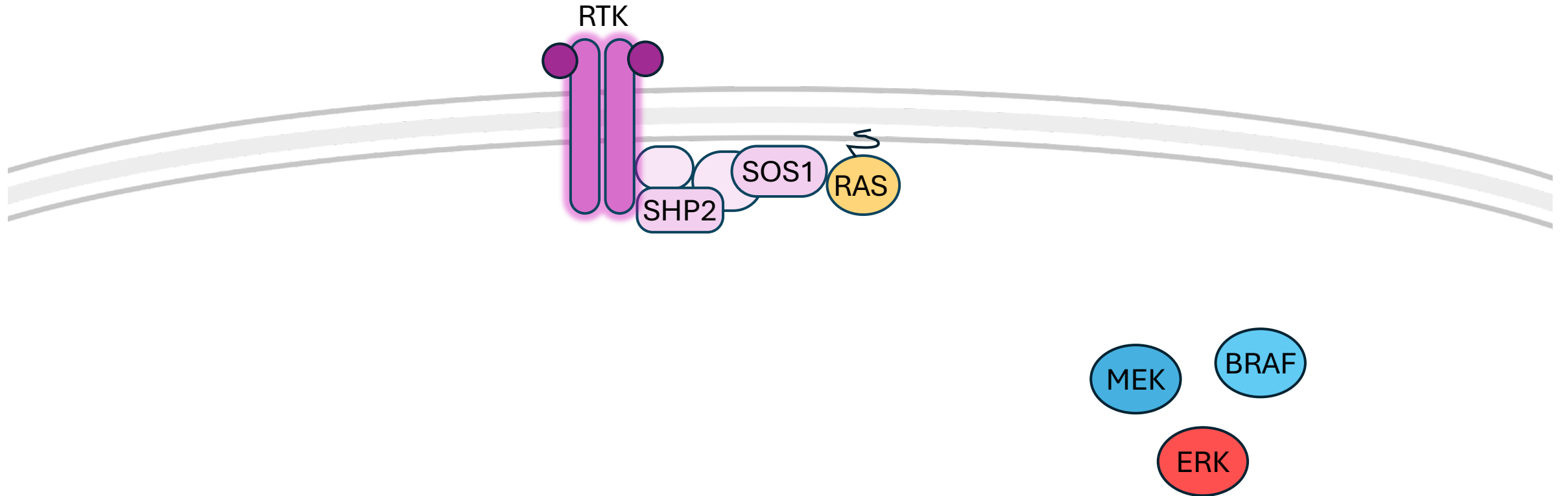
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



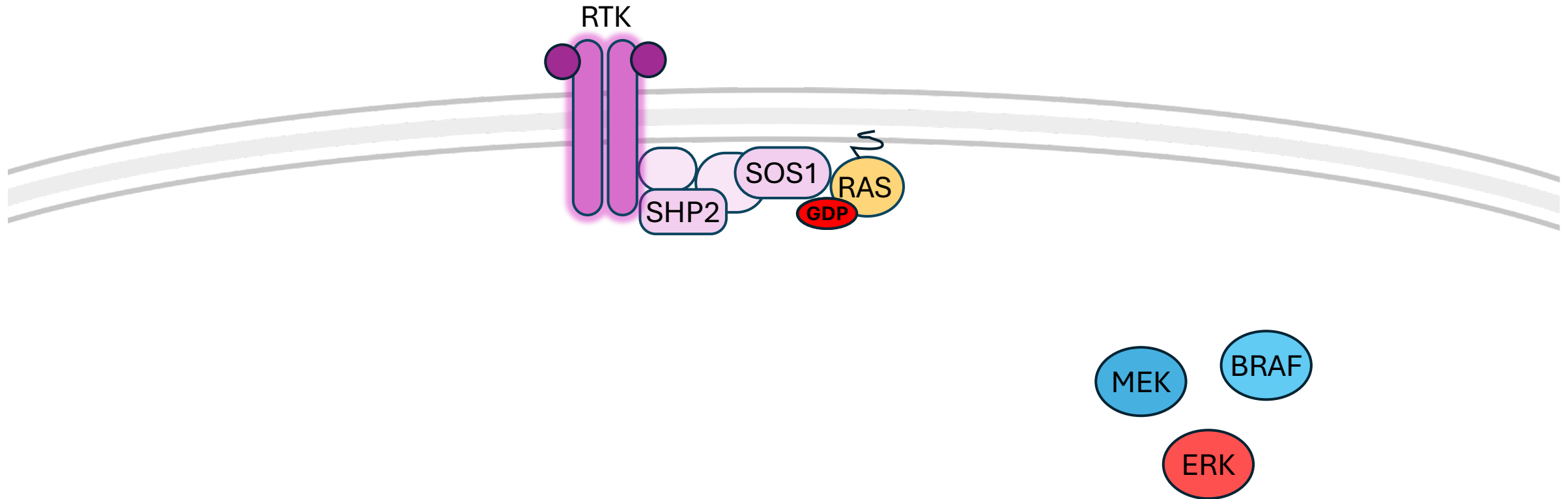
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



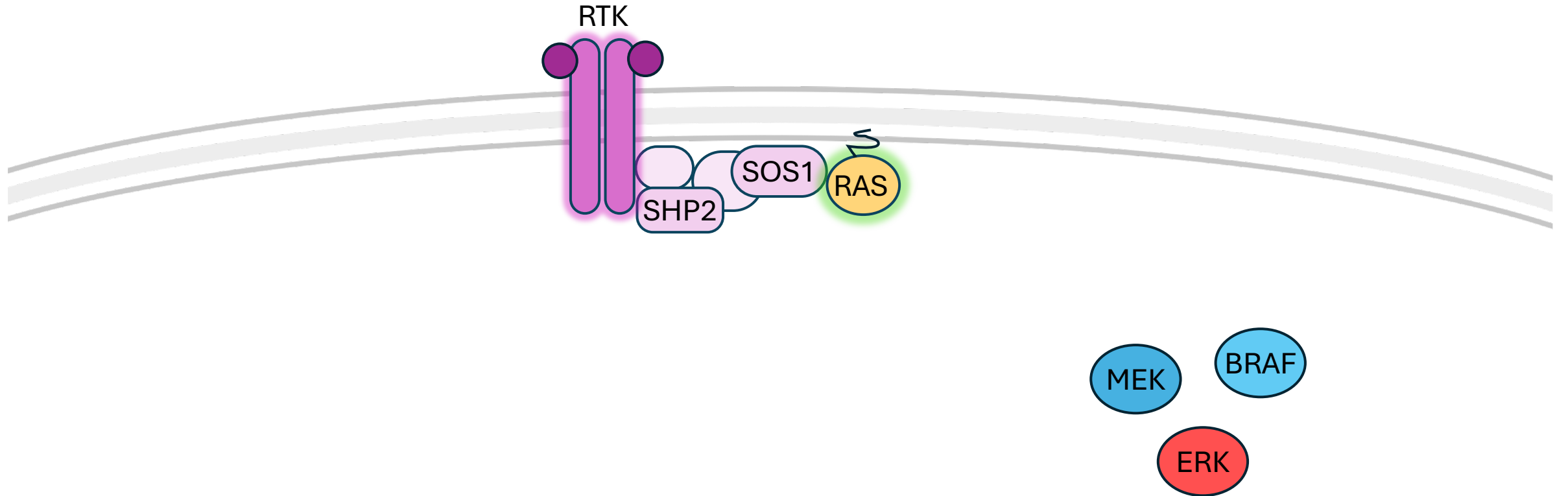
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



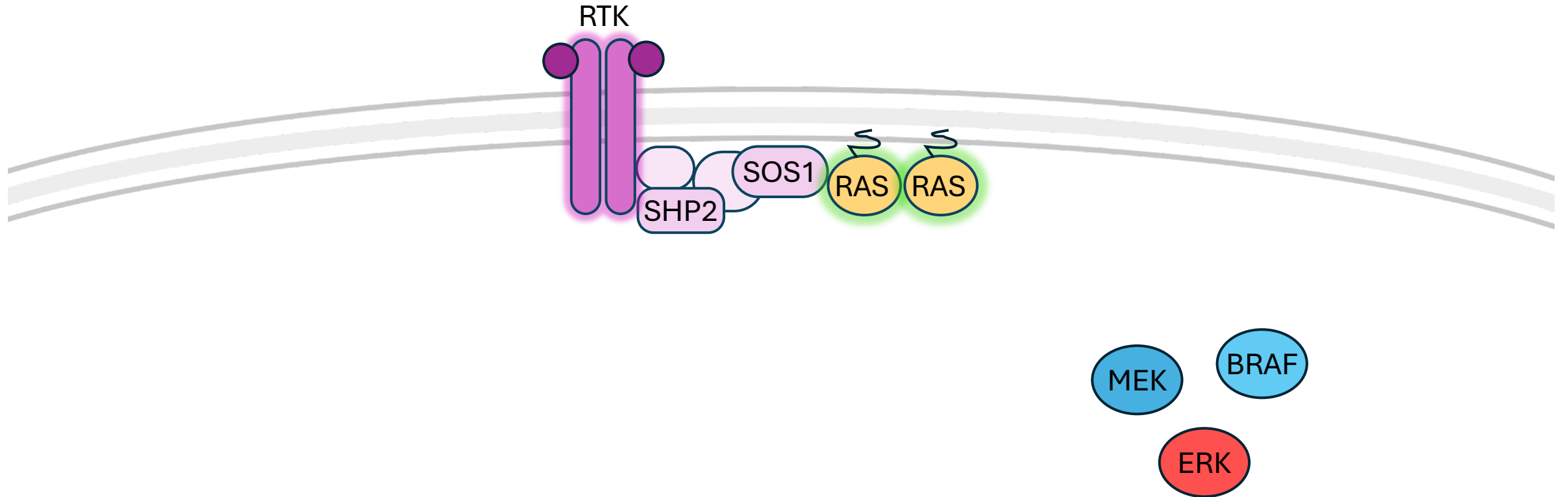
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



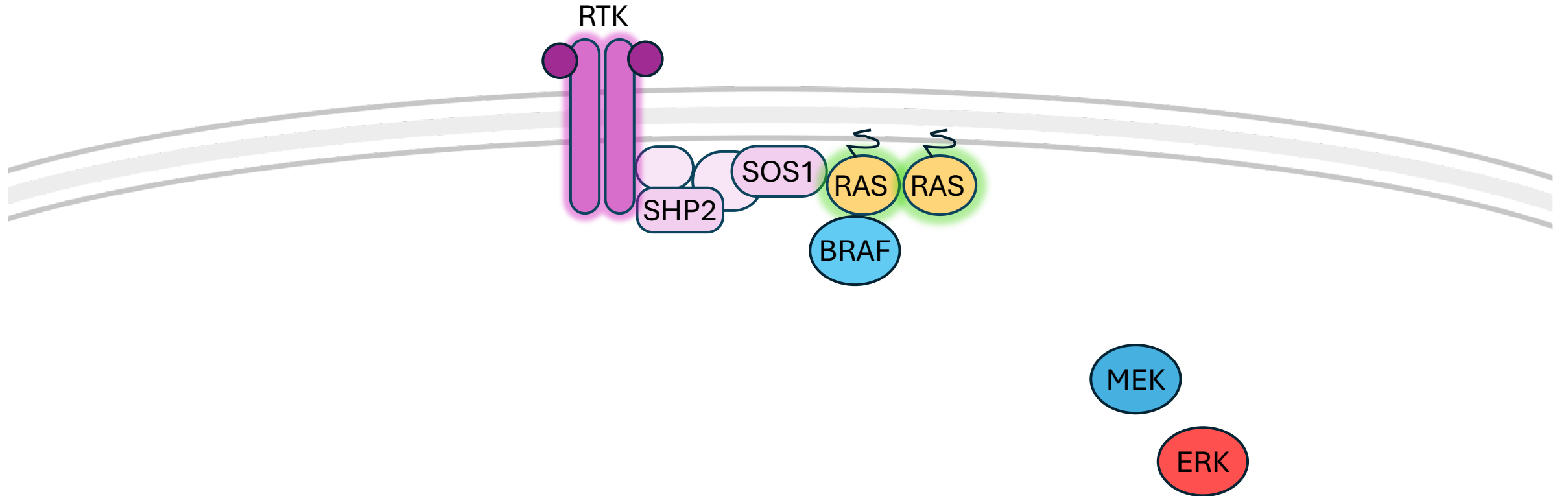
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



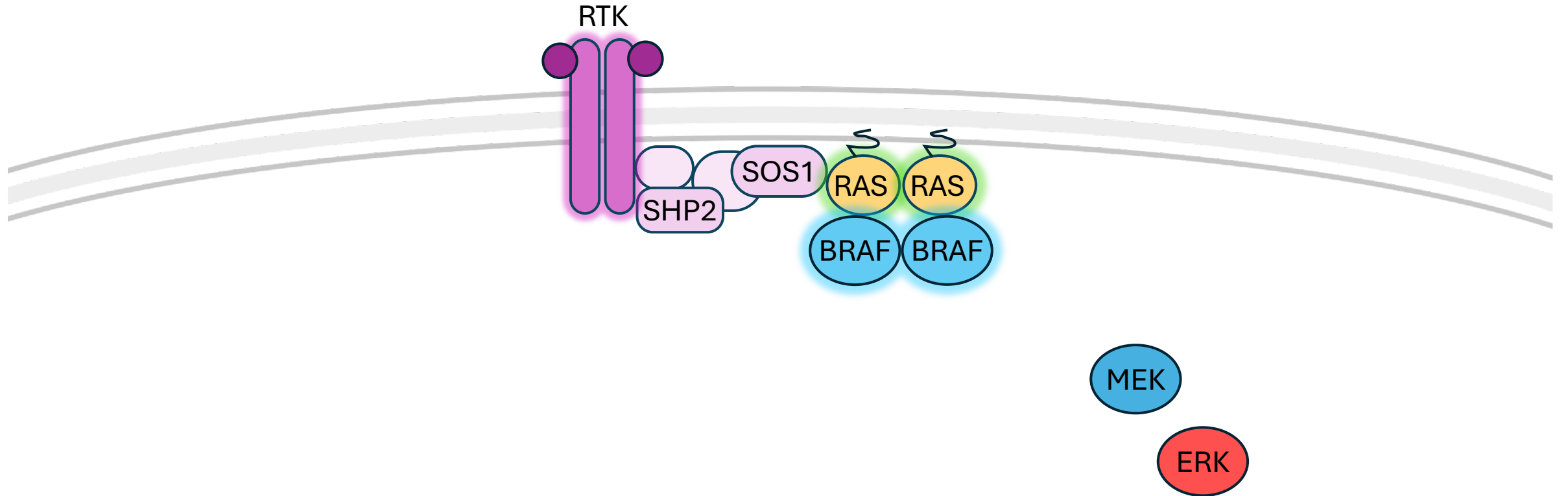
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



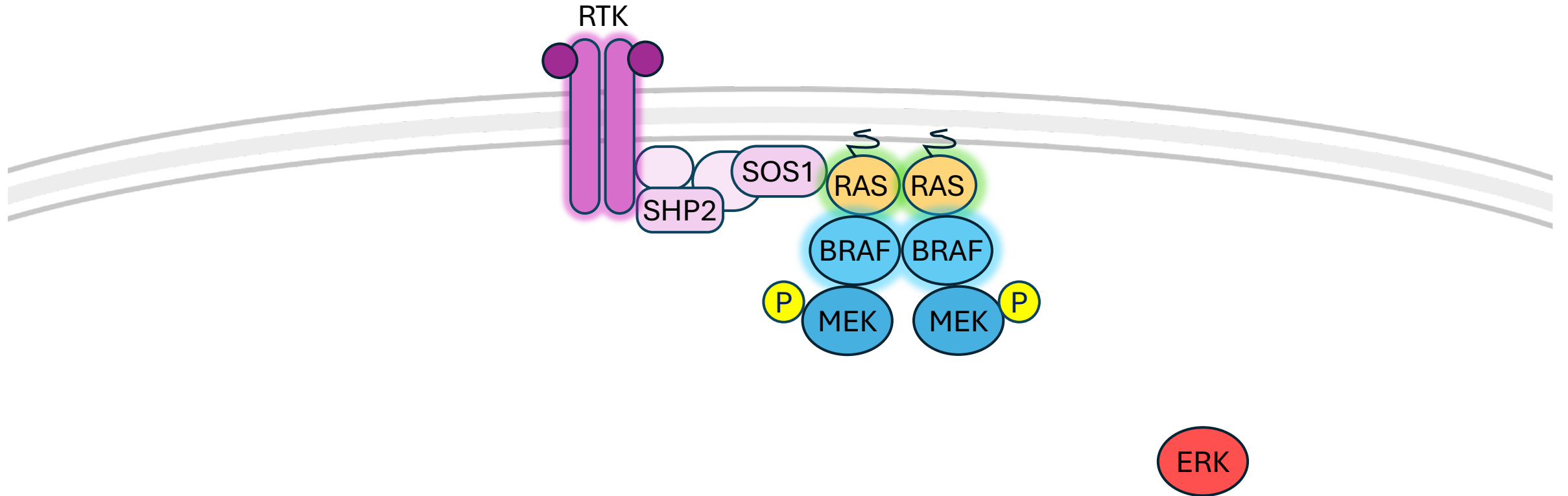
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



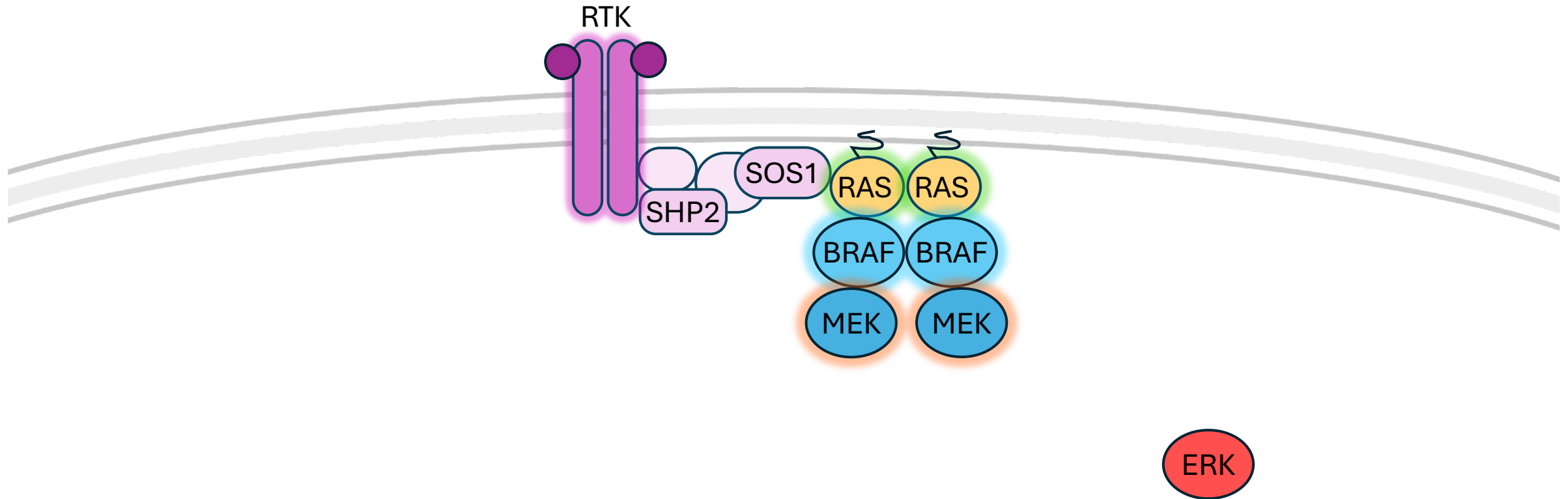
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



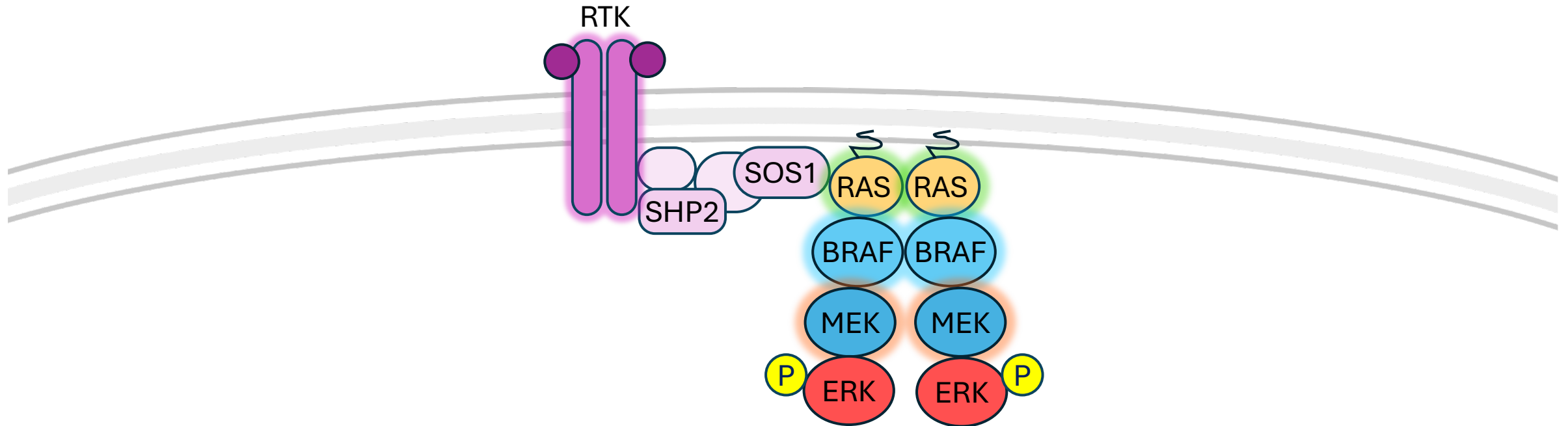
Oncogenic alterations



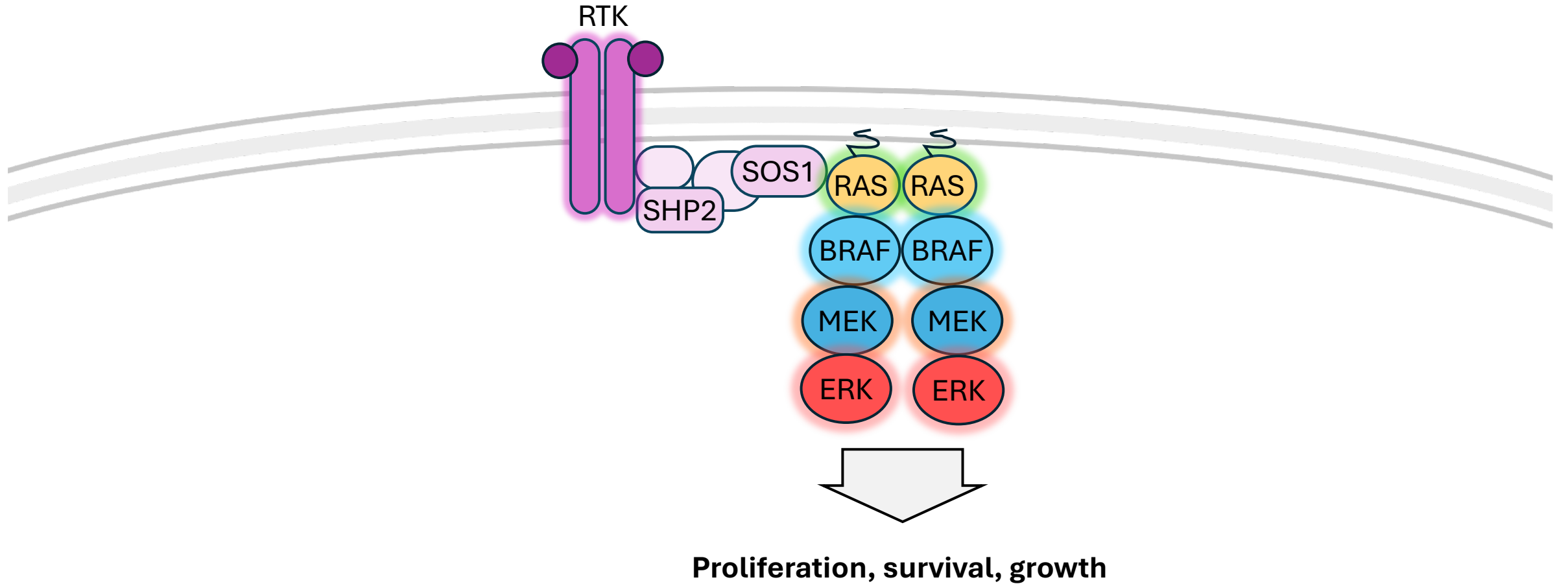
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



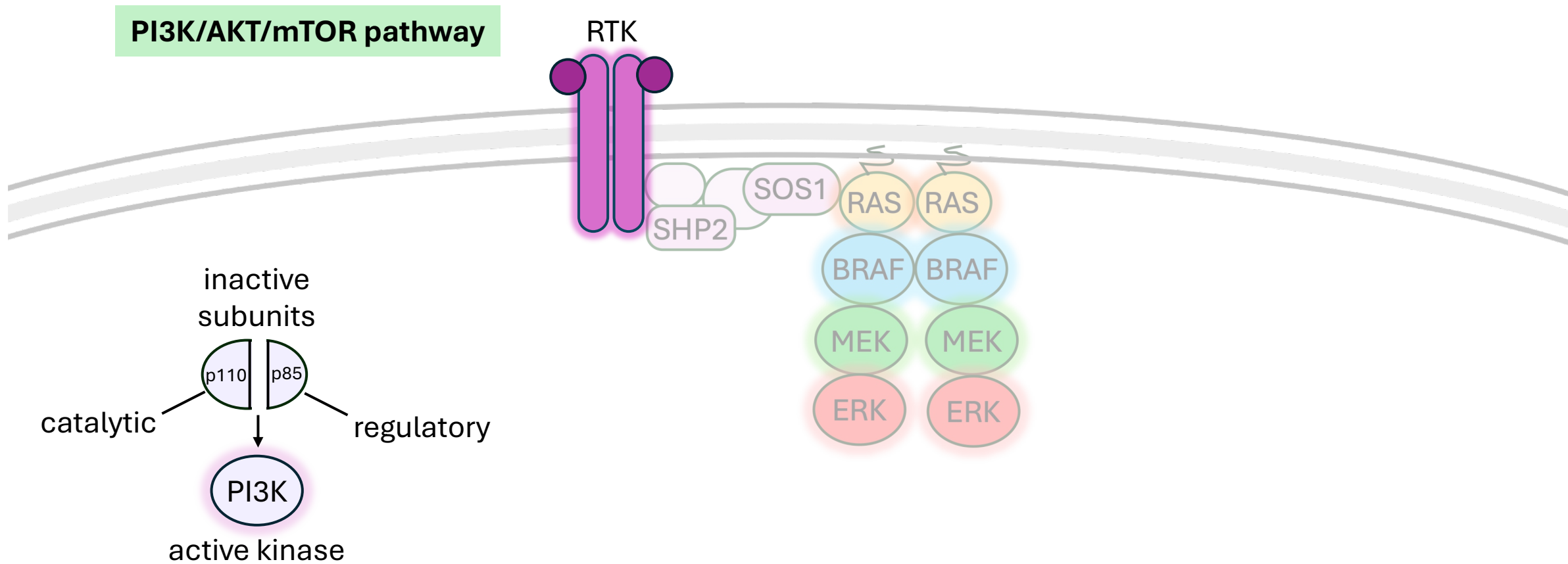
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



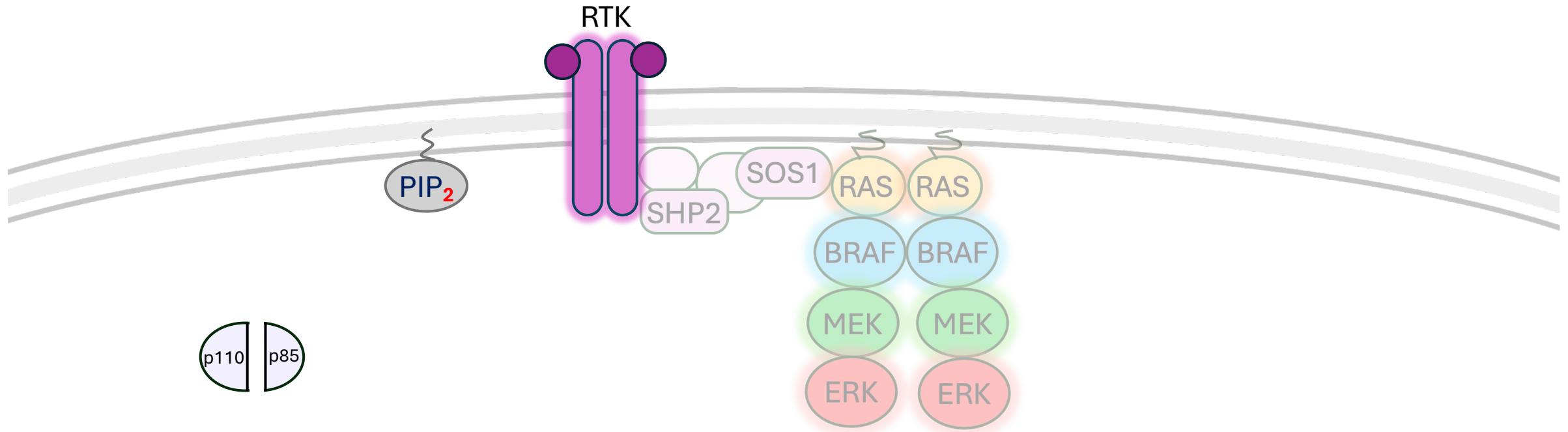
The RTK/MAPK/ERK signaling pathway



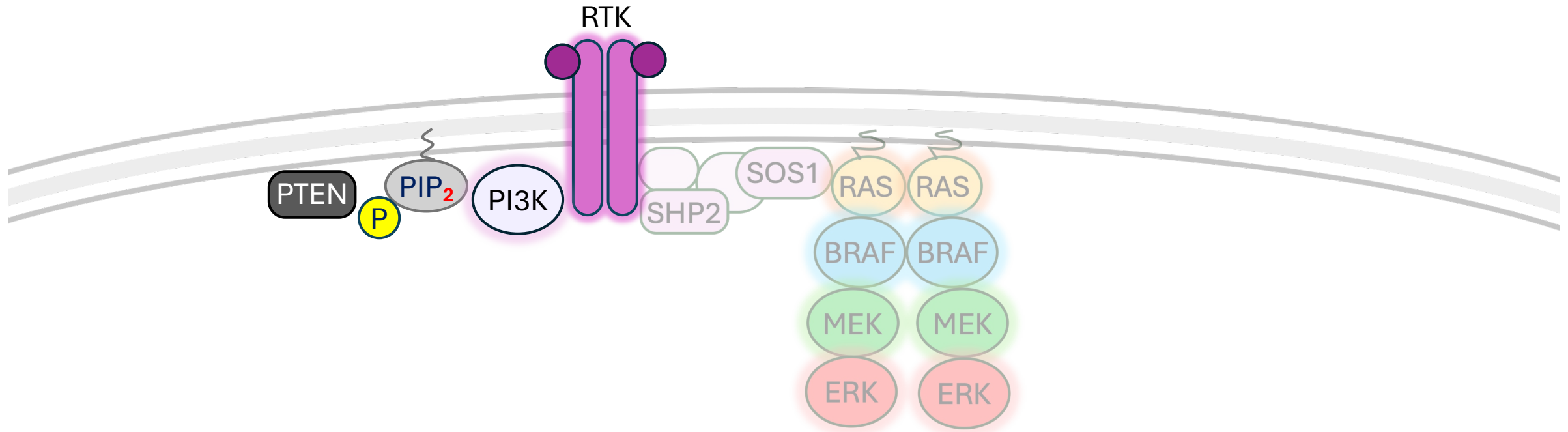
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



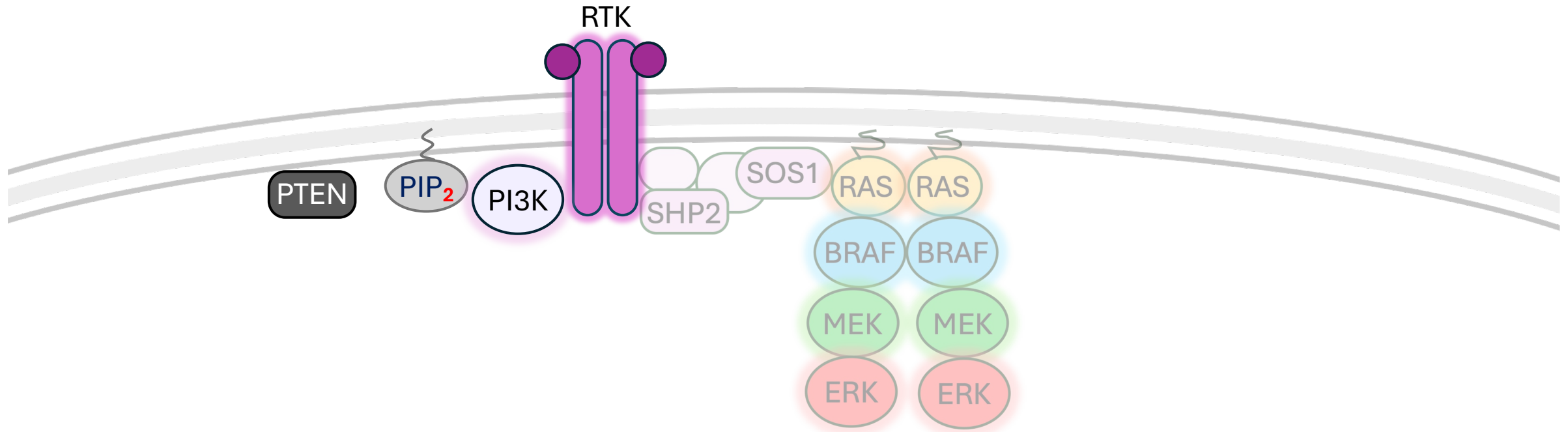
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



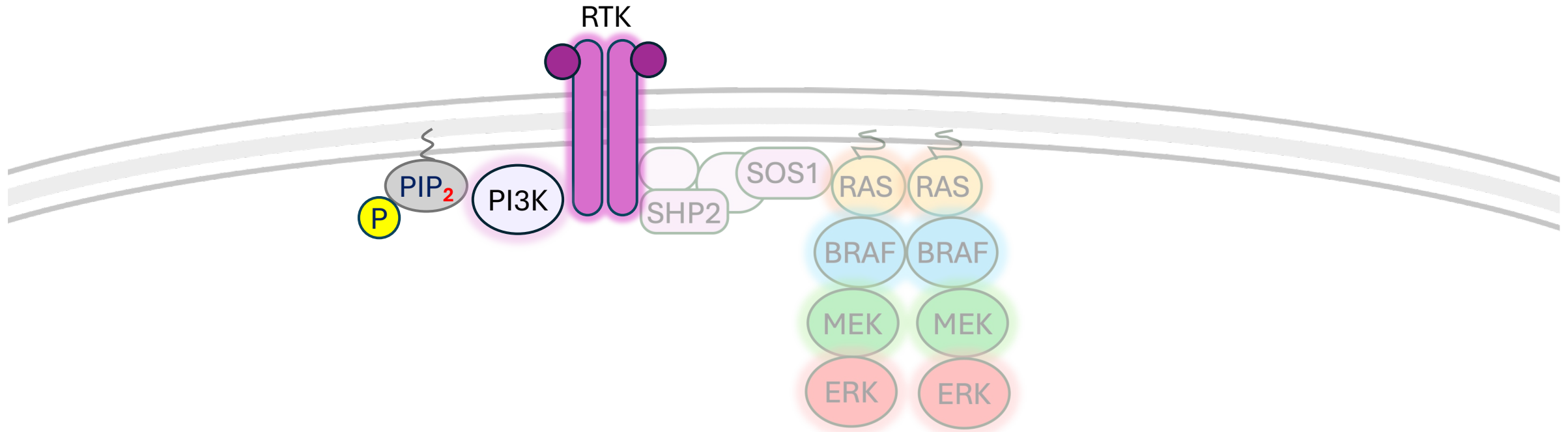
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



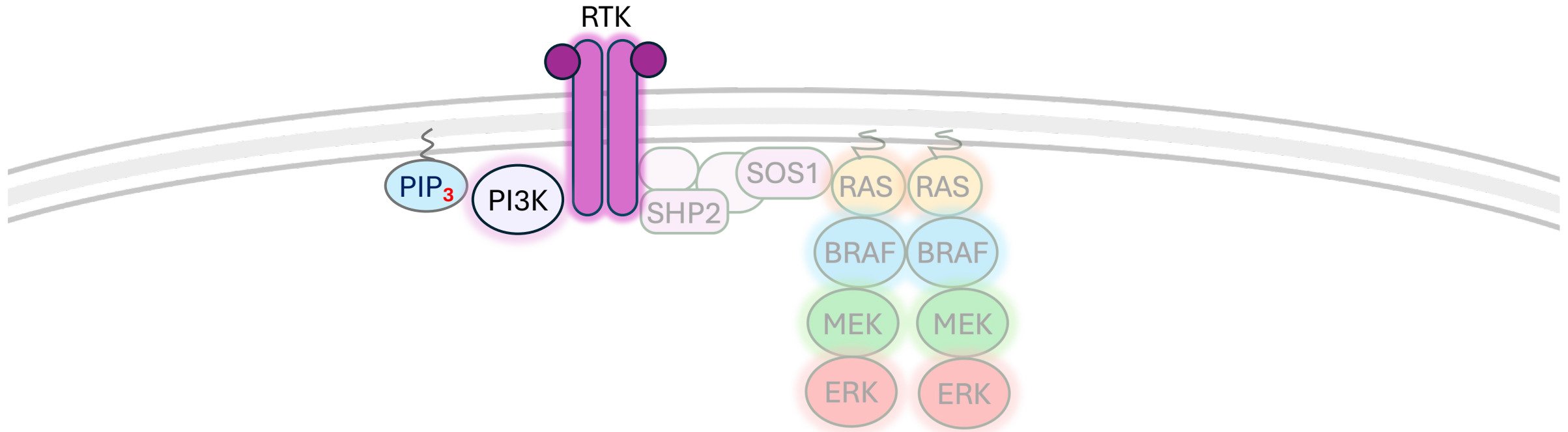
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



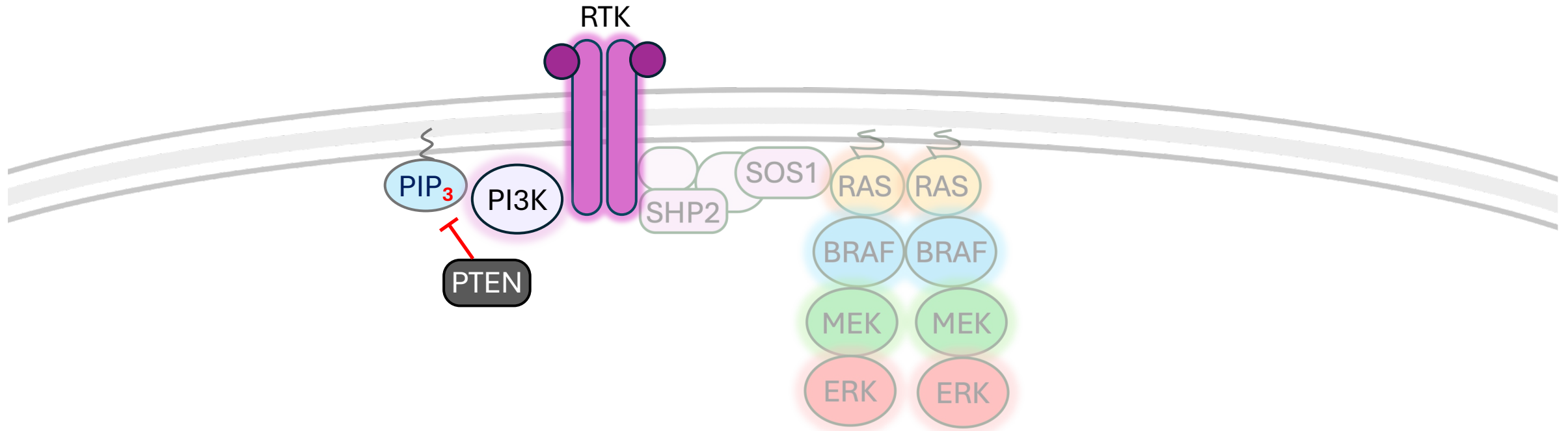
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



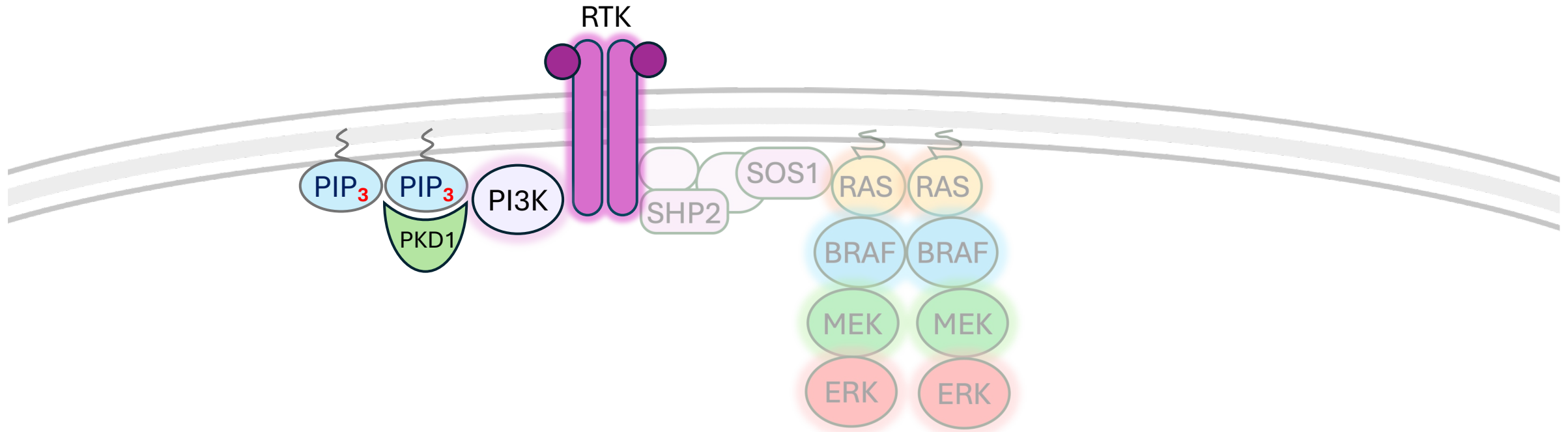
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



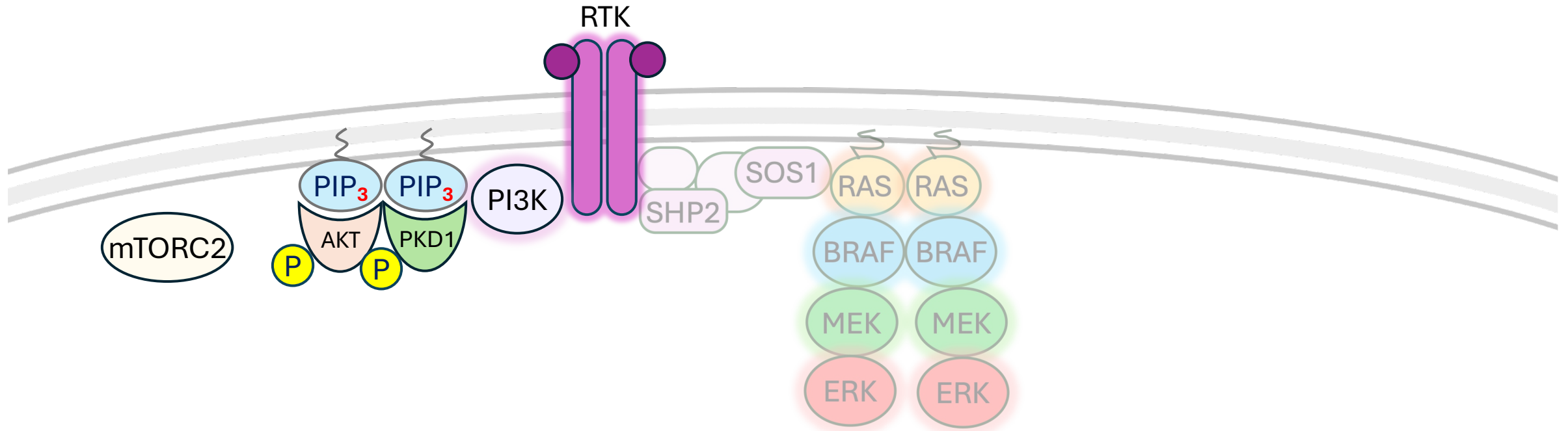
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



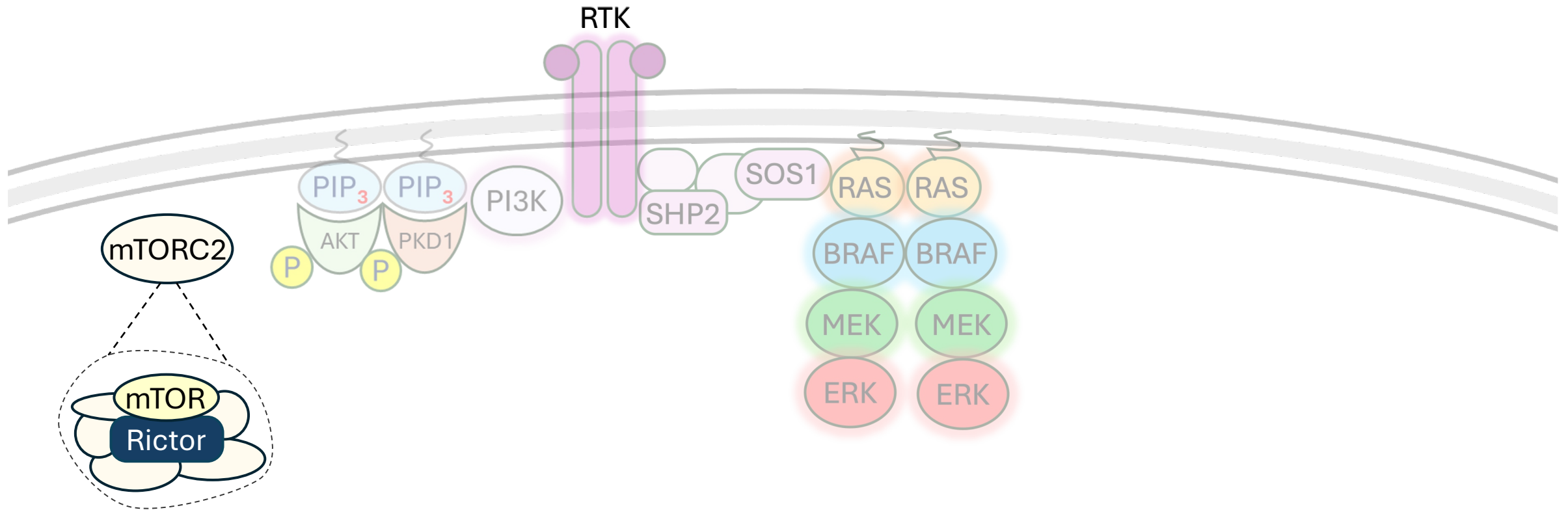
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



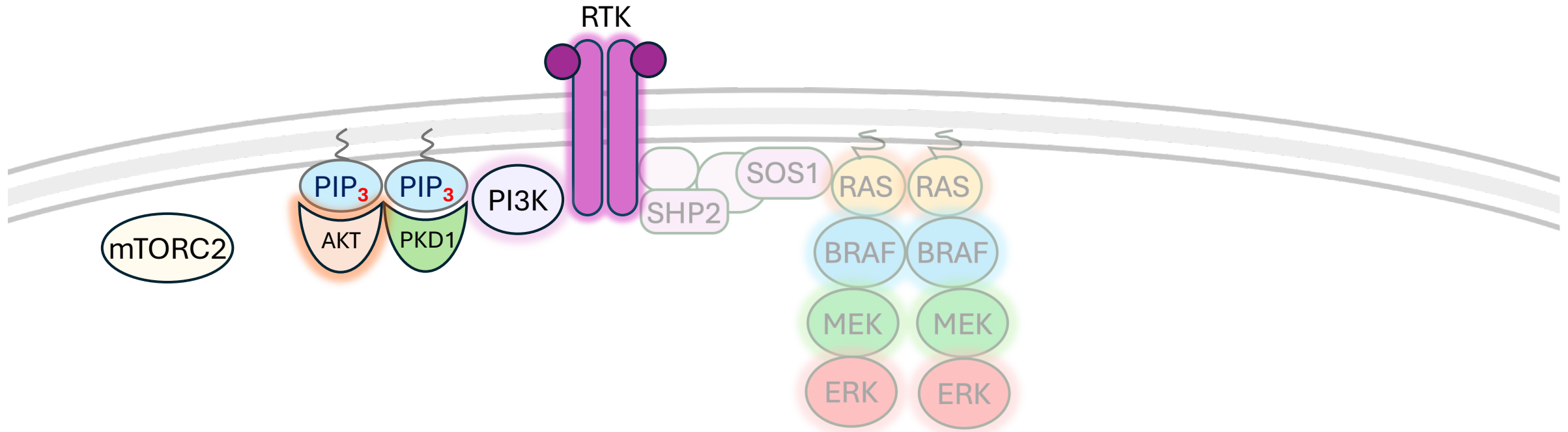
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



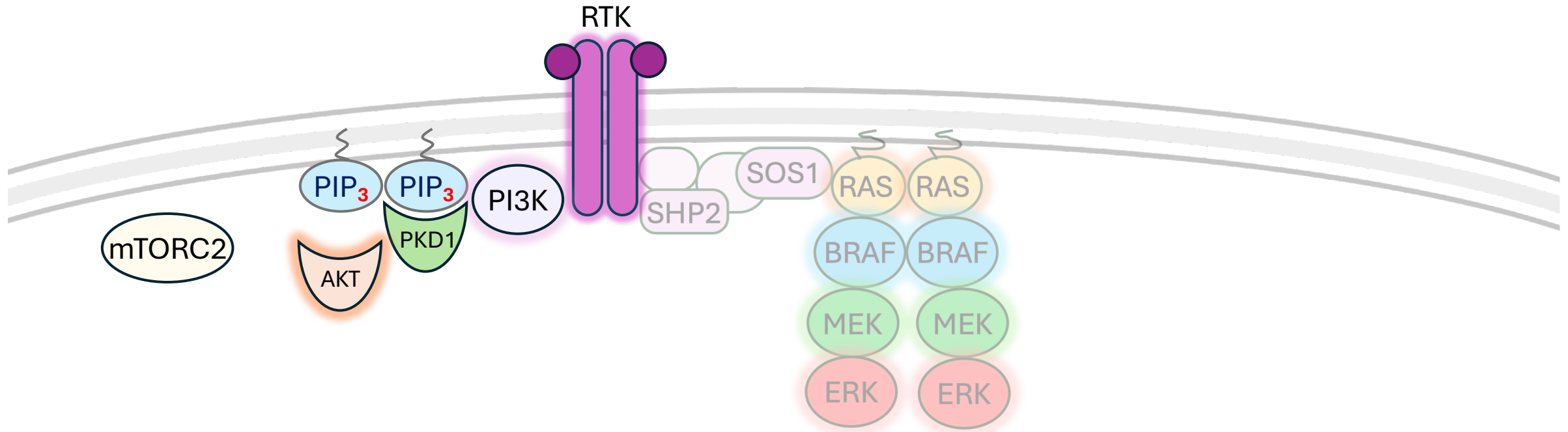
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



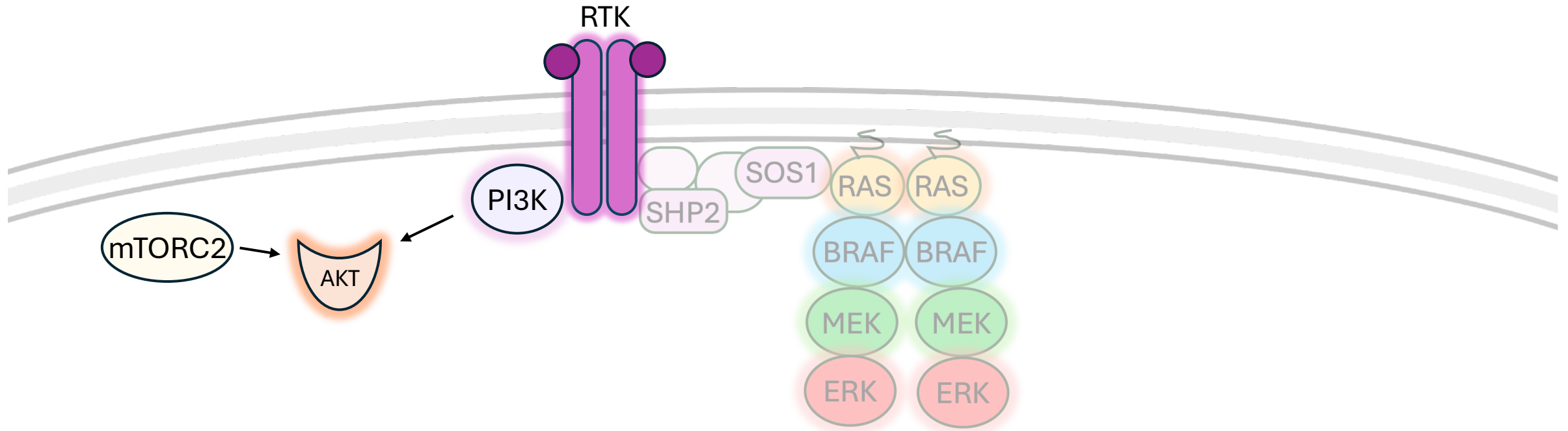
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



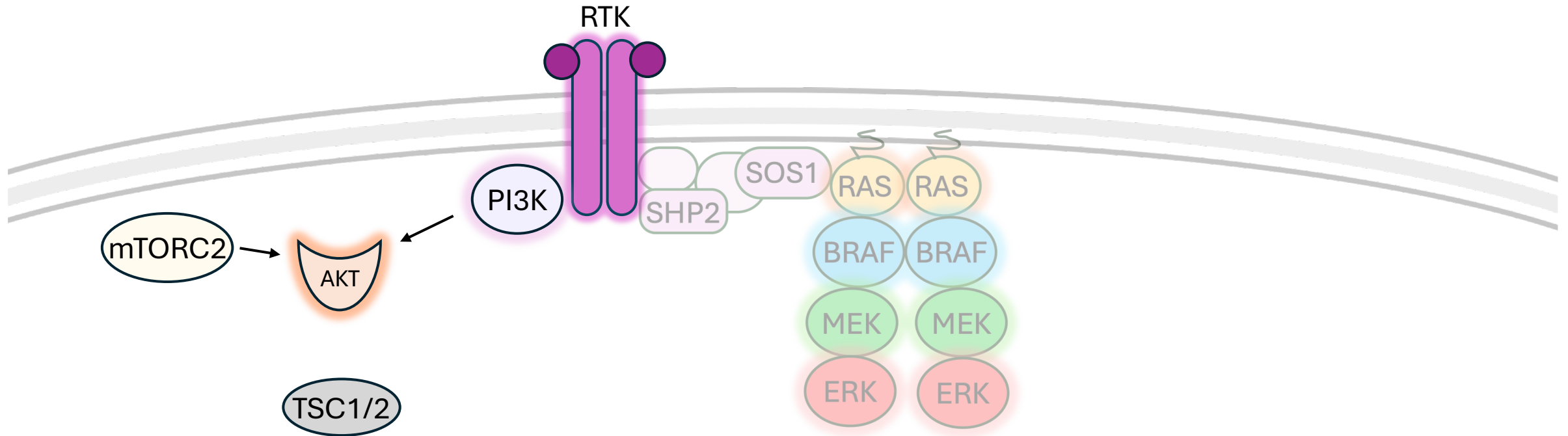
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



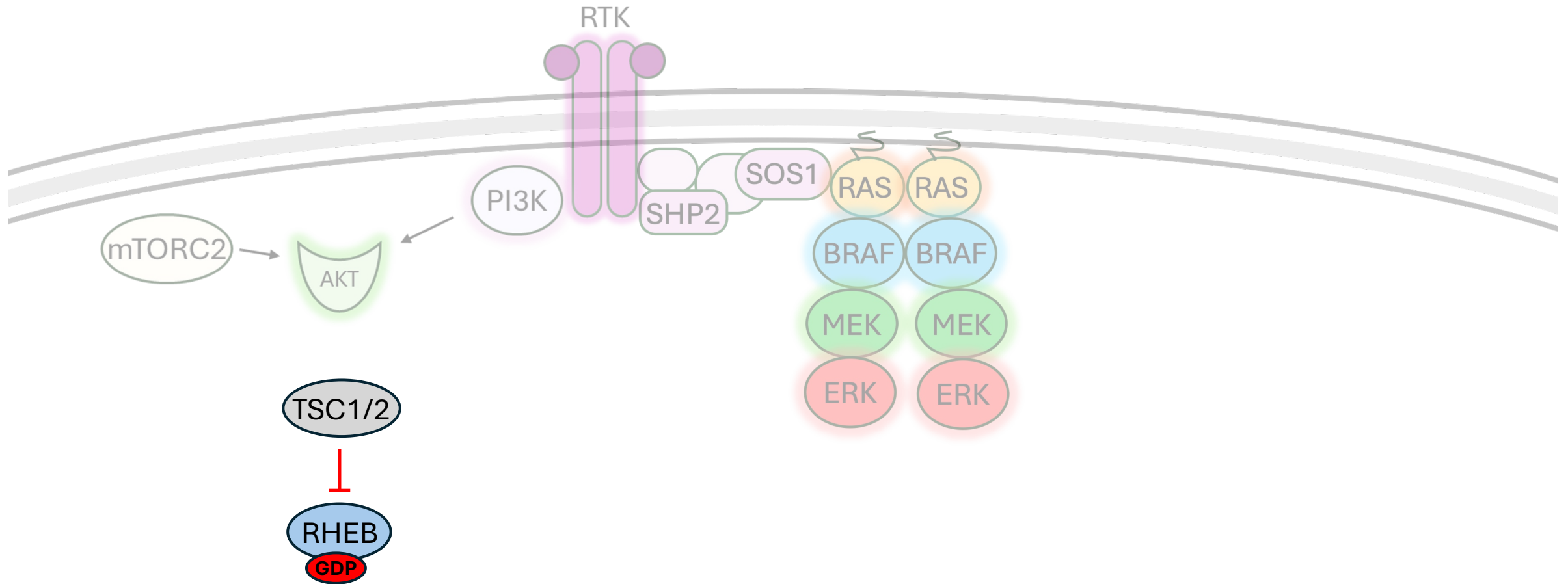
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



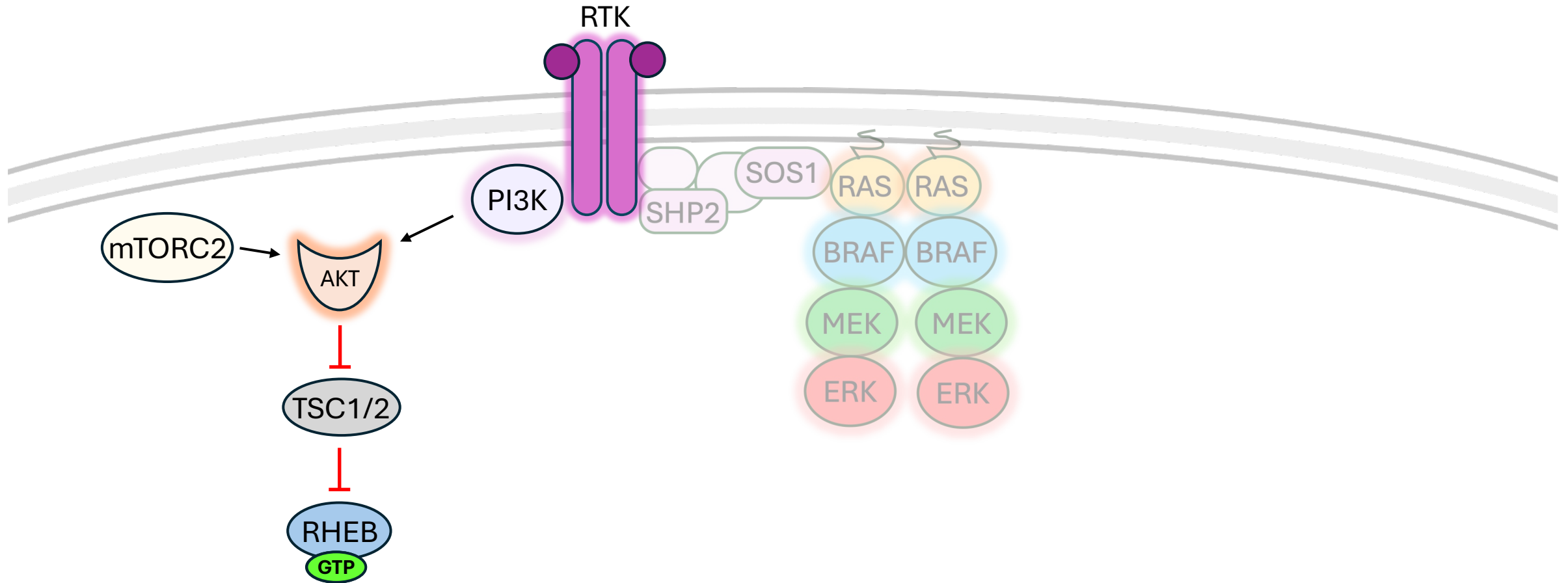
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



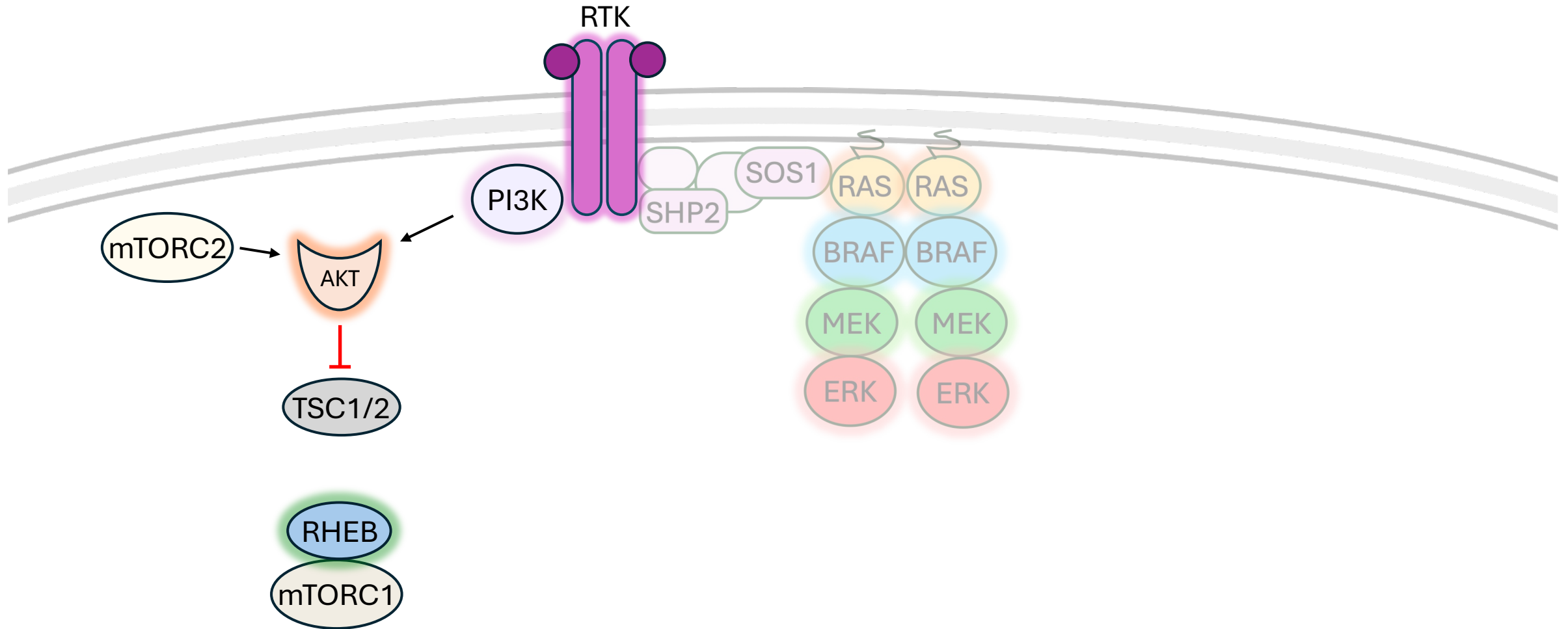
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



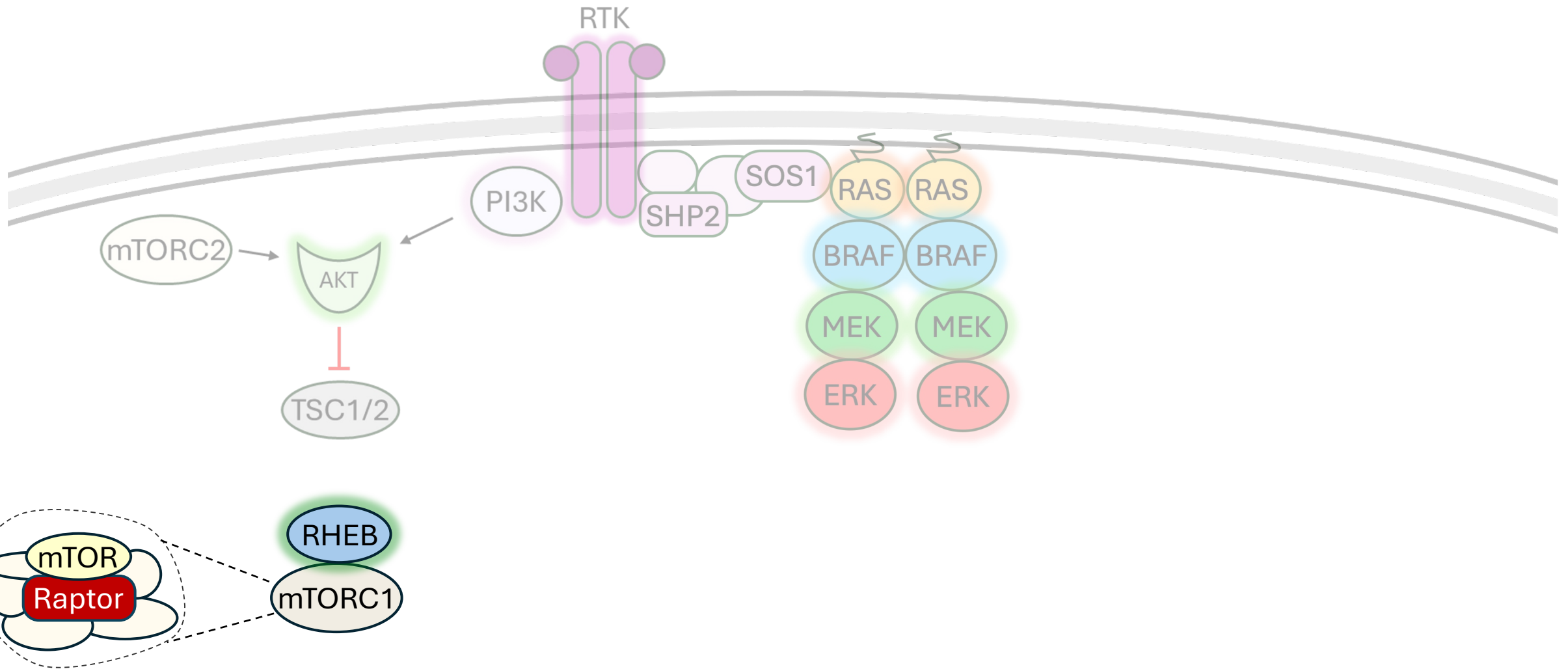
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



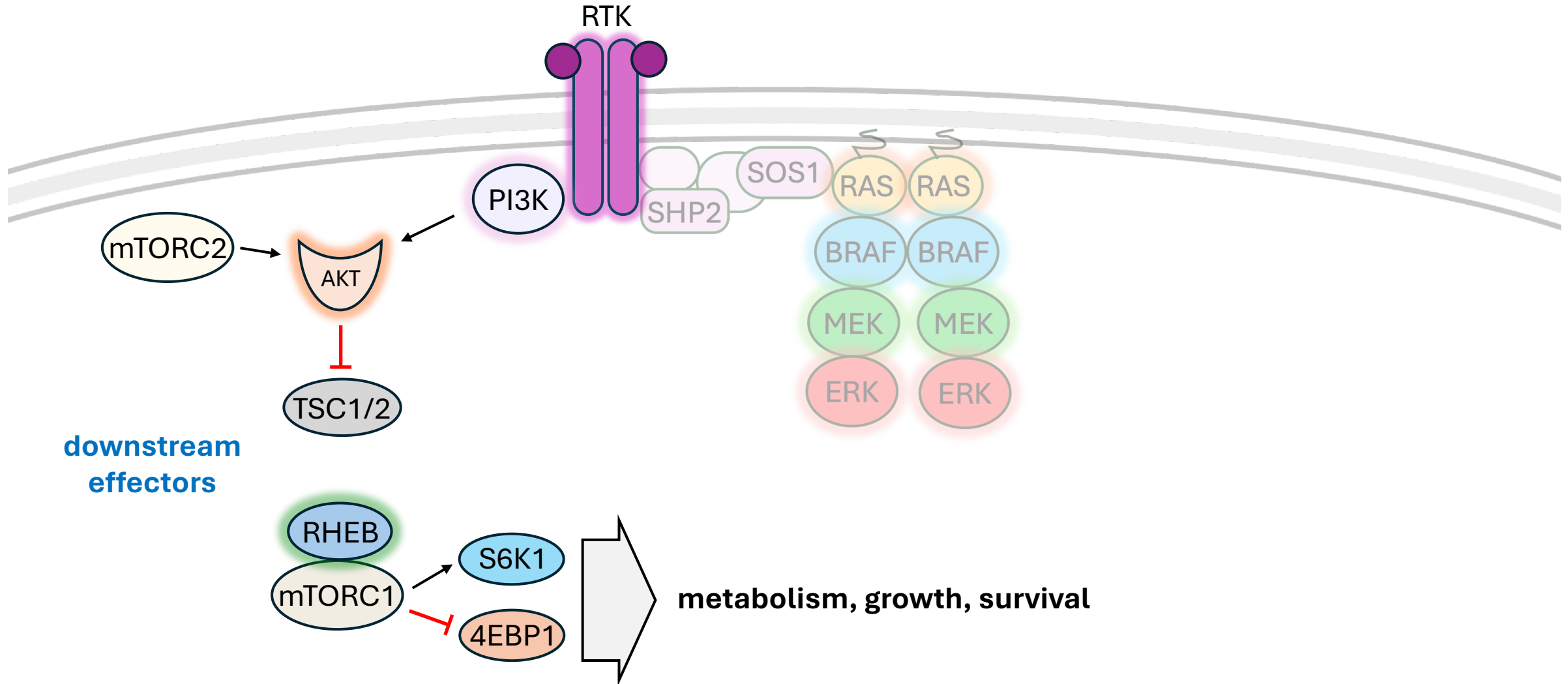
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



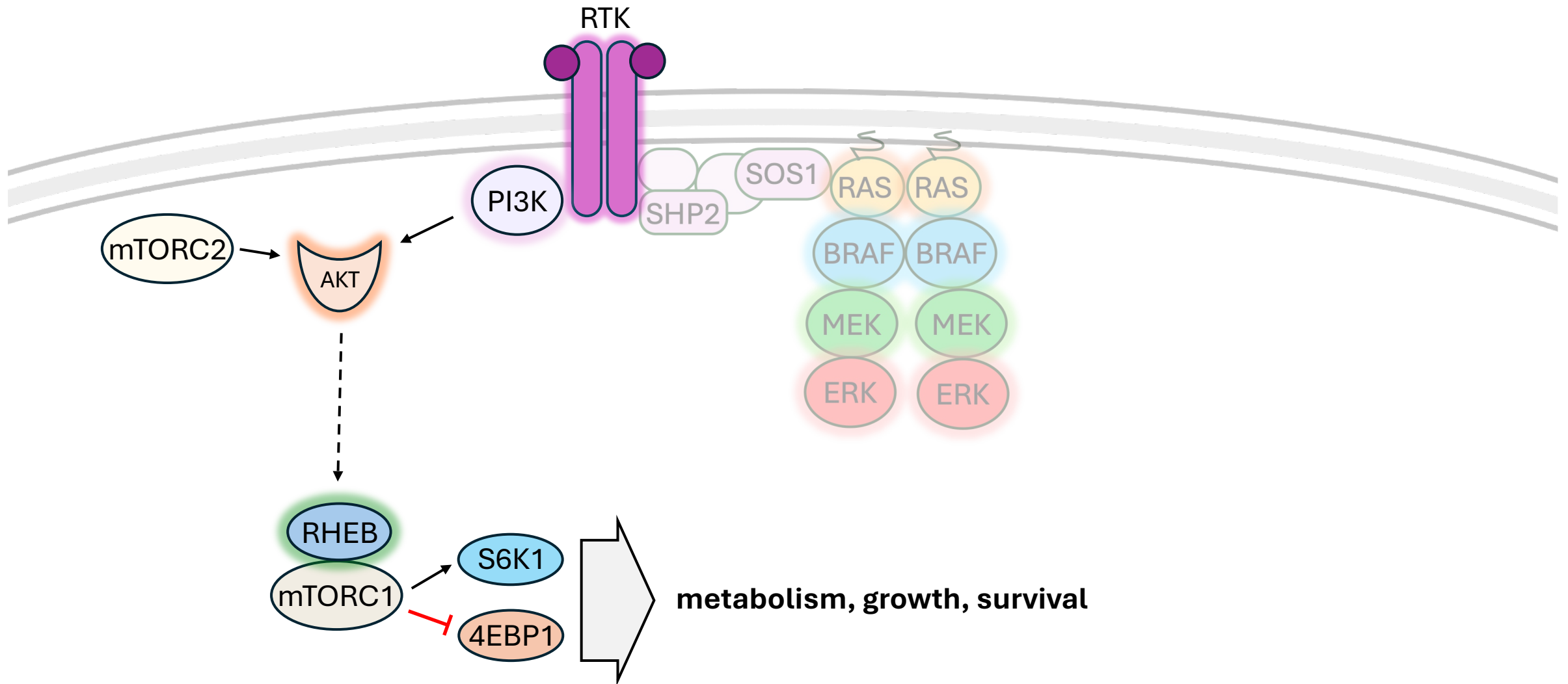
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



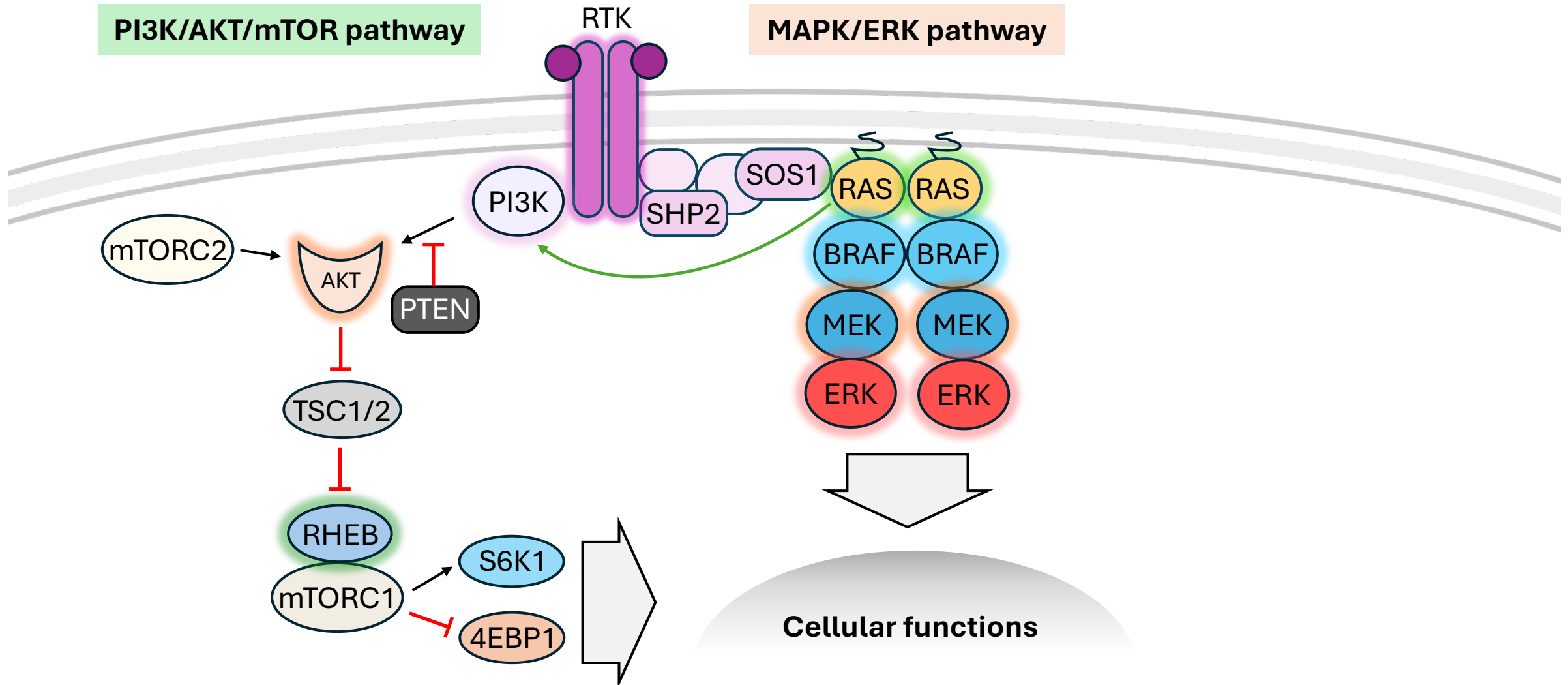
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



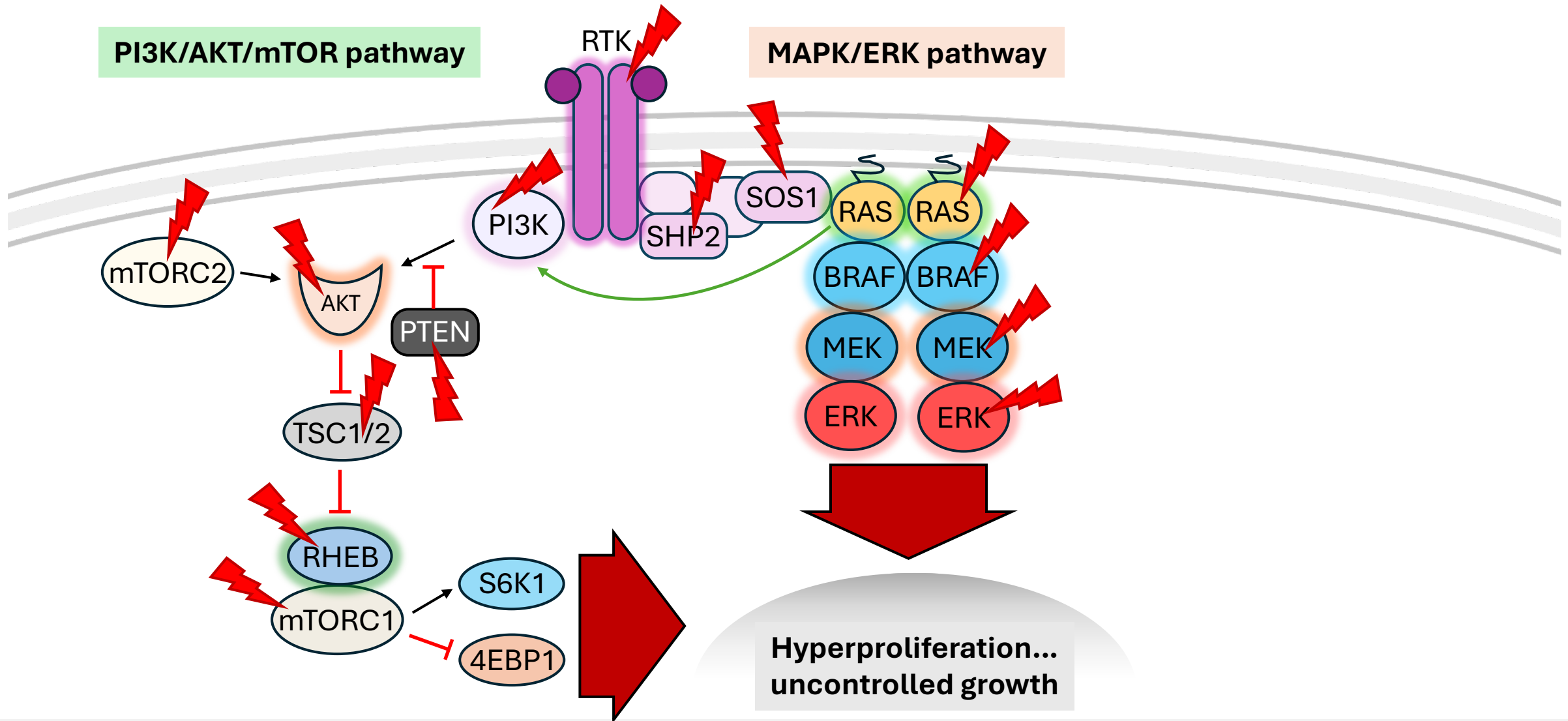
The PI3K/AKT/mTOR signaling pathway



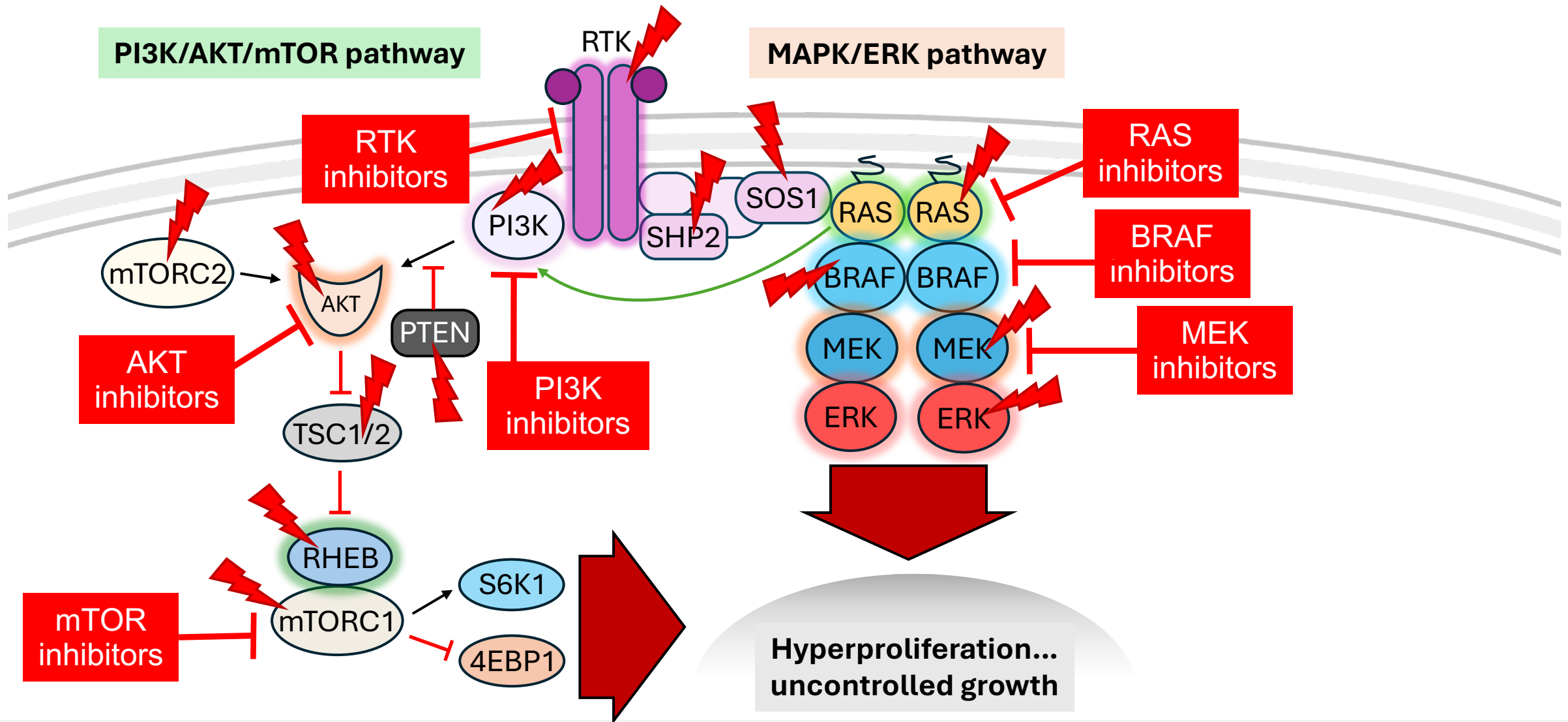
Overview of MAPK/ERK & PI3K/AKT/mTOR pathways



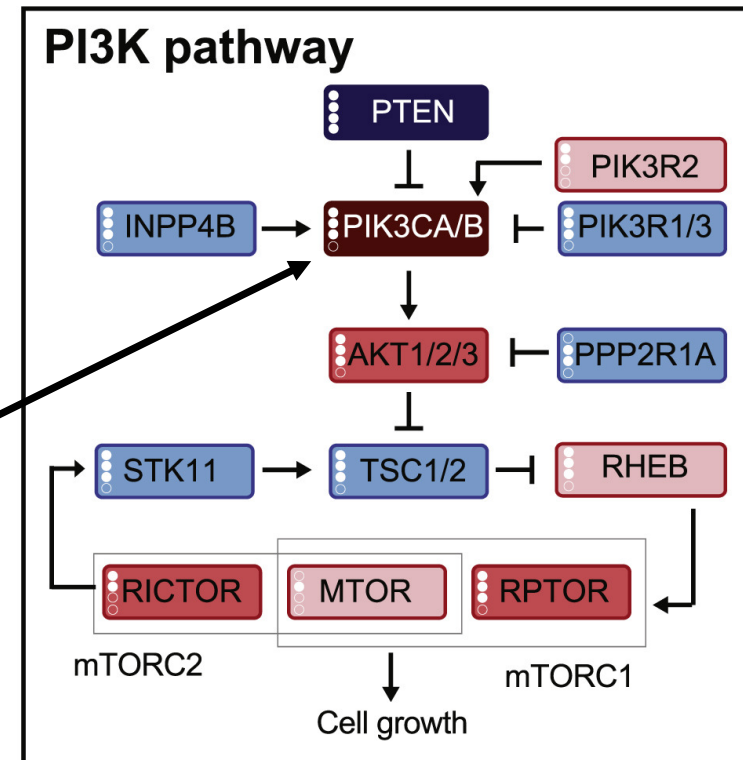
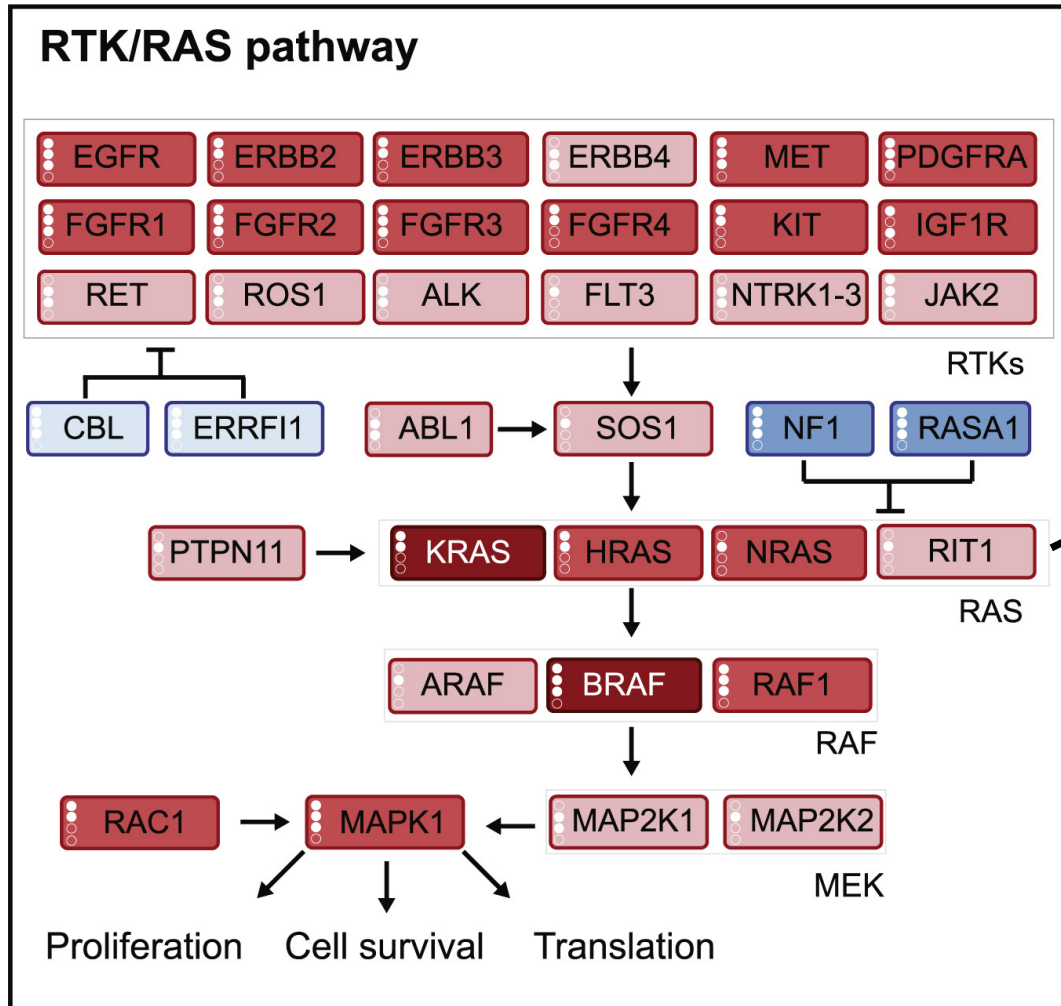
Deregulation of MAPK/ERK & PI3K/AKT/mTOR pathways



Targeting the MAPK/ERK & PI3K/AKT/mTOR pathways



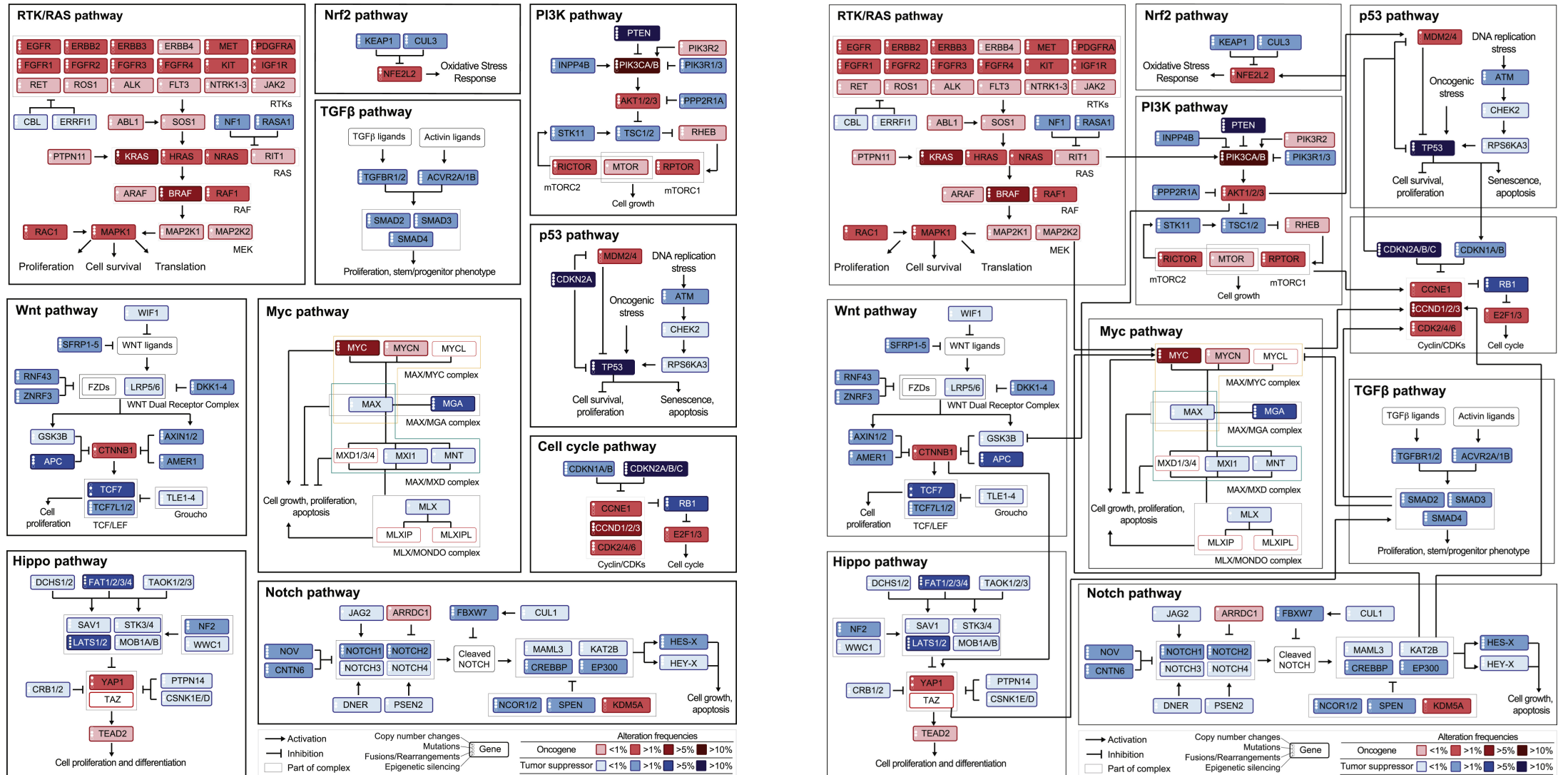
Γονιδιακές αλλαγές και συχνότητες στους ανθρώπινους καρκίνους



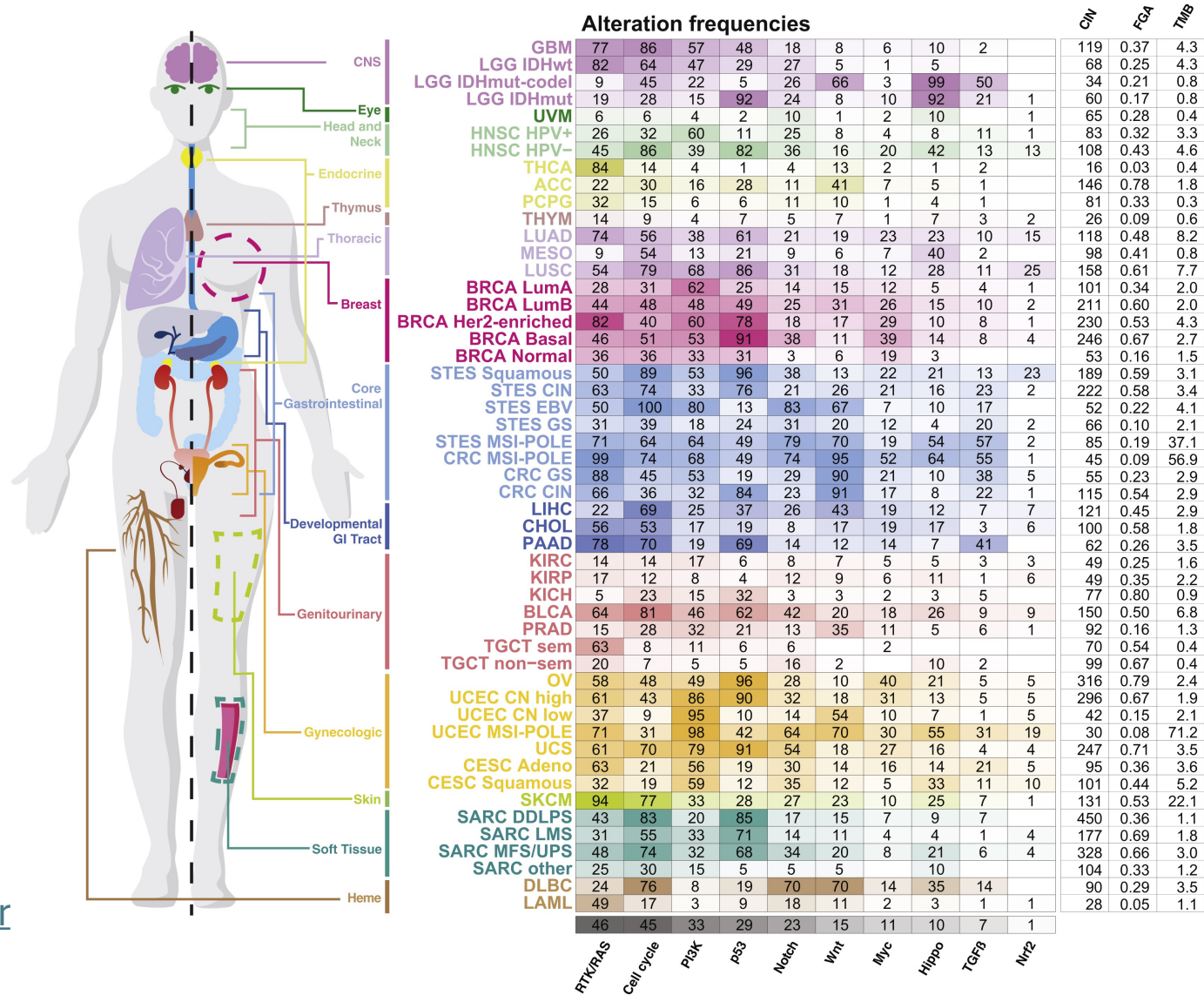
→	Activation	Copy number changes	Gene	
⊥	Inhibition	Mutations		
□	Part of complex	Fusions/Rearrangements		
		Epigenetic silencing		
Alteration frequencies				
Oncogene	□ <1%	■ >1%	■ >5%	■ >10%
Tumor suppressor	□ <1%	■ >1%	■ >5%	■ >10%

Γονιδιακές αλλαγές και συχνότητες στους ανθρώπινους καρκίνους

cross-pathway interactions

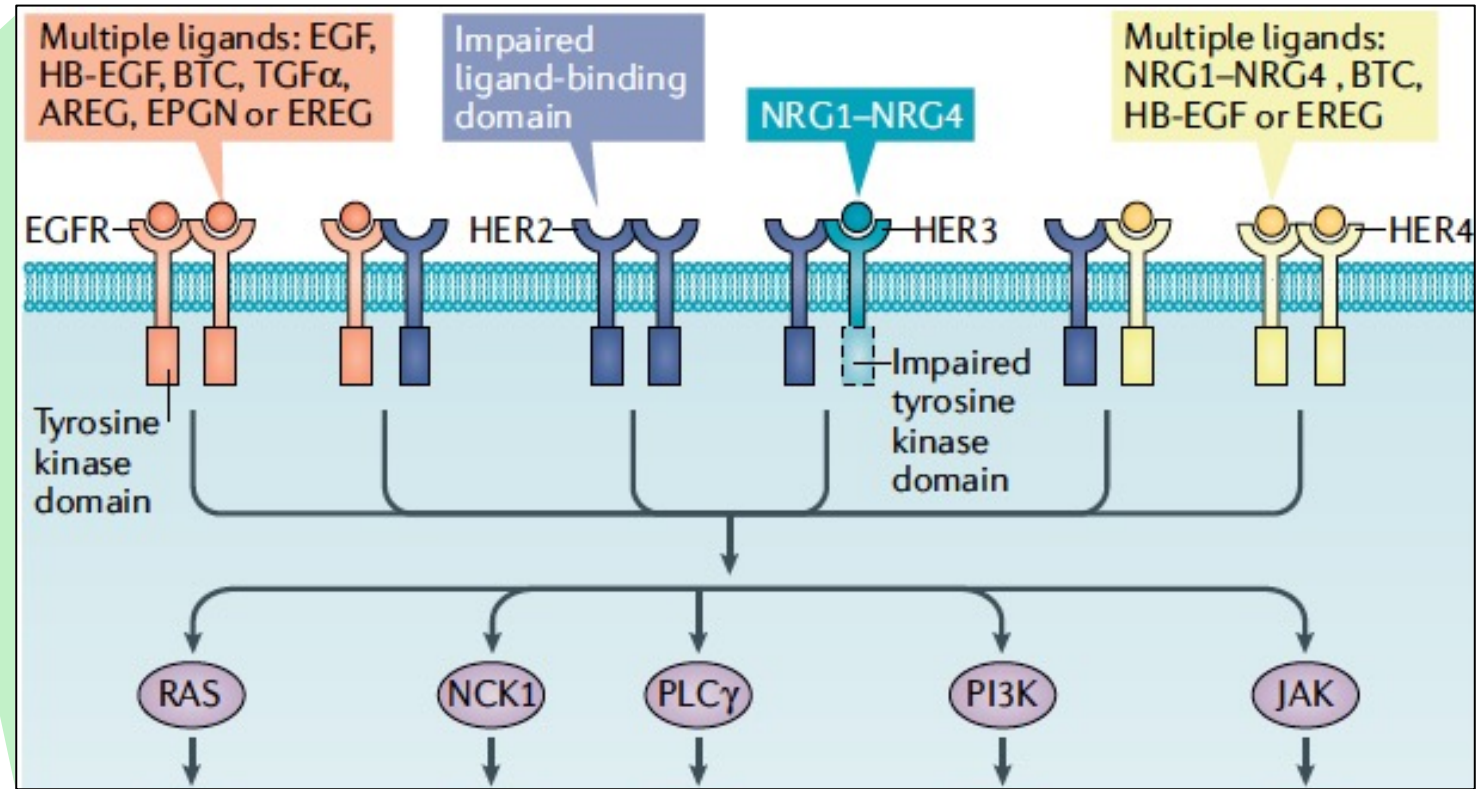
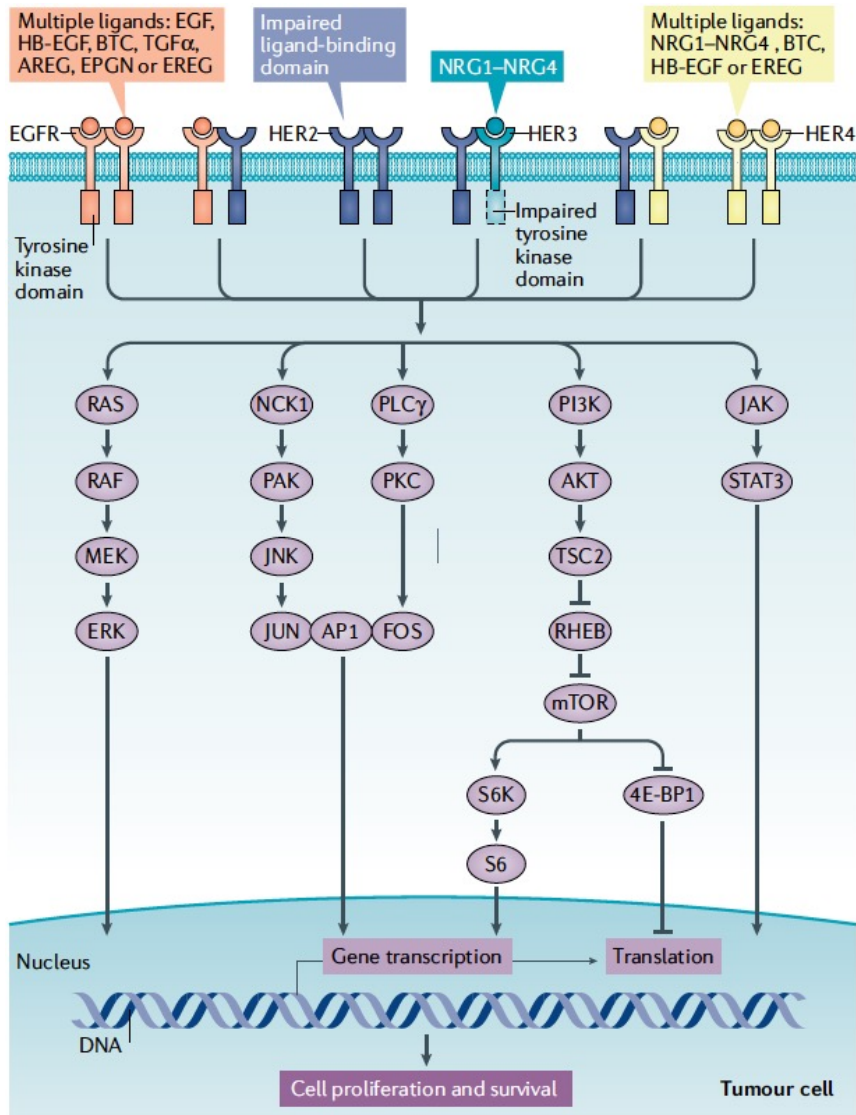


Γονιδιακές αλλαγές και συχνότητες στους ανθρώπινους καρκίνους



[Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas](#)

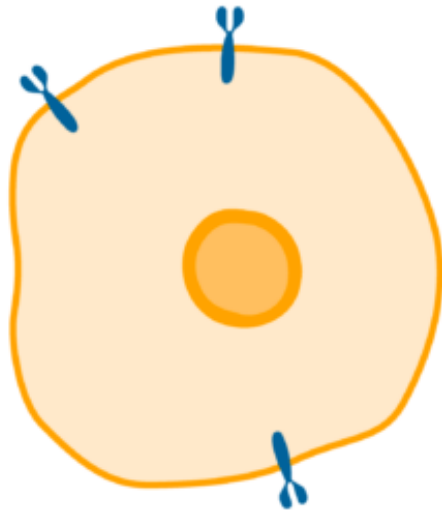
Ογκογονίδια: ERBB οικογένεια



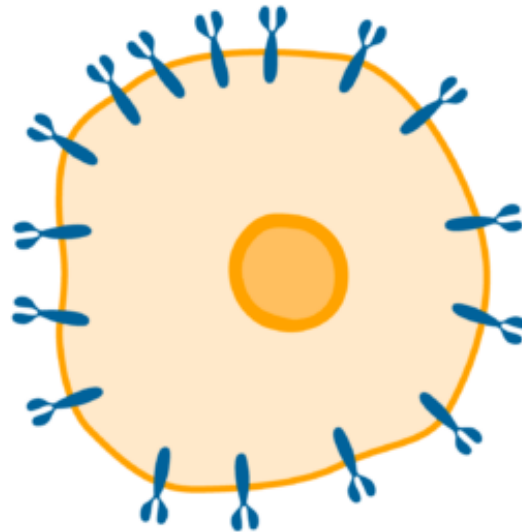
HER2 θετικός καρκίνος του μαστού

About 20% of breast cancer cases are HER2 positive

Bladder cancer,
gastrointestinal cancers,
ovarian cancer and
stomach cancer
can also be HER2 positive



Normal
Breast Cell

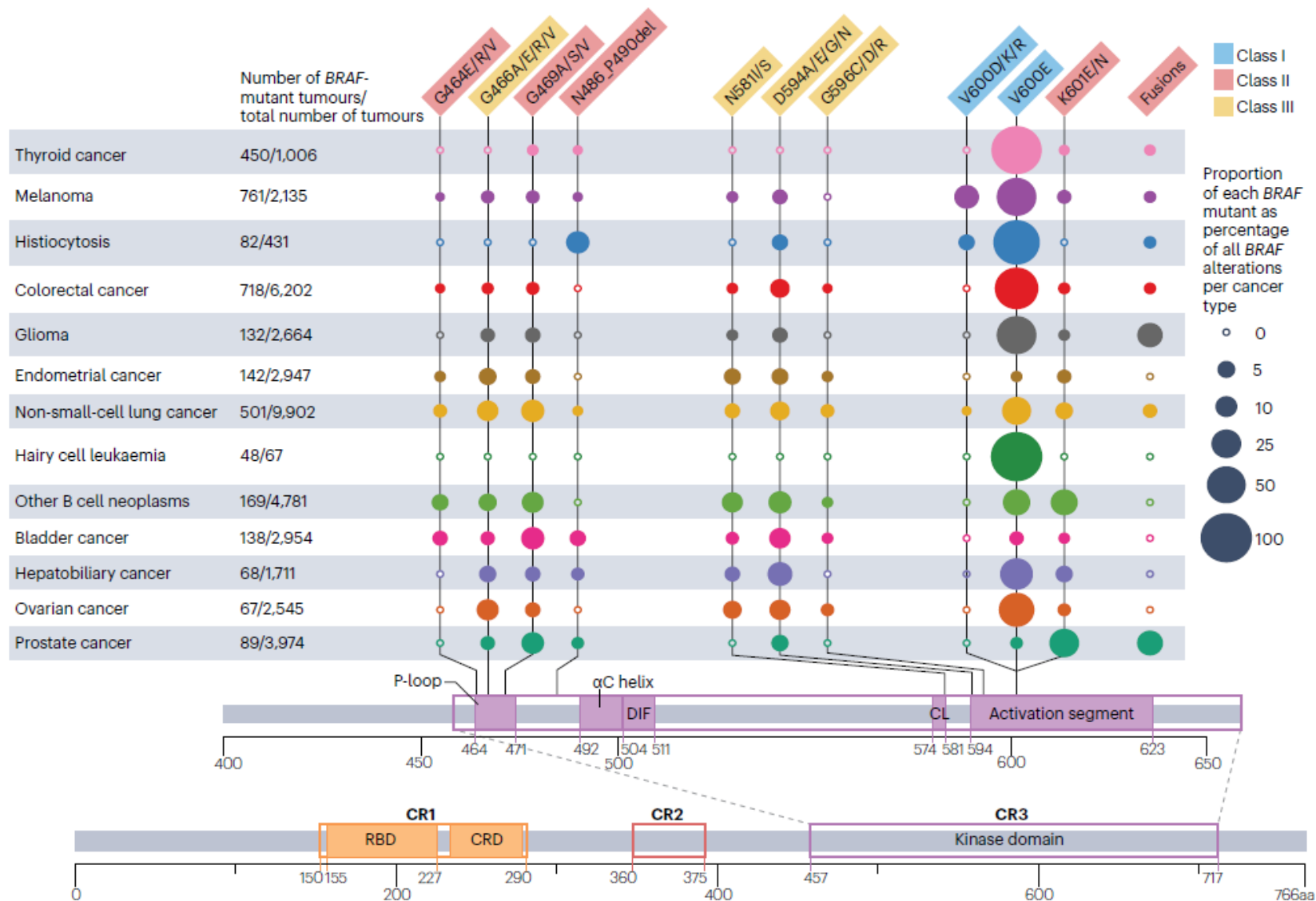


HER2-positive
Breast Cancer Cell

FDA-approved drugs

- 3 monoclonal antibodies
- 2 antibody-drug conjugates,
- 3 oral tyrosine kinase inhibitors

Ογκογονίδια: BRAF



BRAFV600E among all alterations:

- melanoma (50%)
- thyroid cancer (45%)
- colon cancer (10%)
- NSCLC (3%)

BRAFV600E among BRAF alterations:

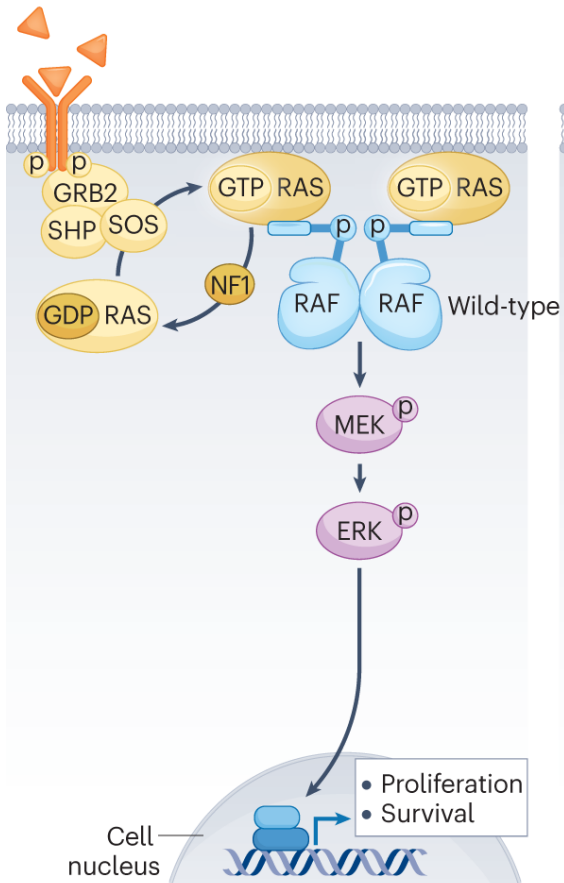
- melanoma (90%)
- thyroid cancer (95%)
- colon cancer (90%)
- NSCLC (60%)

Μηχανισμοί ενεργοποίησης wild-type και mutant BRAF

a

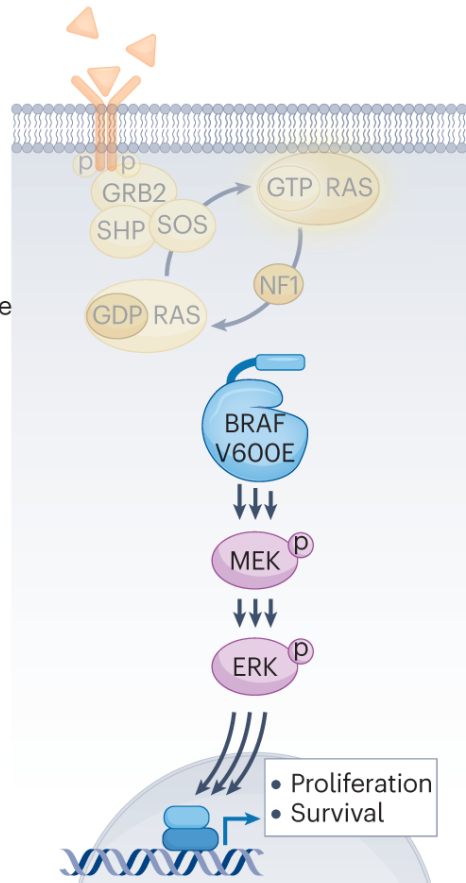
Wild-type BRAF

Signals as RAS-dependent dimers following growth factor stimulation of RTKs



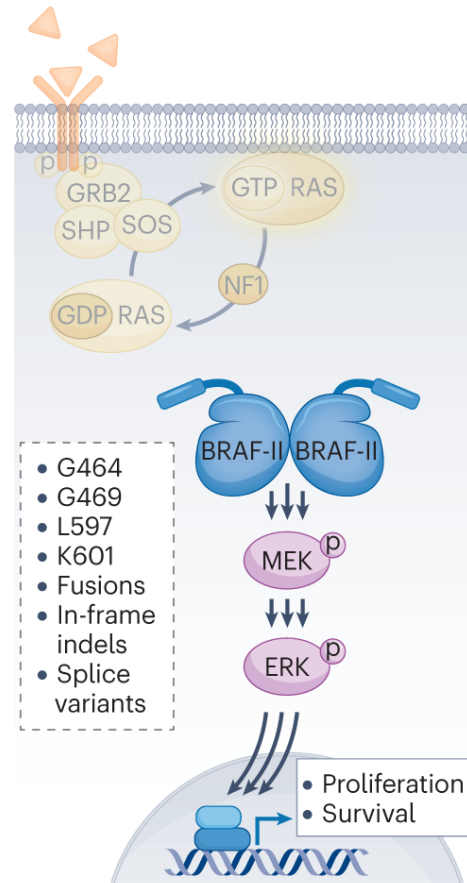
Class I BRAF mutants (V600-mutant)

Signal as high-activity, RAS-independent monomers under conditions of low RAS activity



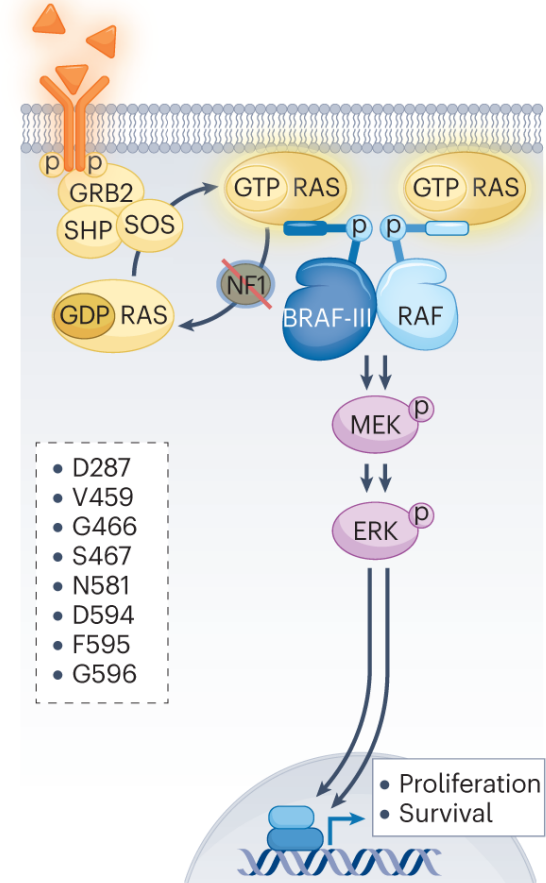
Class II BRAF mutants (non-V600-mutant)

Signal as intermediate-to-high-activity, RAS-independent dimers



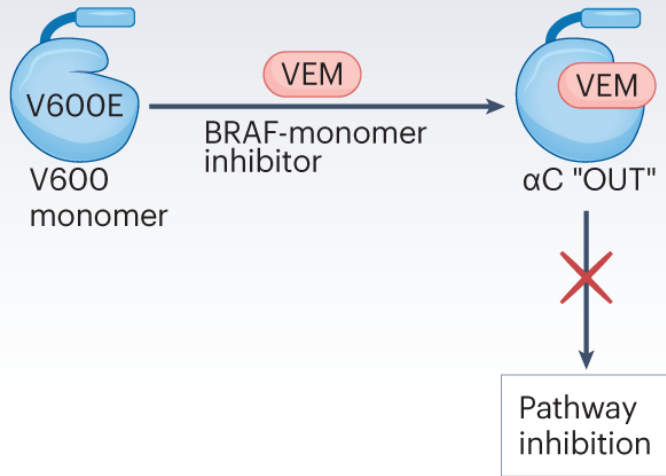
Class III BRAF mutants (non-V600-mutant)

Low-activity or kinase-dead, RAS-dependent mutants that signal as heterodimers with wild-type RAF; often co-occur with RTK or RAS mutations or loss of NF1

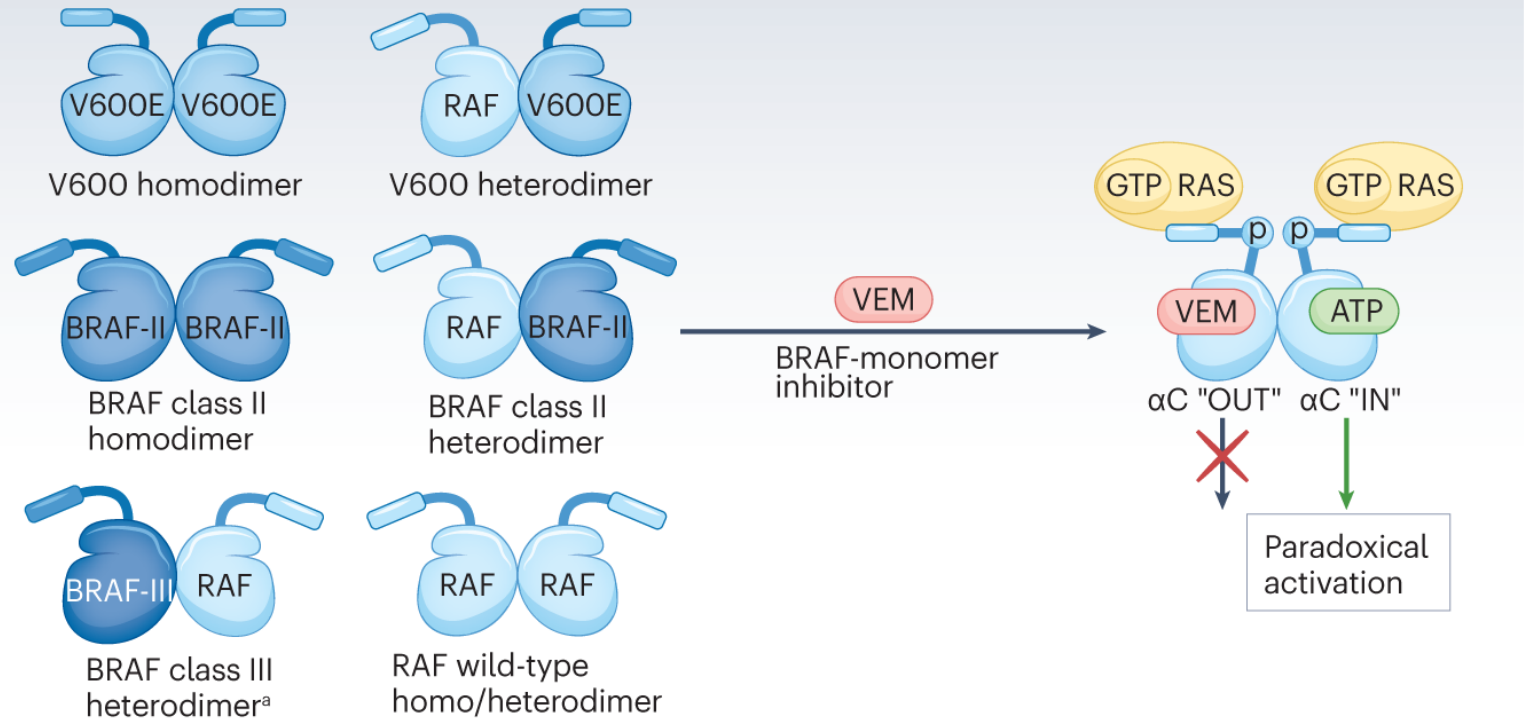


Παράδοξο της ενεργοποίησης από αναστολείς της μονομερούς BRAF

Inhibition of monomeric RAF by class I BRAF inhibitors



Paradoxical activation of RAF dimers by class I BRAF inhibitors



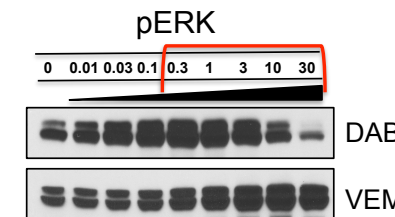
FDA-approved BRAF inhibitors **vemurafenib**, **dabrafenib** and **encorafenib** selectively inhibit activated **BRAFV600E/K/R/D monomers** (class I BRAF mutants) in cancer cells which underlies their clinical success and wide therapeutic index... **WHY????**



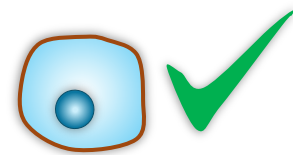
BRAF(V600E)
"Tumor"



Cancer cell

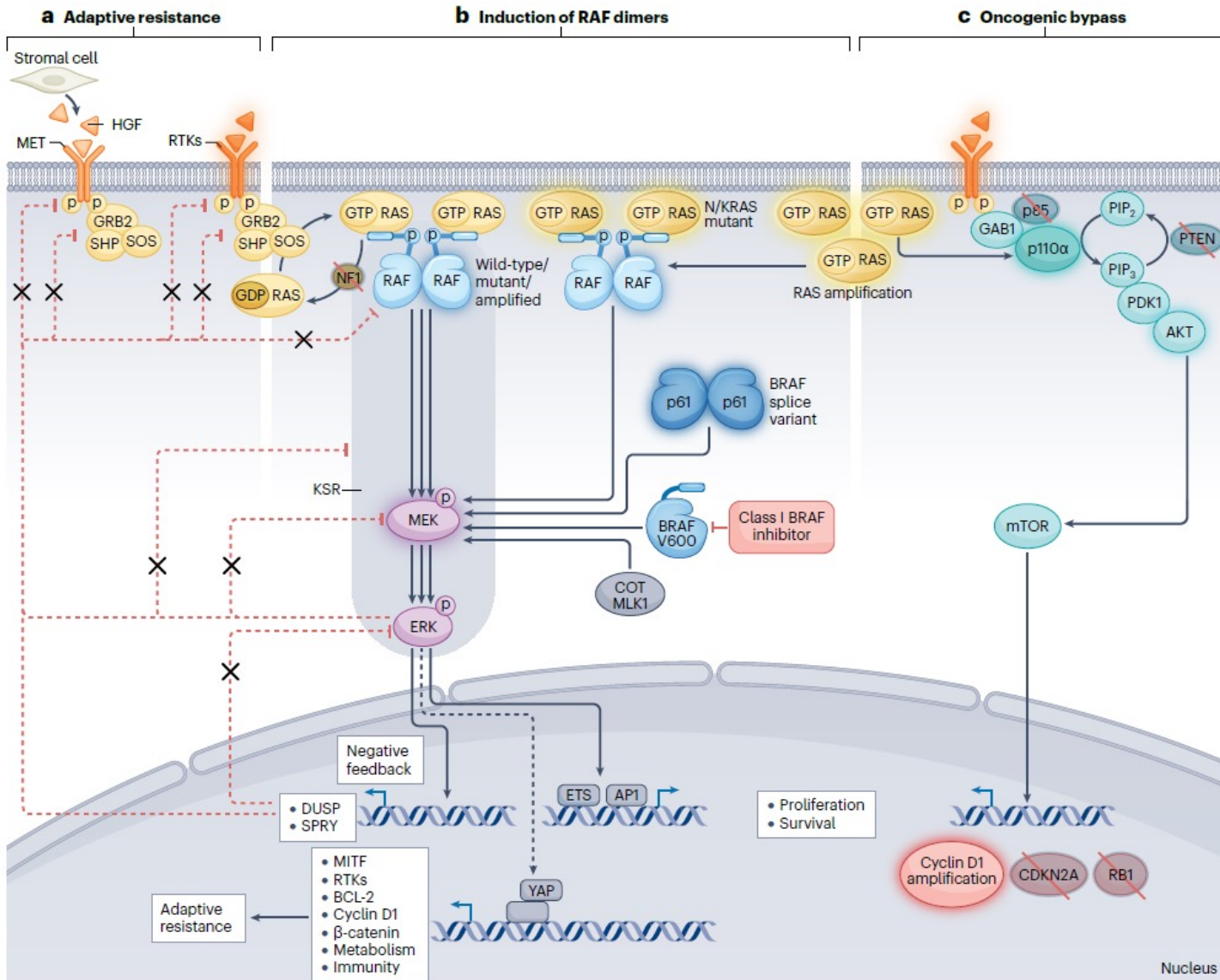


BRAF(wild-type)
"Patient"



Normal cell

Μηχανισμοί αντίστασης από αναστολείς της μονομερούς BRAF



Melanoma patient with BRAFV600E mutation



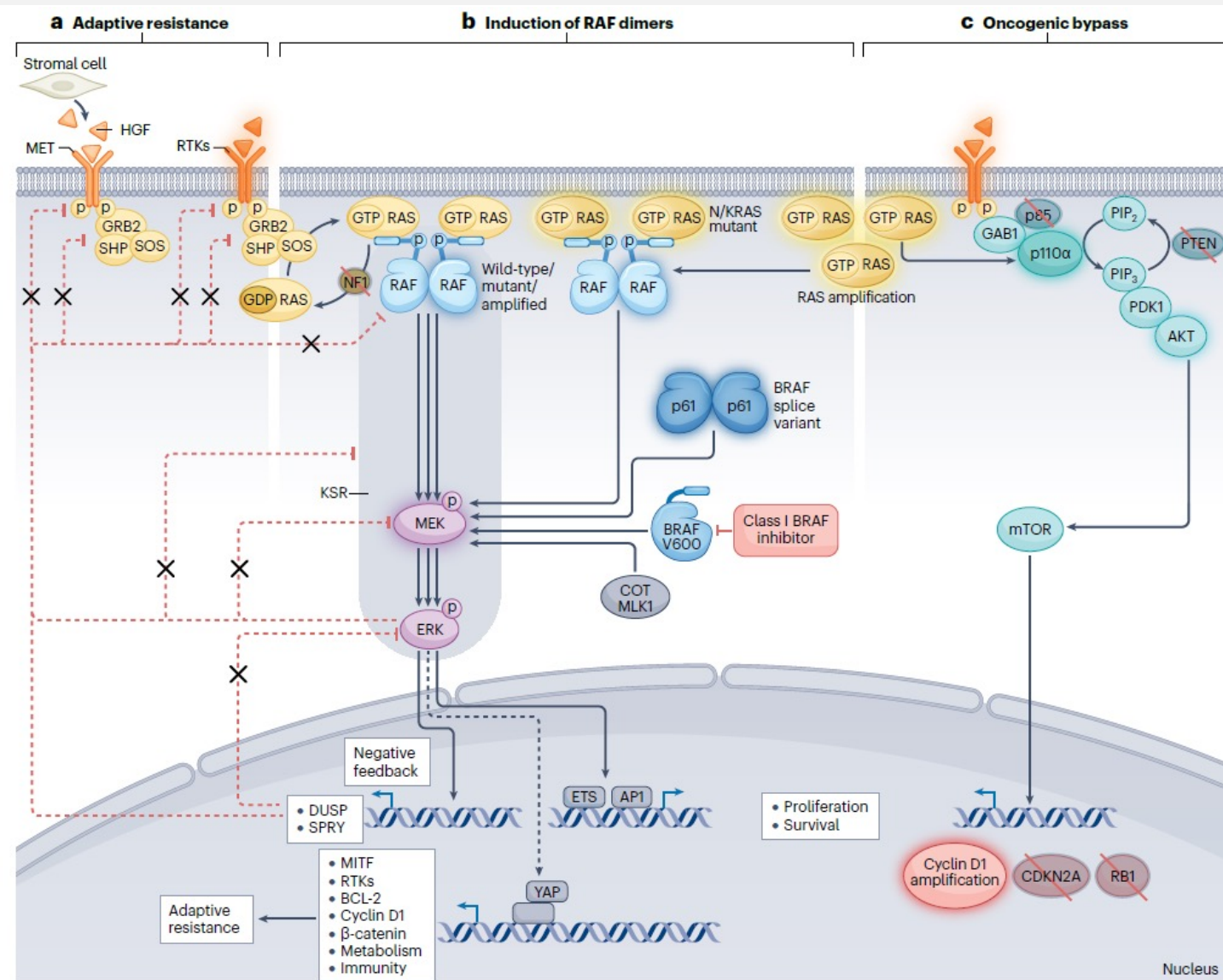
Before treatment

BRAF inhibitor resistance

- I. rapid reactivation of ERK signalling, due to **relief of negative feedback mechanisms**, that results in adaptive (re)activation of RTK signalling, RAS activation and RAF dimerization, **or**
- II. through genetic alterations such as **NRAS mutations, BRAF amplification** and **expression of BRAF splice variants** that promote RAF dimer formation

<https://www.nature.com/articles/s41571-023-00852-0>

Μηχανισμοί αντίστασης αναστολές της μονομερούς BRAF



Melanoma patient with BRAFV600E mutation

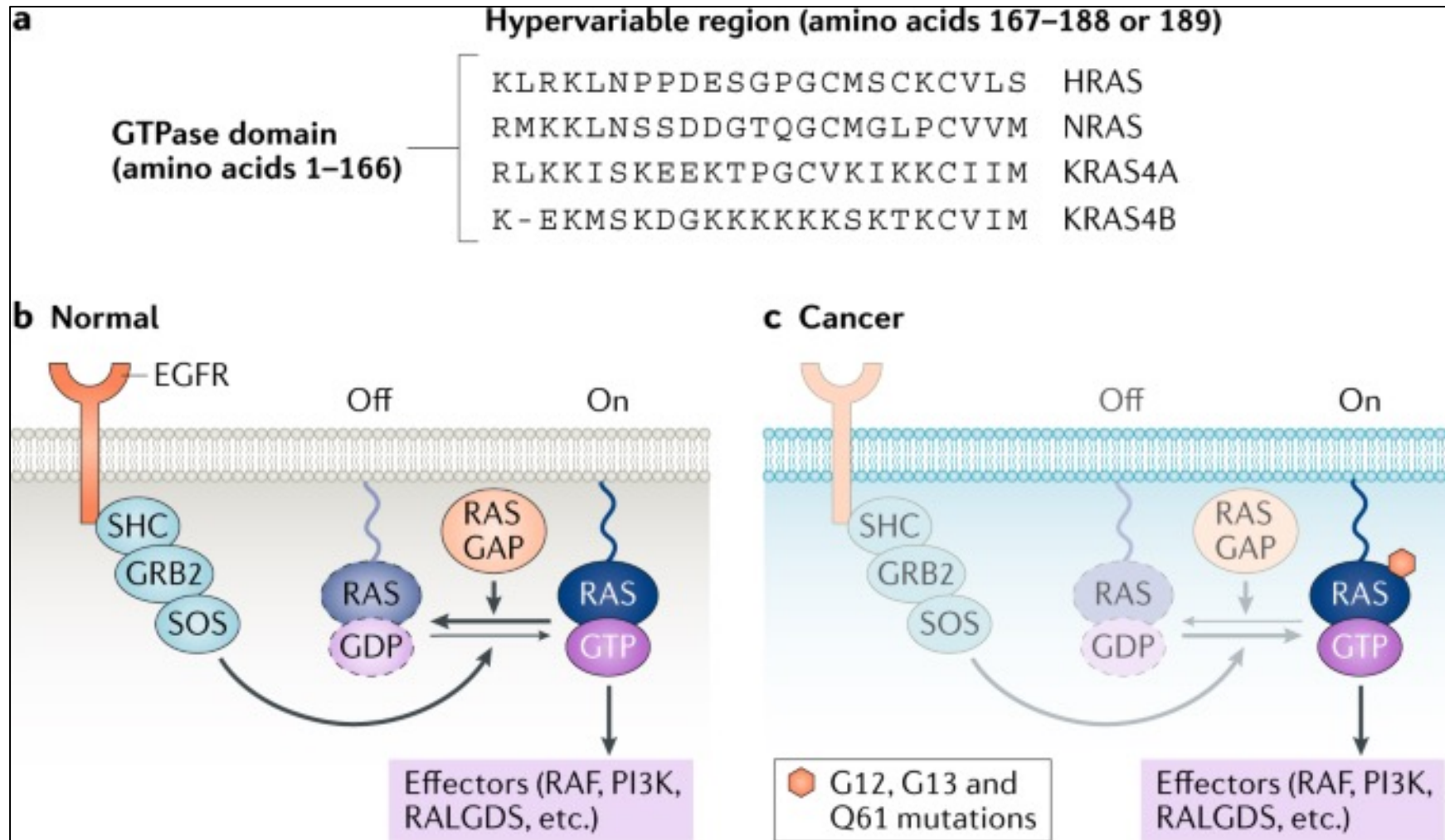


Before treatment 15 weeks post treatment 22 weeks post treatment

BRAF inhibitor resistance

- I. rapid reactivation of ERK signalling, due to **relief of negative feedback mechanisms**, that results in adaptive (re)activation of RTK signalling, RAS activation and RAF dimerization, **or**
- II. through genetic alterations such as **NRAS mutations, BRAF amplification and expression of BRAF splice variants** that promote RAF dimer formation

RAS μεταλλάξεις στους καρκίνους



<https://www.nature.com/articles/s41568-018-0076-6>

MORE THAN
30%

OF ALL HUMAN CANCERS
ARE DRIVEN BY MUTATIONS OF

RAS GENES

RAS MUTATIONS

IN HUMAN CANCERS

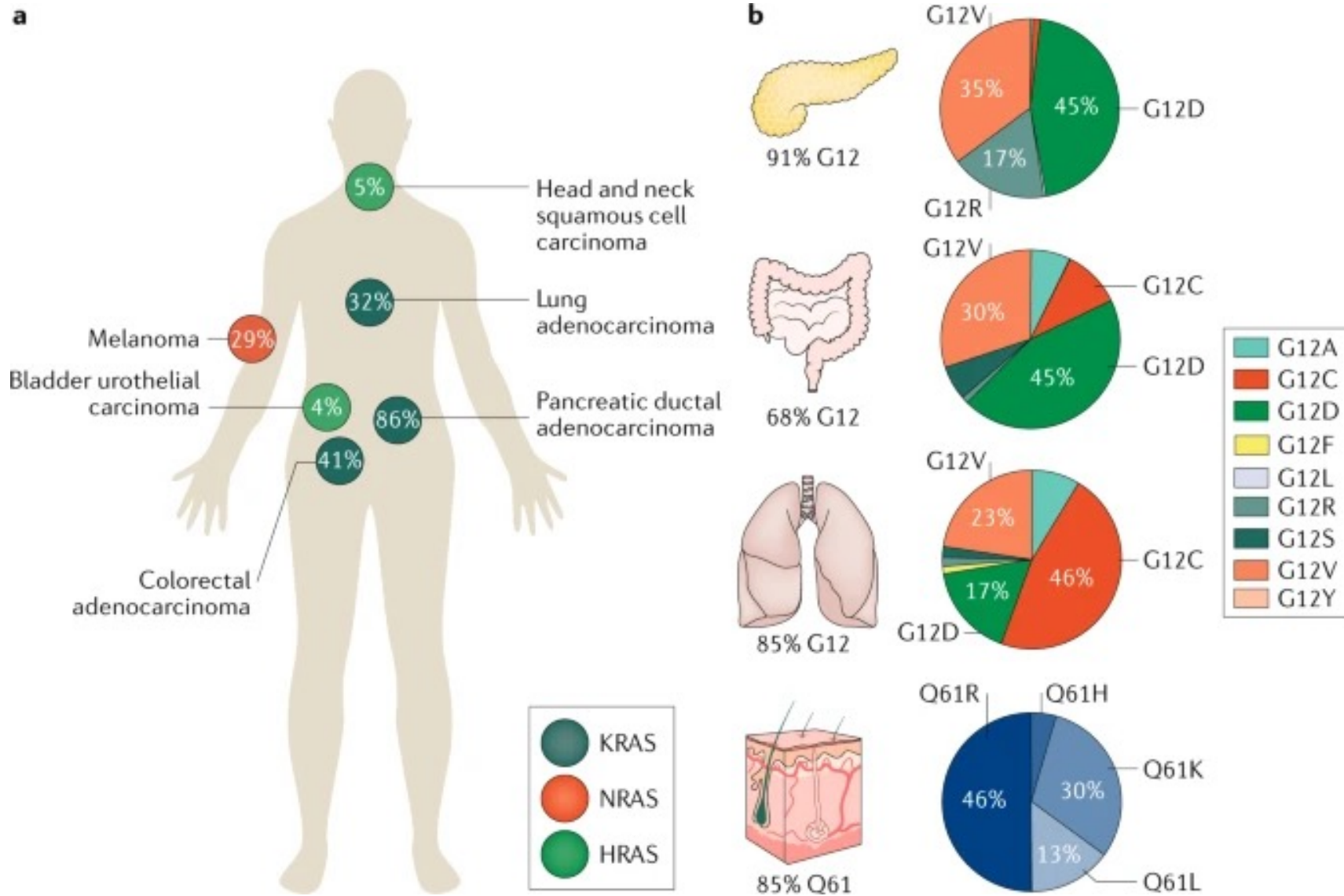
	PANCREAS – KRAS	95%
	COLORECTAL – KRAS	45%
	LUNG – KRAS	35%
	AML – NRAS	15%
	MELANOMA – NRAS	15%
	BLADDER CANCER – HRAS	10%

"RAS ONCOGENES ARE
THE **WORST** ONCOGENES."

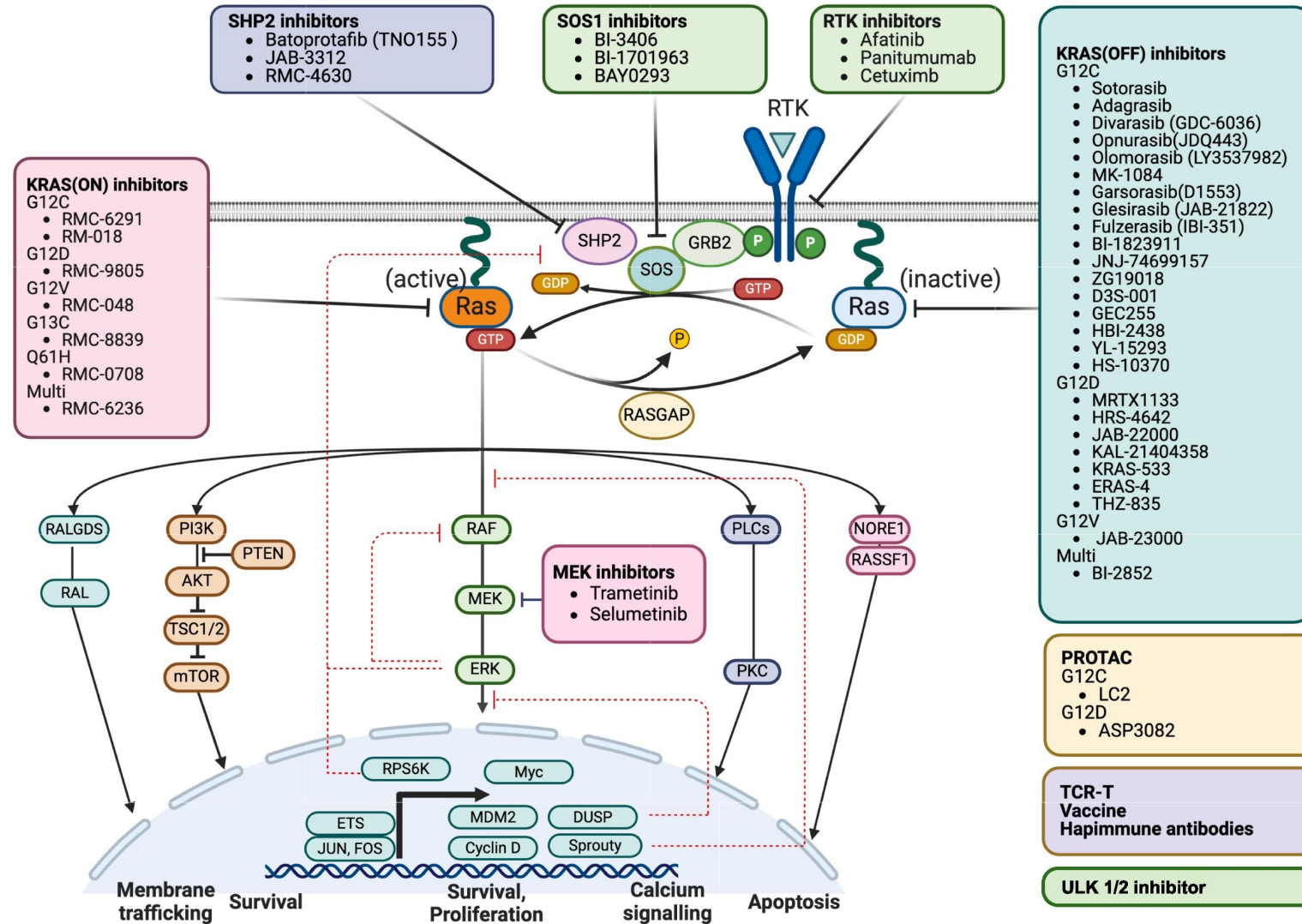
– Dr. Frank McCormick,
RAS National Program Advisor

source: NCI-the ras initiatives

Συχνότητα και κατανομή των μεταλλάξεων RAS στους ανθρώπινους καρκίνους

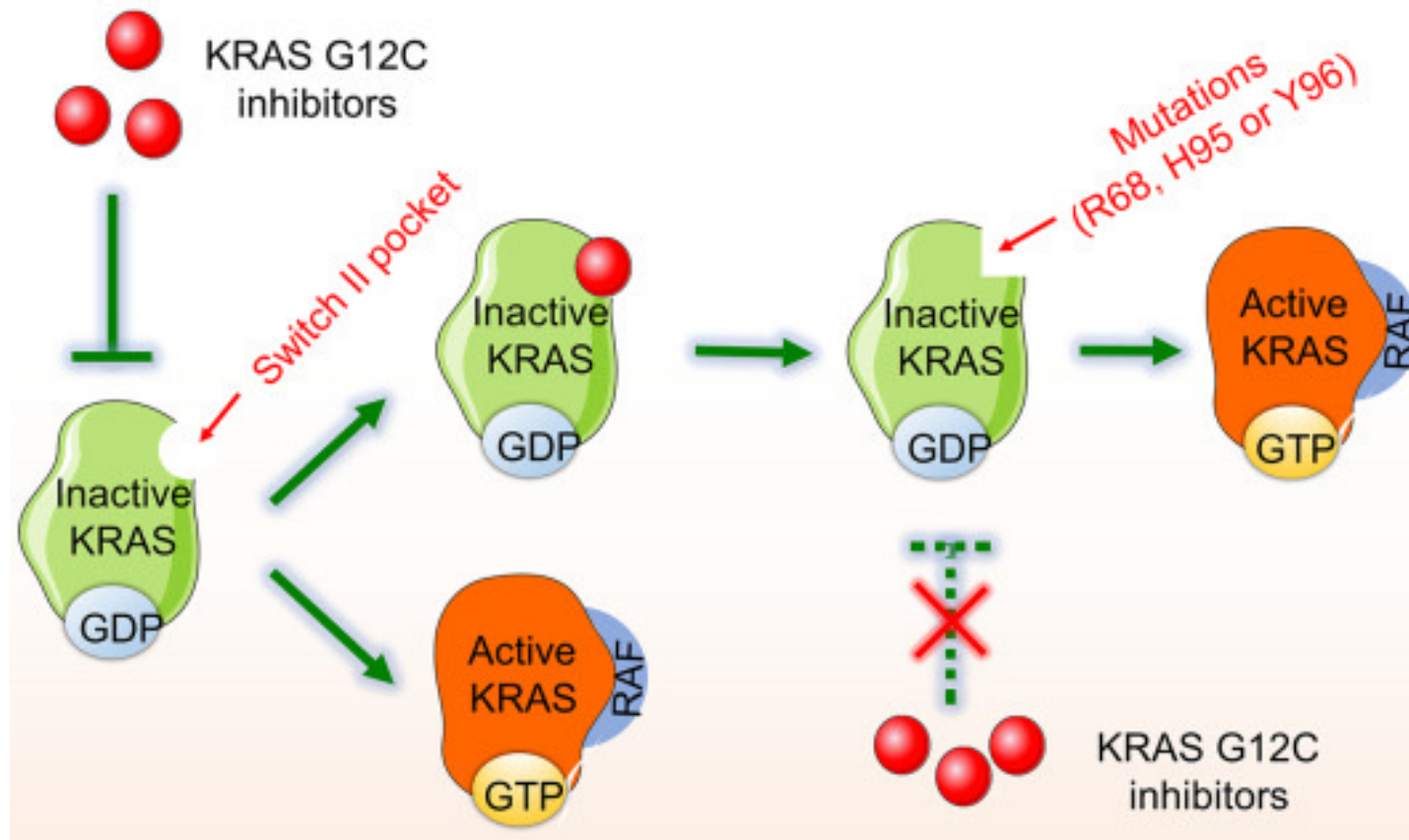


Αναστολείς της RAS



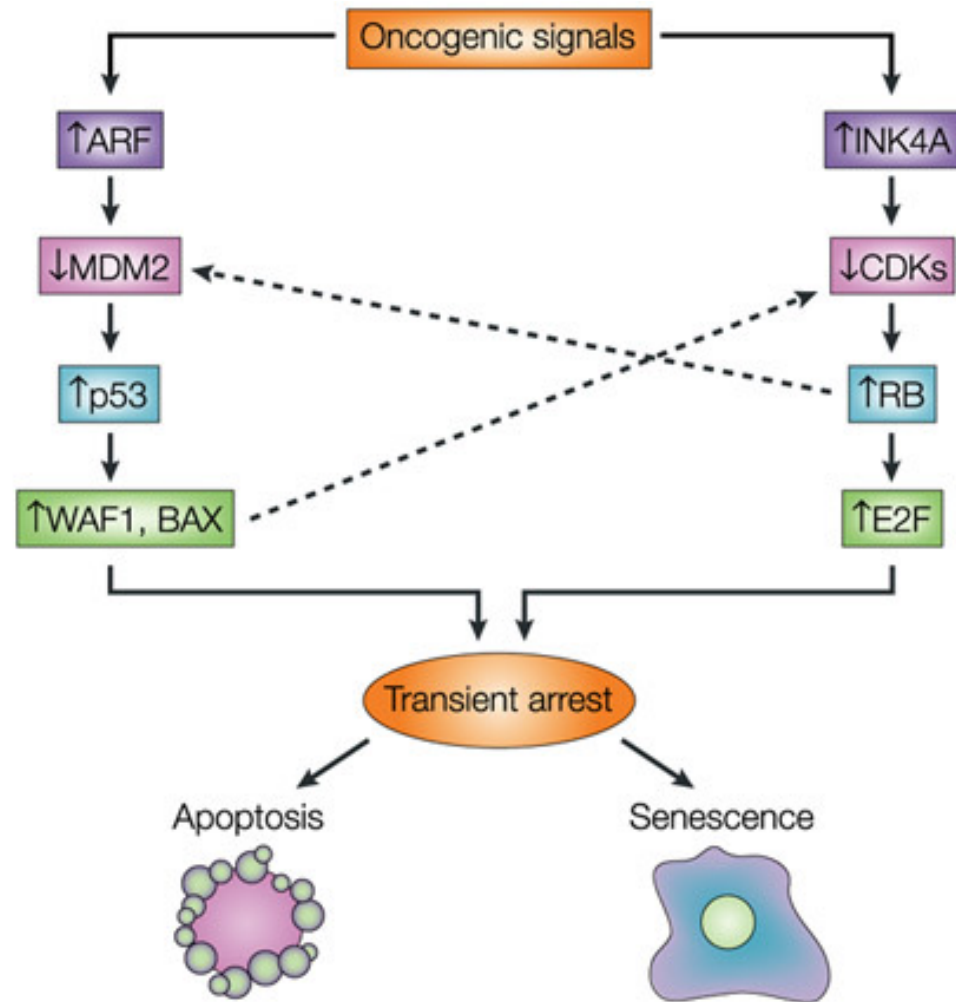
<https://www.lungcancerjournal.info/article/S0169-5002%2824%2900420-3/fulltext>

Resistance is all around again...



<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725821002527>

Ογκοκατασταλτικά γονίδια



Ογκοκατασταλτικά γονίδια: *RB1*

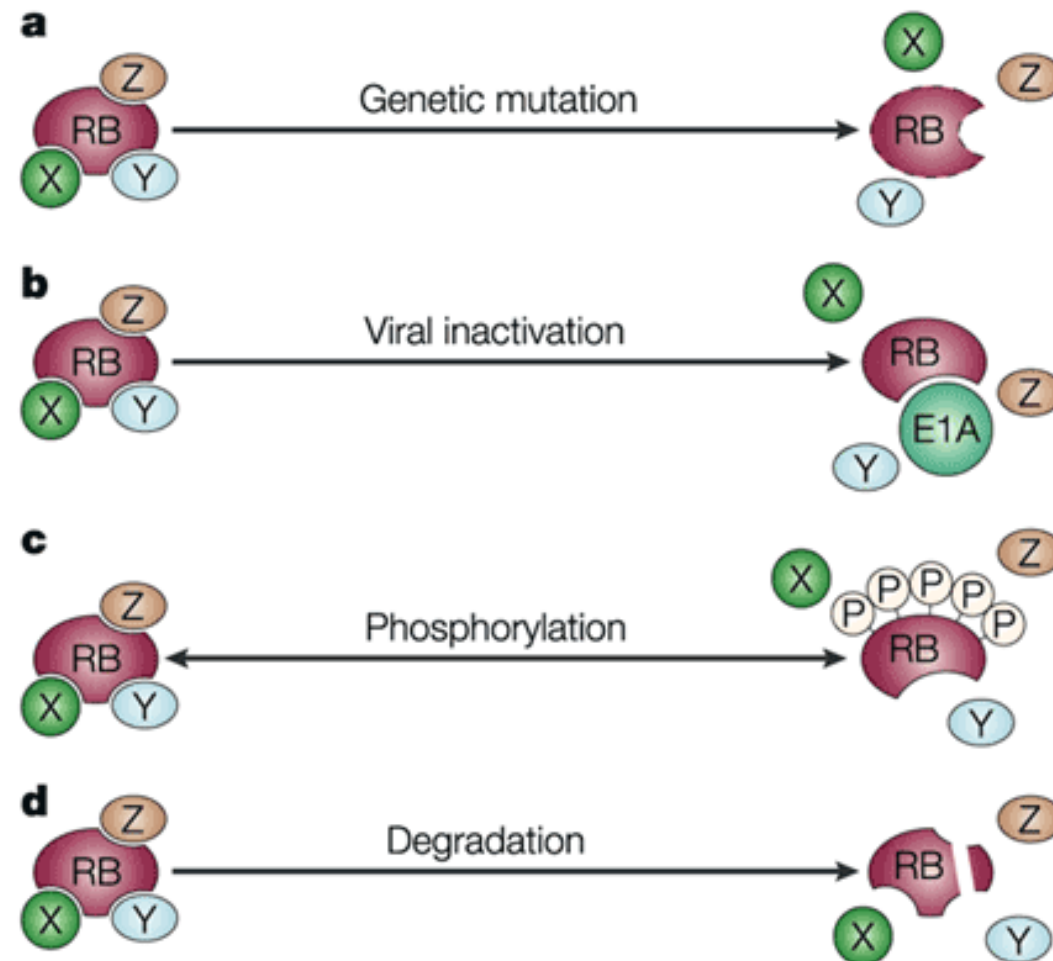
RB1 – το γονίδιο αυτό εμπλέκεται στον σχηματισμό του ρετινοβλαστώματος, ενός κακοήθους όγκου στους νευροβλάστες του αμφιβληστροειδούς (=πρόδρομα κύτταρα των φωτουποδεκτικών κυττάρων). Εμφανίζει μερική κληρονομικότητα

Η λειτουργία του γονιδιακού προϊόντος *RB1*:

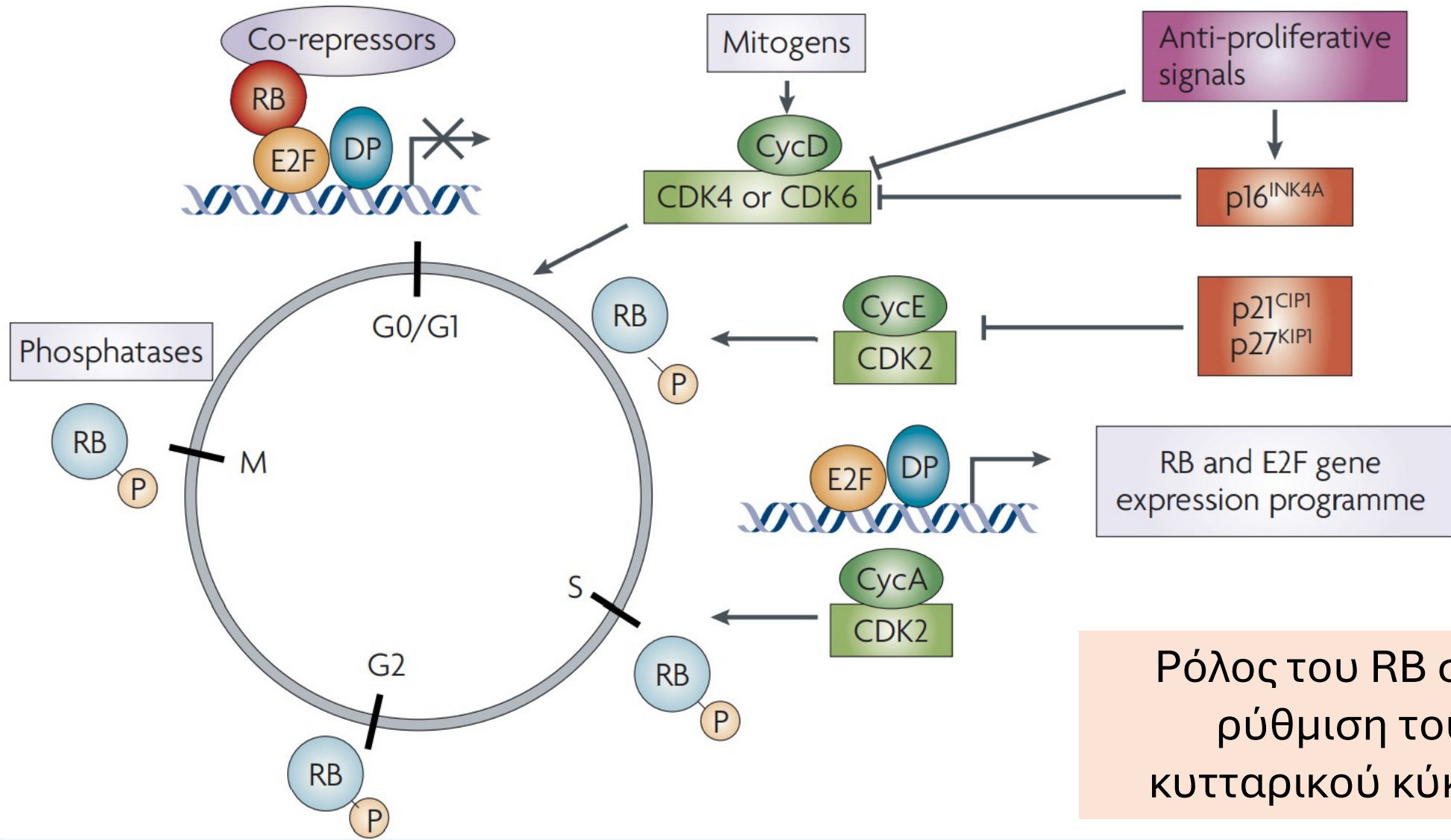
- Η πρωτεΐνη pRB εκφράζεται σε πολλά κύτταρα
- Ρυθμίζει τον κυτταρικό κύκλο
- Δεσμεύεται και απενεργοποιεί ιϊκές πρωτεΐνες

<https://www.nature.com/scitable/topicpage/tumor-suppressor-ts-genes-and-the-two-887/#>

Mechanisms of RB inactivation

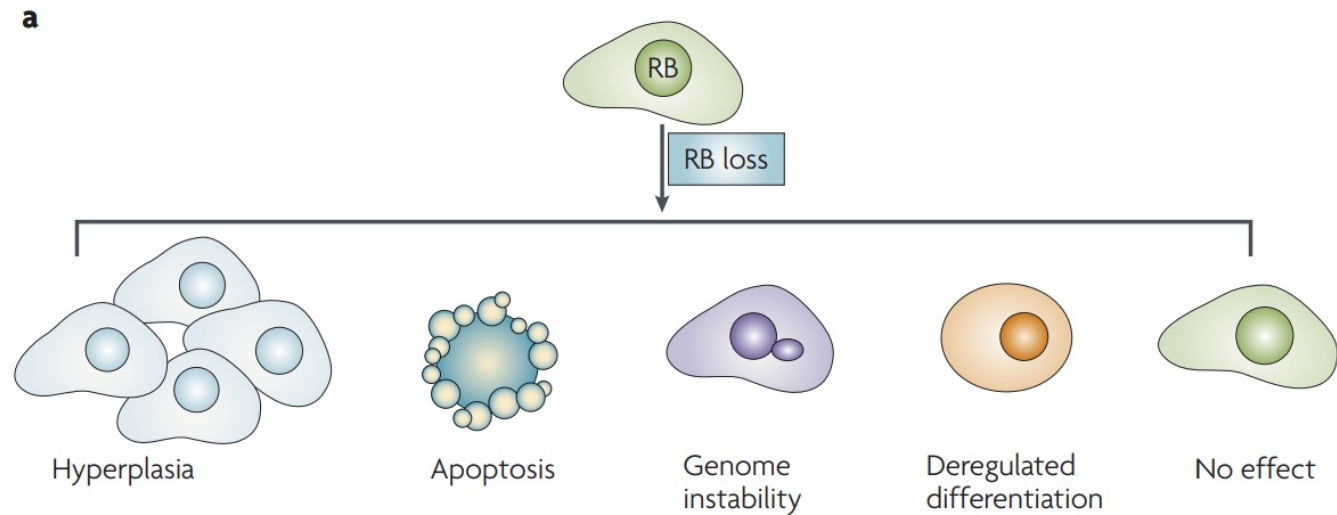


Ογκοκατασταλτικά γονίδια: *RB1*

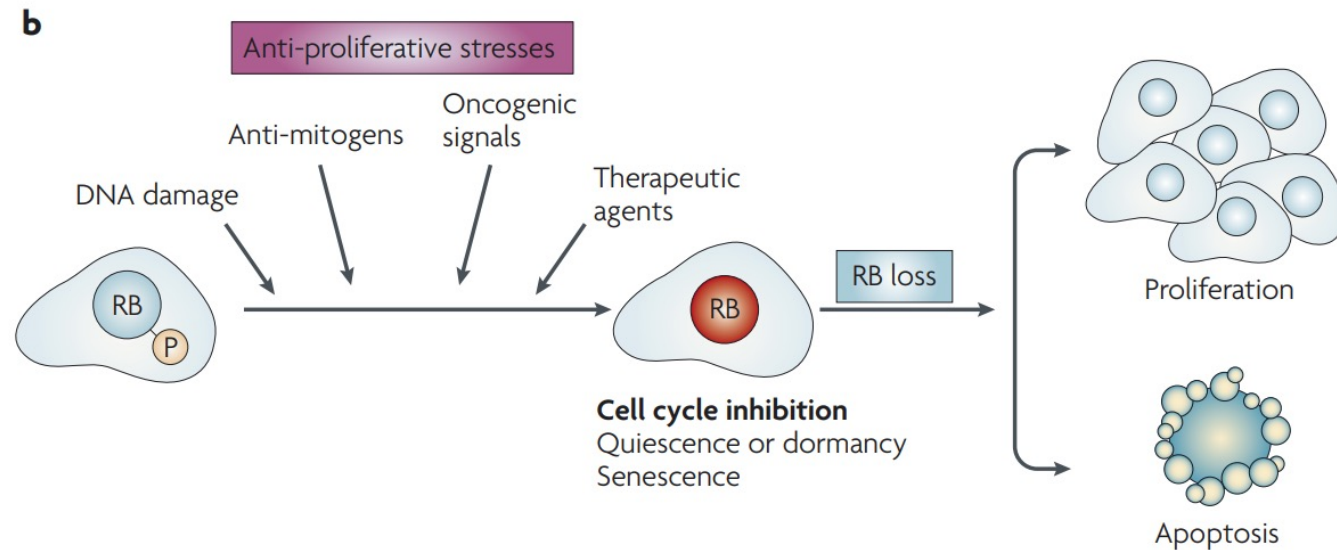


Ογκοκατασταλτικά γονίδια: *PTEN*

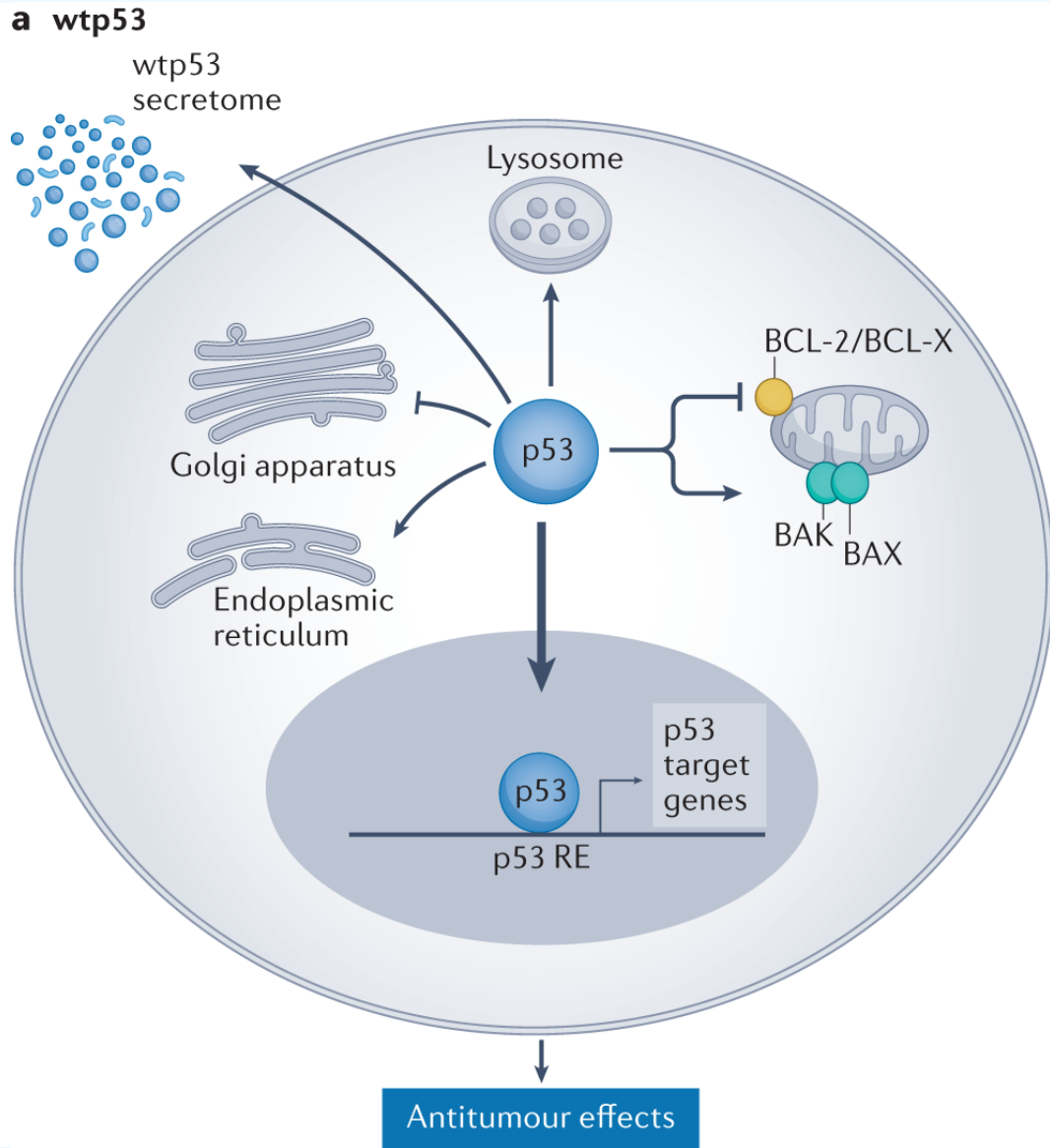
Απώλεια του RB



Αποφωσφορυλίωση και ενεργοποίηση του RB



Ογκοκατασταλτικές δράσεις της wild-type p53 (wtp53)



Μεταγραφική δράση

- Δράση ως μεταγραφικός παράγοντας για τον περιορισμό του πολλαπλασιασμού και της επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων

Μη μεταγραφική δράση

- Επαγωγή της μιτοχονδριακής απόπτωσης μέσω αλληλεπίδρασης με μέλη της οικογένειας των BCL-2 αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών (όπως BCL-2 και BCL-X), απελευθερώνοντας τη δραστηριότητα προ-αποπτωτικών πρωτεϊνών BAK και BAX
- Το wtp53 μπορεί επίσης να αυξήσει το φορτίο Ca^{2+} μετά από το στρες, επάγοντας την απόπτωσης
- Επιπλέον, το wtp53 είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της αυτοφαγίας

Hassin, O., Nat Rev Drug Discov 22, 127–144 (2023)

Ογκογενετικές δράσεις της μεταλλαγμένης p53 (mutp53)

Μεταγραφική δράση

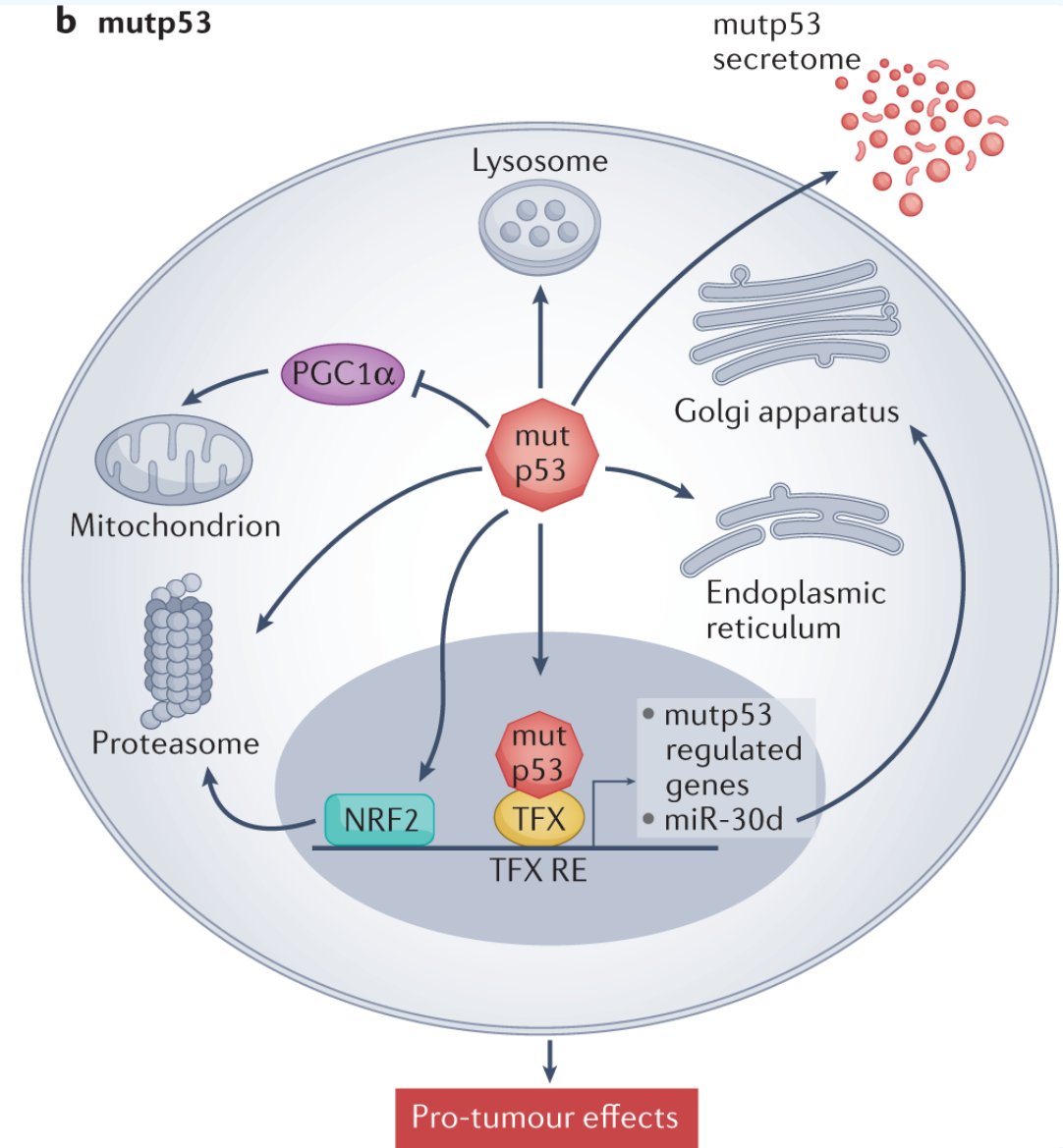
- Μέσω αλληλεπίδρασης με άλλους μεταγραφικούς παράγοντες (TFX)
- Μεταγραφική ενεργοποίηση πρωτεασώματος μέσω δέσμευσης στον μεταγραφικό παράγοντα NRF2 -> πρωτεόλυση ογκοκατασταλτικών πρωτεϊνών

Μη μεταγραφική δράση

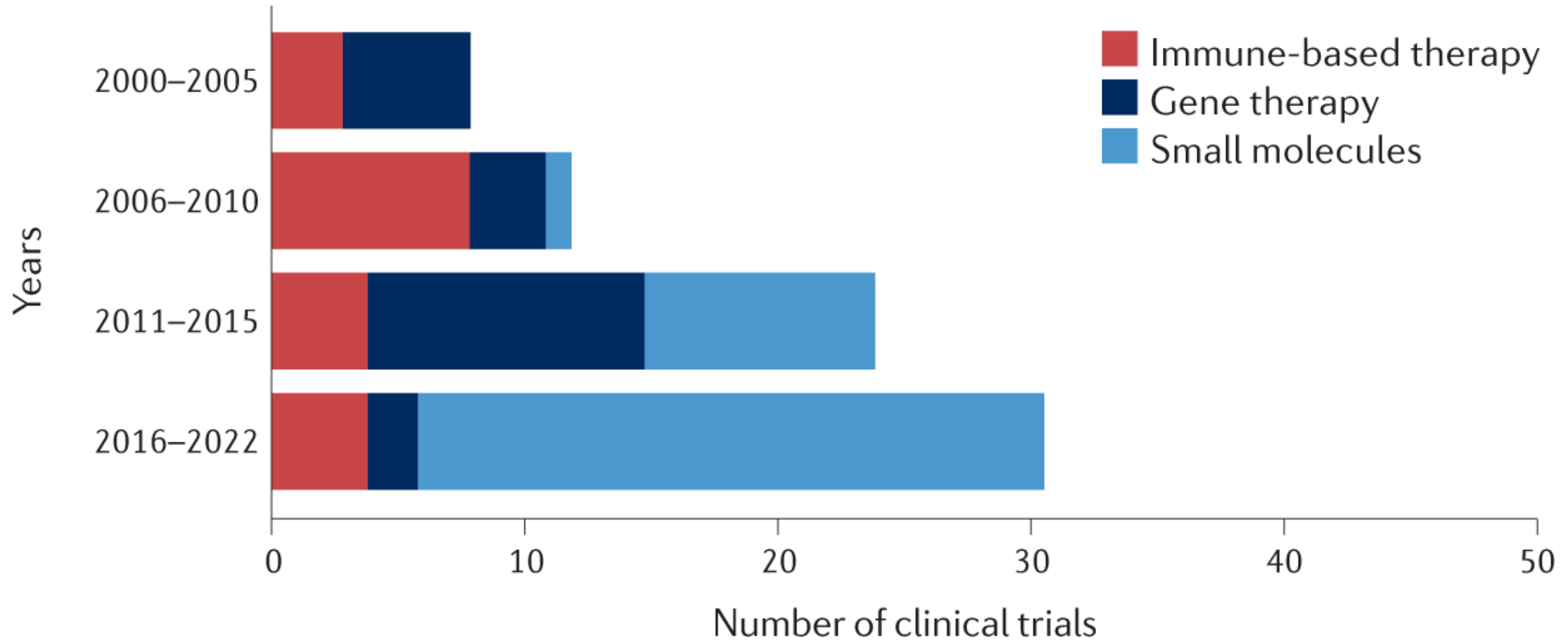
- Αναστολή του υποδοχέα PGC1α (βασικός ρυθμιστής της μιτοχονδριακής βιογένεσης και της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης)
- Αναστολή του στρες του ΕΔ (ER stress)
- Έκκριση διαφόρων μορίων μέσω επαγωγής του microRNA miR-30d και αλληλεπίδρασης με τον HIF1α

[Hassin, O., Nat Rev Drug Discov 22, 127–144 \(2023\)](#)

b mutp53



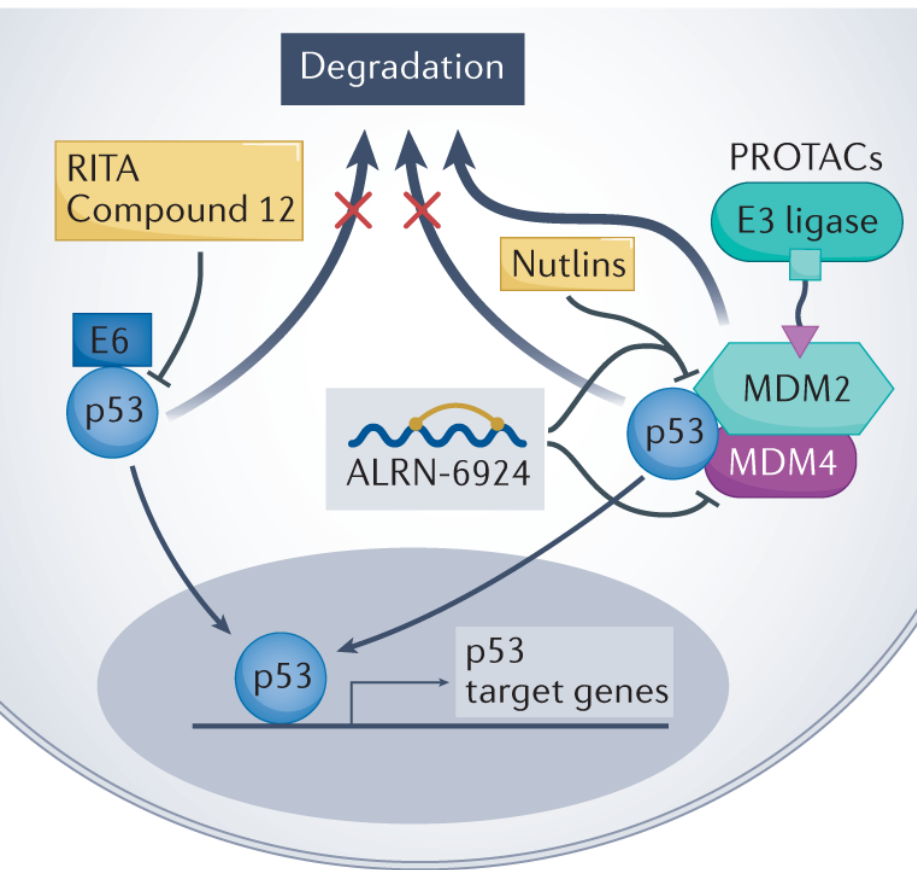
Κλινικές δοκιμές που στοχεύουν το p53



[Hassin, O., Nat Rev Drug Discov 22, 127-144 \(2023\)](#)

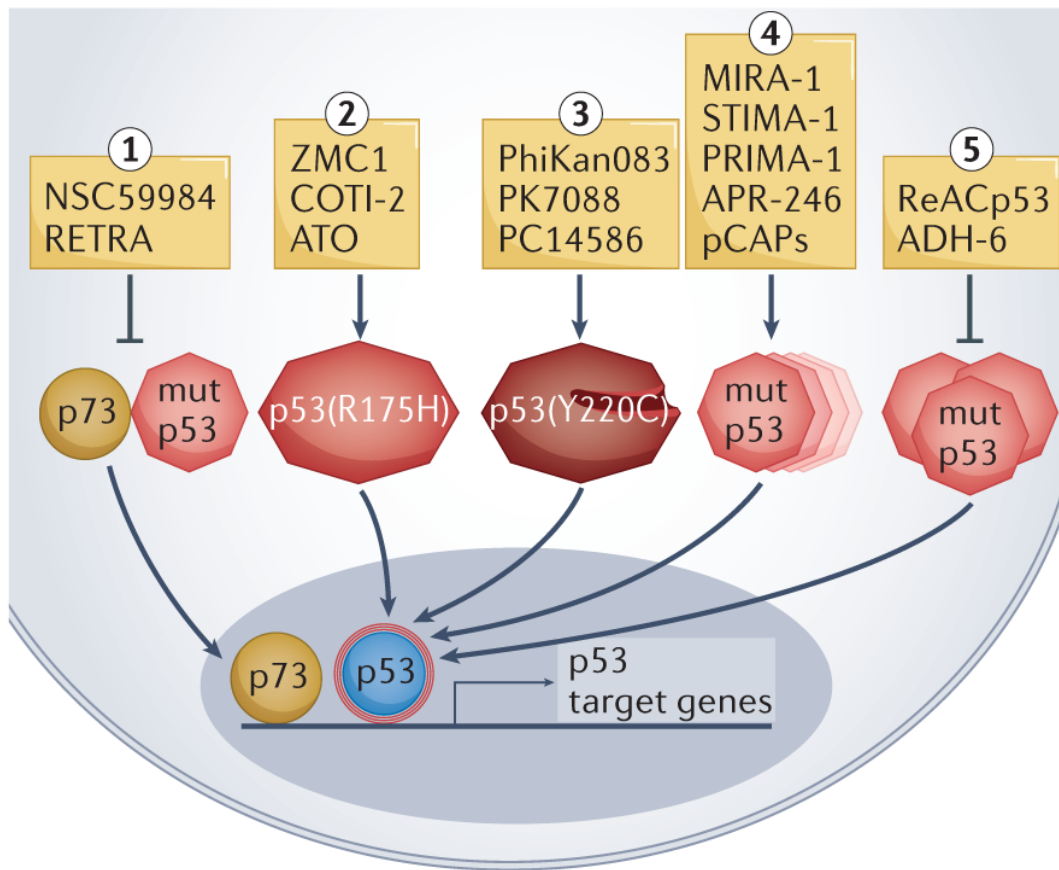
p53-based small molecules for cancer therapy

a wtp53



Αναστολή ή αποδόμηση των αρνητικών ρυθμιστών του p53 (like MDM2/4, HPV E6)

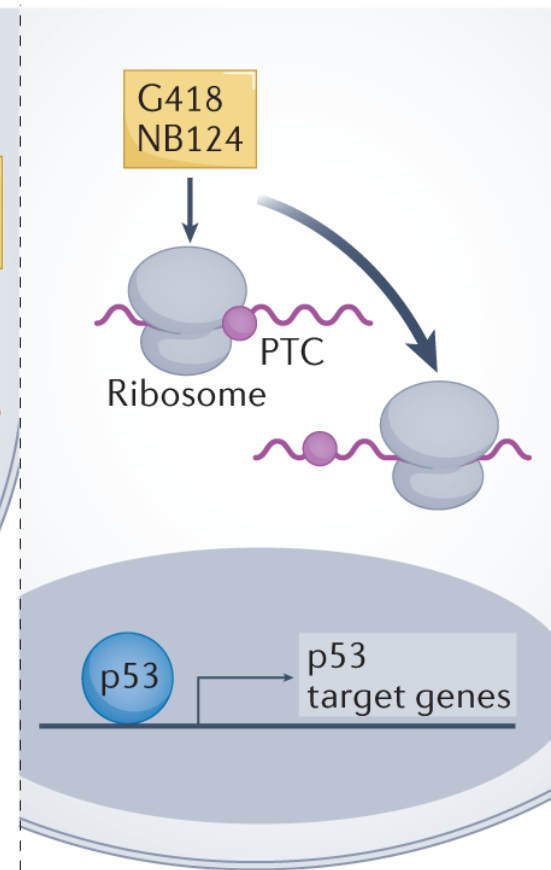
b mutp53



Ανάκτηση της wt p53 διαμόρφωσης και/ή αναστολή της GOF ενεργότητας του mut p53 (like p73)

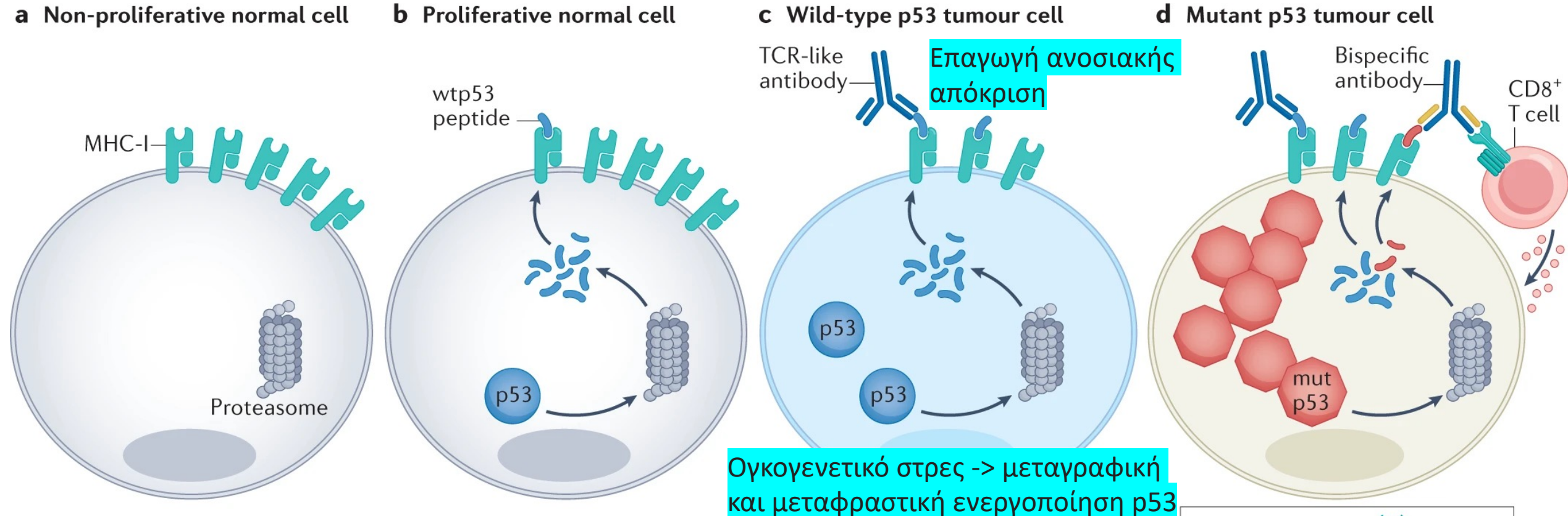
[Hassin, O., Nat Rev Drug Discov 22, 127–144 \(2023\)](#)

c Truncated p53



Αναστολή της πρώιμης λήξης λόγω μεταλλαγών που παράγουν κολοβές μορφές του p53

New antibody-based strategies to target p53 in cancer cells



- TP53 αποσιωπημένο
- Μη παραγωγή p53
- Μη παρουσίαση πεπτιδίων του p53 στα μόρια MHC-I

- Μικρή παραγωγή p53
- Παρουσίαση μικρής ποσότητας πεπτιδίων wt-p53

Ογκογενετικό στρες -> μεταγραφική και μεταφραστική ενεργοποίηση p53

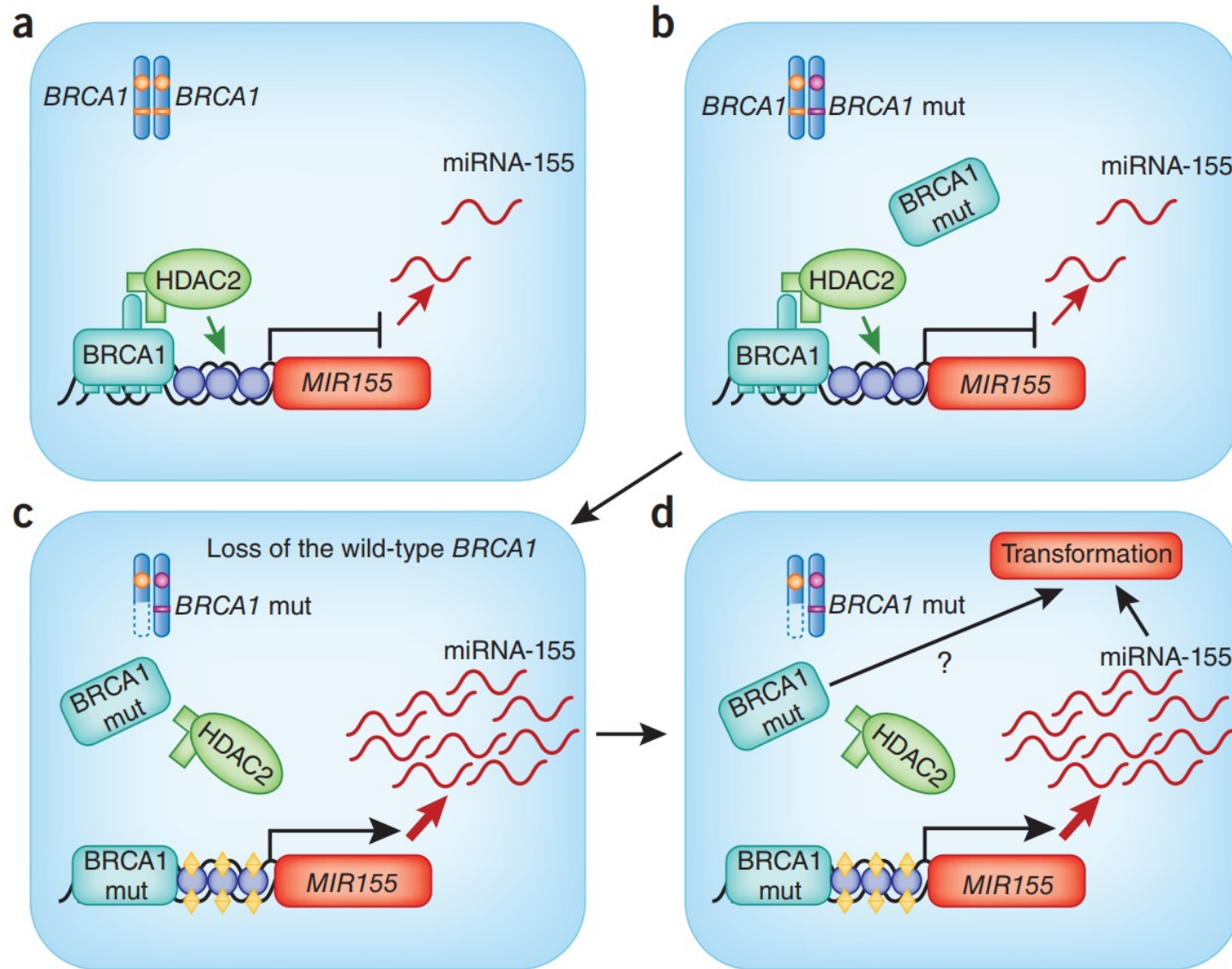
- Μεγάλη παραγωγή wt-p53
- Παρουσίαση μικρής ποσότητας πεπτιδίων p53

■ Mutant p53 peptide
 ■ TCR-CD3 complex

Hassin, O., Nat Rev Drug Discov 22, 127–144 (2023)

Επιγενετικός μηχανισμός δράσης του *BRCA1*

- Δημιουργία wtBRCA1-HDAC2 συμπλόκου με την HDAC2 (αποακετυλάση)
- δέσμευση στον υποκινητή του *MIRNA155*
- Μείωση της ακετυλίωσης ιστονών
- Ελαττωμένη έκφραση του miRNA-155
- Μη σχηματισμός συμπλόκου
- Αύξηση ακετυλίωσης
- Αύξηση έκφρασης miRNA-155

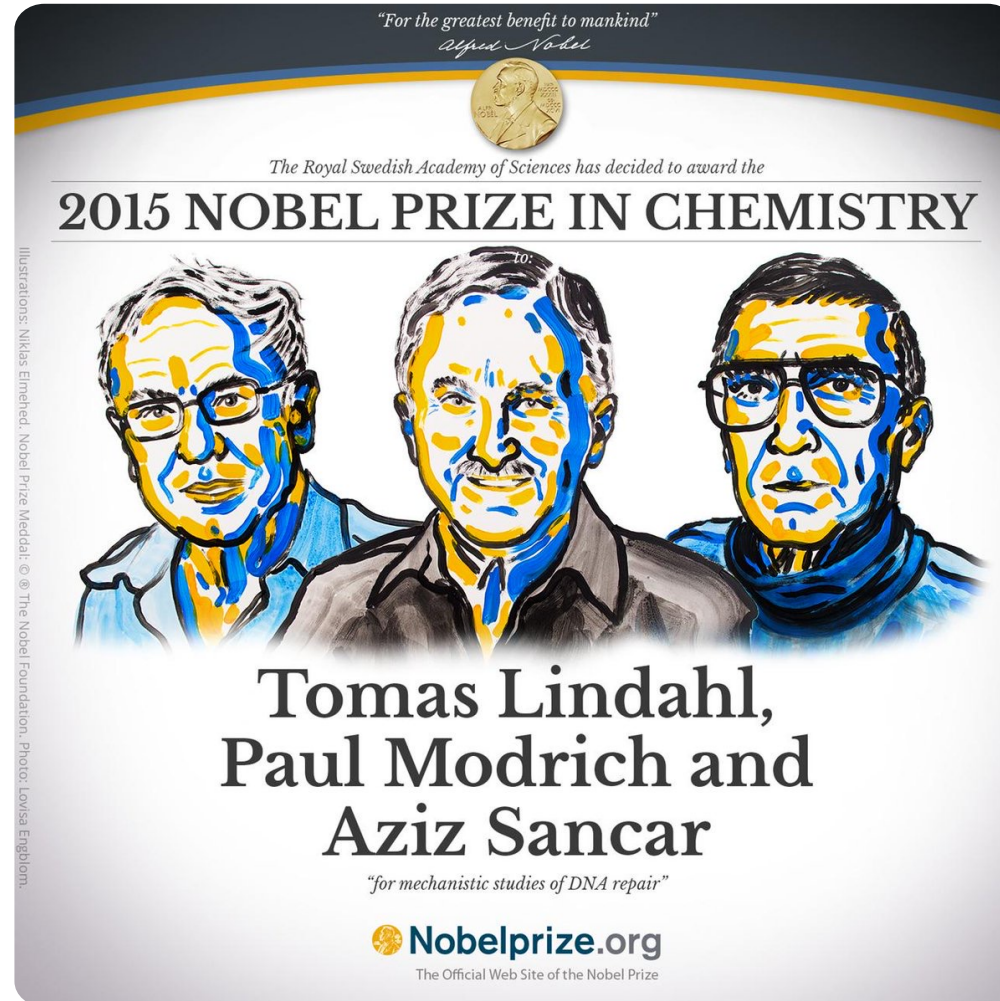


- Ένα αλληλόμορφο wtBRCA1 είναι αρκετό να κρατήσει σε έλεγχο τα επίπεδα του miRNA-155
- Δράση miRNA-155 σε καθοδικούς στόχους
- Μετασχηματισμός και ανάπτυξη όγκου

Μηχανισμοί επιδιόρθωσης του DNA - Βραβείο Νόμπελ Χημείας 2015

Οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης του DNA παρέχουν την απαραίτητη χημική σταθερότητα για την διατήρηση της ζωής

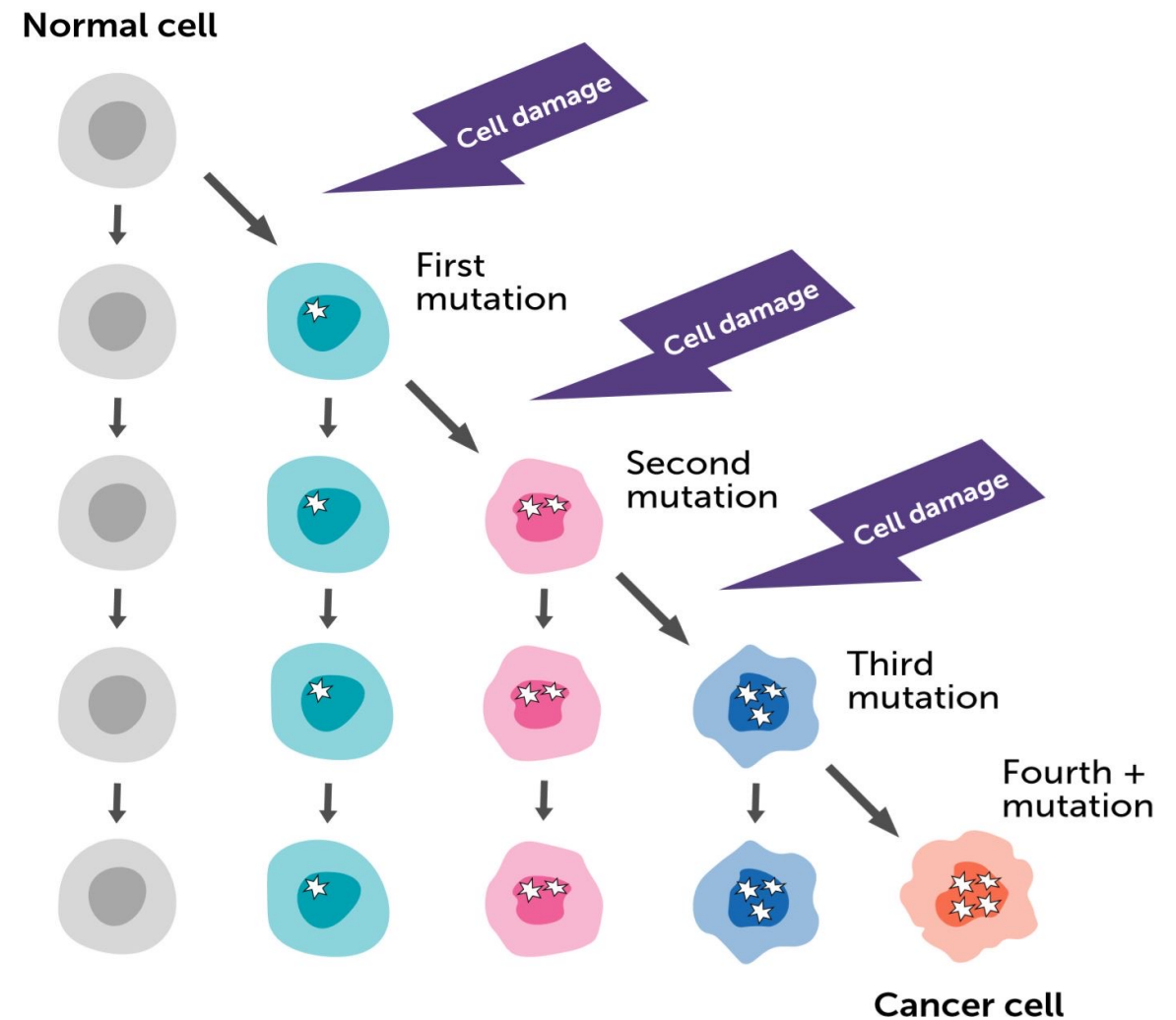
[The Nobel Prize in Chemistry 2015.](#)
[Popular information. NobelPrize.org](#)



...Χαρτογράφηση και εξήγηση των κυτταρικών μηχανισμών επιδιόρθωσης και επιτήρησης της γενετικής πληροφορίας

Significance of DNA repair

- Consider the effects of unrepaired DNA damage...
- If replicated and transmitted to future cell generations, it becomes permanent → mutation (substitution, insertion, deletion, silent)
- In mammals, strong correlation between accumulation of mutations and cancer



Adapted from "Understanding Gene Testing" - NIH 1995

Significance of DNA repair

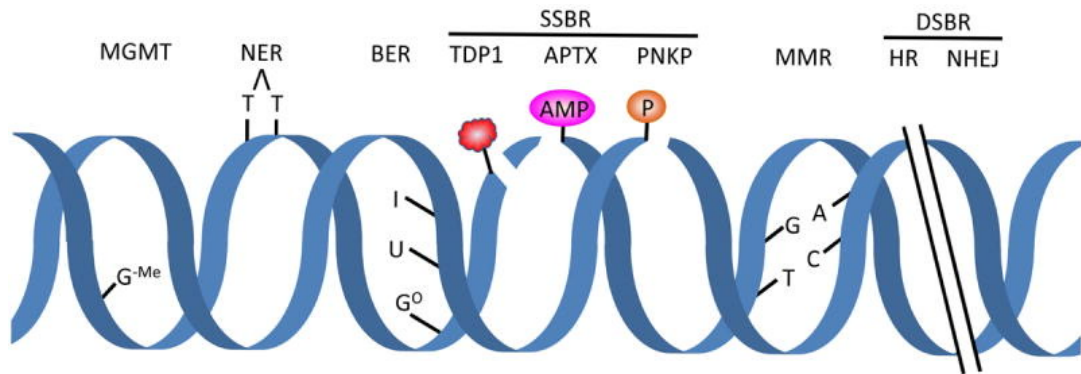
- During a 24-hour period, the mammalian cell genome accumulates many thousands of lesions
- DNA repair makes sure that $<1/1000$ becomes a mutation
- If DNA repair systems were absent, life would be **impossible!**
- Number & diversity of DNA repair systems reflects both importance of DNA repair to cell survival and diverse sources of DNA damage

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ

ΑΜΕΣΗ ΚΑΙ ΕΜΜΕΣΗ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ

ΑΜΕΣΗ	ΕΜΜΕΣΗ
Φωτολύαση- διμερών T-T στα φυτά	Εκτομή βάσης BER
O ⁶ -μεθυλογουανινο μεθυλοτρανσφεράση (MGMT)	Εκτομή Νουκλεοτιδίου NER
Επιδιόρθωση κατά την αντιγραφή 3'-5	Αταίριαστος Συνδυασμός MMR
	Ομόλογος Ανασυνδυασμός

DNA repair systems



ΑΜΕΣΗ	ΕΜΜΕΣΗ
Φωτολύαση- διμερών T-T στα φυτά	Εκτομή βάσης BER
O ⁶ -μεθυλογουανινο μεθυλοτρασφεράση (MGMT)	Εκτομή Νουκλεοτιδίου NER
Επιδιόρθωση κατά την αντιγραφή 3'-5	Αταίριαστος Συνδυασμός MMR
	Ομόλογος Ανασυνδυασμός

Μεταλλάξεις I

Τροποποιήσεις στη δομή του DNA που προκαλούν μόνιμες αλλαγές των γενετικών πληροφοριών καλούνται μεταλλάξεις

Μετάλλαξη (ή μεταλλαγή, mutation) είναι μια μόνιμη αλλαγή στην αλληλουχία του DNA ενός οργανισμού

Μεταλλάξεις στα σωματικά κύτταρα ΜΗ κληρονομήσιμες

Μεταλλάξεις στα γαμετικά κύτταρα = κληρονομήσιμες

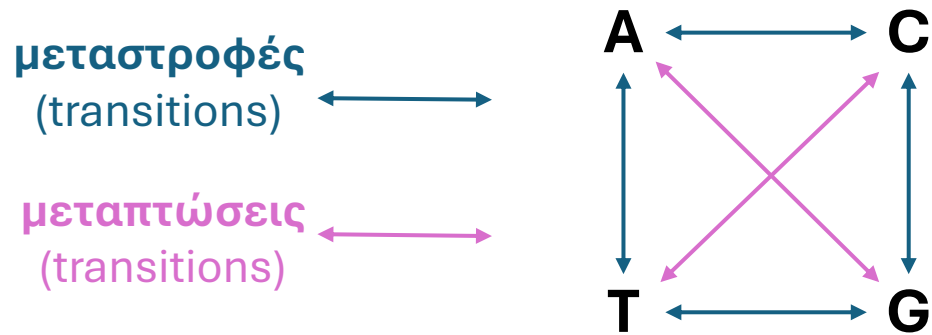
Προκύπτουν από:

- λάθη κατά την αντιγραφή του DNA
- έκθεση σε μεταλλαξιογόνα (χημικούς, φυσικούς και βιολογικούς παράγοντες) σφάλματα των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA



Μεταλλάξεις II

- **Μεταλλάξεις υποκατάστασης (substitution mutations):**
αντικατάσταση ενός ζεύγους βάσεων από ένα άλλο



- **Μεταλλάξεις ένθεσης ή απαλοιφής (insertion or deletion mutations):**
προσθήκη ή απαλοιφή ενός ή περισσότερων ζευγών βάσεων



- **Σιωπηρή μετάλλαξη (silent mutation):** μη επίπτωση στη λειτουργία ενός γονιδίου

Βλάβες στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης στον καρκίνο

Table 1. DNA damage response alterations in several cancers.

DDR Pathways	DDR Genes	Type of Alterations	Cancer Type	Reference
HR	<i>BRCA1</i>	c.190T>C (cysteine to arginine)	Breast cancer	Wang et al. [117]
	<i>BRCA2</i>	c.6408delA (deletion)		
	<i>BRCA1</i>	c.4837A>G (serine to glycine)	Ovarian cancer	
	<i>BRCA1</i> <i>BRCA2</i>	c.2612C>T (proline to leucine) c.677delC (deletion)	Esophagus cancer	
NHEJ	<i>Ku80</i>	Ku80 polymorphism G-1401T (SNP rs828907)	Oral, colon, gastric, breast, and bladder cancer	Sishe and Davis [100]
	<i>Ku70</i>	Ku70 C-61G polymorphism (SNP rs2267437)	Breast, prostate, and lung cancer	
BER	<i>POLE</i>	Missense mutation in <i>POLE</i> exonuclease domain	Endometrial cancer	Leon-Castillo et al. [110]
	<i>MUTYH</i>	G: C to T: A transversions mutation		Villy et al. [118]
NER	<i>ERCC2</i>	Somatic <i>ERCC2</i> missense mutation	Muscle-invasive bladder cancer	Mouw [115]
MMR	<i>MLH1</i>	Loss of <i>MLH1</i> , <i>MSH2</i> , and <i>MSH6</i> due to <i>MLH1</i> promoter hypermethylation	Ampullary and colon cancer	Ruemmele et al. [119]

Moon, J et al. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 4741. <https://doi.org/10.3390/ijms24054741>

- Αντιγραφή του DNA: ... Όχι 100 % ακριβής
...αρκετά σφάλματα σε κάθε κύκλο αντιγραφής

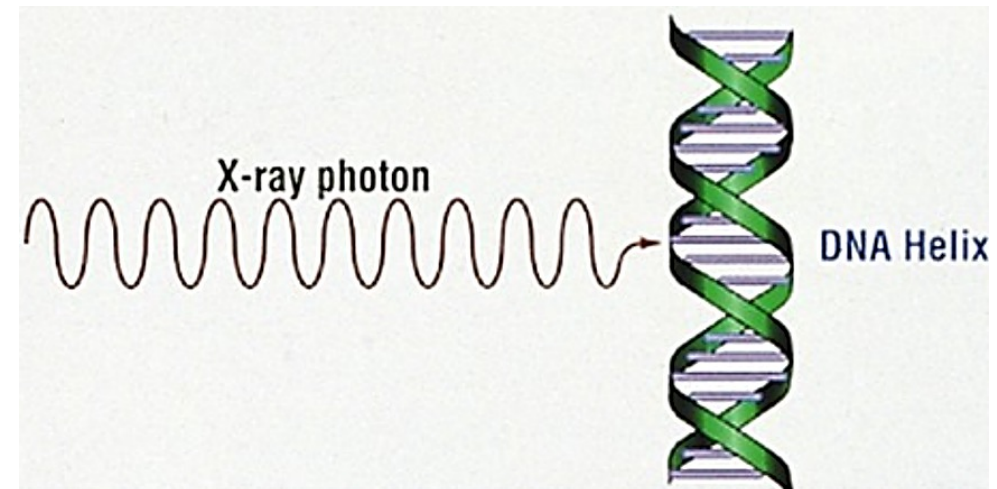
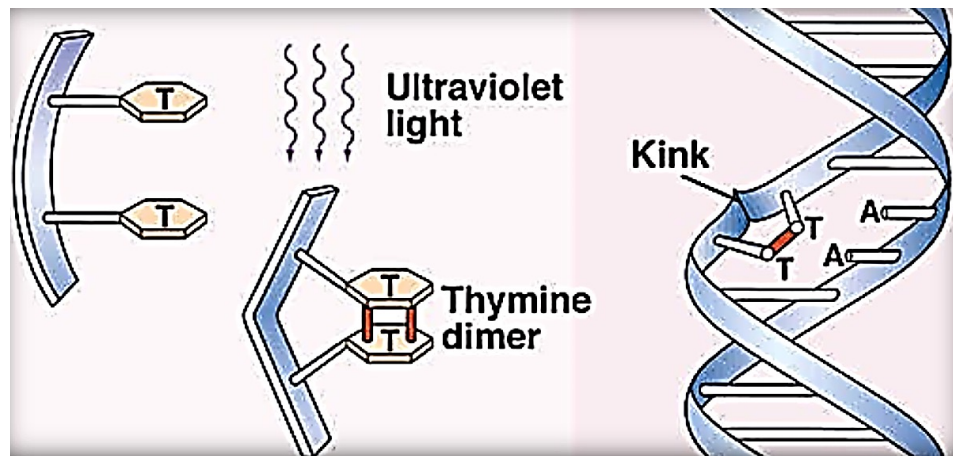
ΑΙΤΙΑ: Χημικοί και φυσικοί παράγοντες: Π.χ. είδη δραστικού οξυγόνου, χημικές ενώσεις στα τρόφιμα/περιβάλλον, ακτινοβολία

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΗ Η ΣΥΝΕΧΗΣ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΤΟΥ DNA:

- Άμεση επιδιόρθωση ή απομάκρυνση
- Η συσσώρευση των μεταλλαγών μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο, γήρανση και καρκίνο

ΒΛΑΒΕΣ ΣΤΟ DNA

- ❑ Η **υπεριώδης ακτινοβολία** (φως ηλίου ή λάμπες μαυρίσματος) συνδέει ομοιοπολικά παρακείμενες πυριμιδίνες κατά μήκος ενός κλώνου του DNA για να σχηματίσει cis-syn κυκλο-βουτανικά πυριμιδινικά διμερή
- ❑ Η **ιονίζουσα ακτινοβολία**, συμπεριλαμβανομένων των ακτίνων X και της ραδιενεργού διάσπασης, δημιουργεί ρήξεις κλώνων και παράγει δραστικά είδη οξυγόνου που βλάπτουν το DNA



ΒΛΑΒΕΣ ΣΤΟ DNA

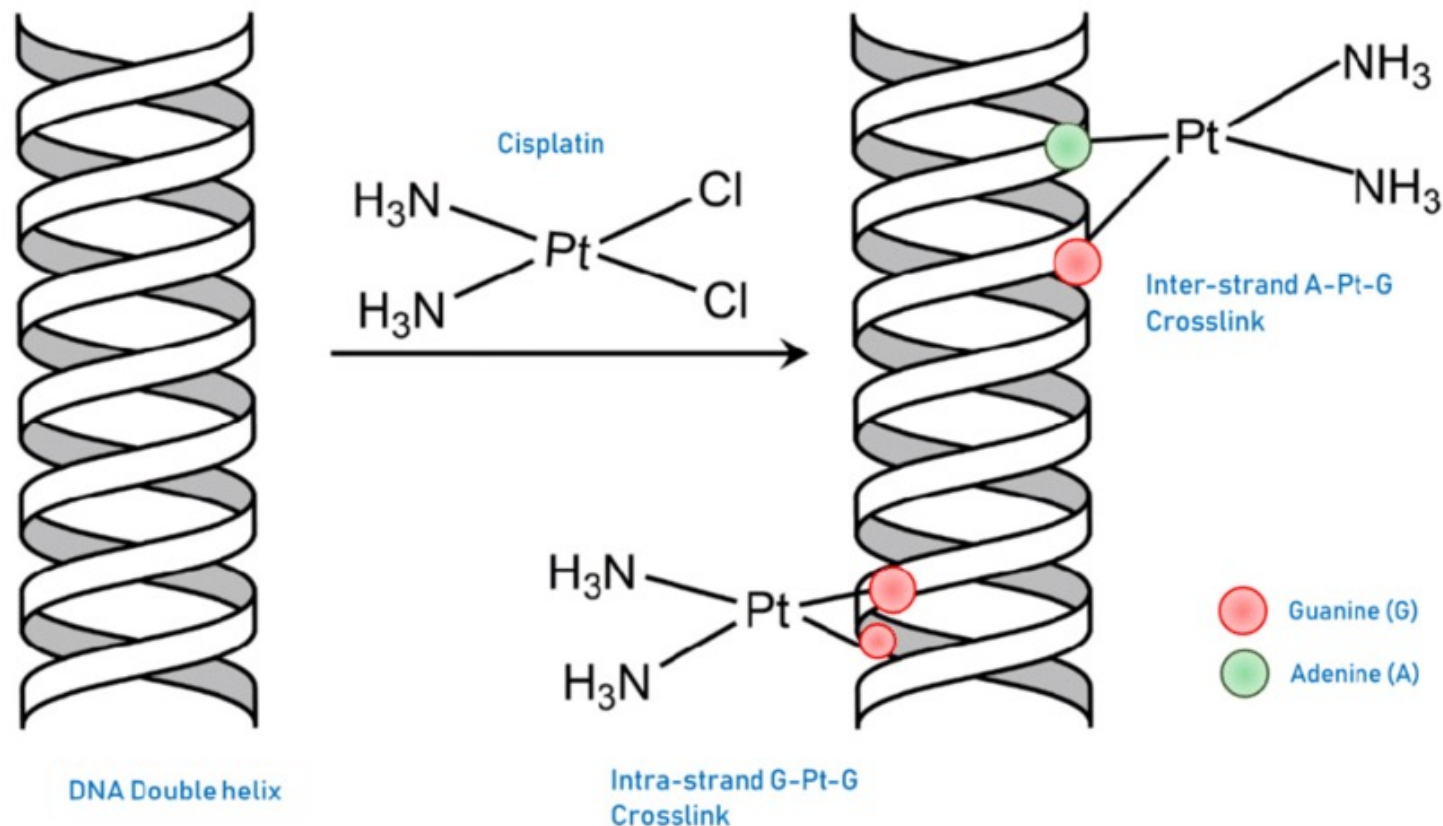
- Τα καρκινογόνα και μεταλλαξιγόνα επιτίθενται στο DNA. Μερικά ενεργούν άμεσα, ενώ άλλα είναι προκαρκινογόνα.
- **ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ:** Τα προκαρκινογόνα στην φυσική τους μορφή δε βλάπτουν το DNA, αλλά μπορεί να ενεργοποιηθούν από μεταβολικές διαδικασίες (π.χ. να οξειδωθούν από το κυτόχρωμα P450s) και να μετατραπούν σε καρκινογόνα που είναι επιβλαβή για το DNA.

- **ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΕΠΙΤΙΘΕΝΤΑΙ ΣΤΟ DNA:**
αλκυλίωση των βάσεων ή συνδέουν σταυρωτά τους κλώνους
- Ευρέως χρησιμοποιούμενα φάρμακα: Αλκυλιωτικοί παράγοντες, δημιουργούν σταυροειδείς δεσμούς μέσα στον κλώνο και ανάμεσα στους κλώνους- όχι μόνο κυτταροτοξικοί αλλά και μεταλλαξιογόνοι: δευτερογενείς καρκίνους

ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΕΠΙΤΙΘΕΝΤΑΙ ΣΤΟ DNA

- **Σισπλατίνη:** καρκίνοι όρχεων και ωοθηκών
- **Μηχανισμός:** Η σισπλατίνη αντιδρά με το DNA, τα προσδέματα χλωρίου μετατοπίζονται από άτομα αζώτου πουρινών: σοβαρό τύλιγμα στη δομή του DNA: εμπόδιο στην αντιγραφή και μεταγραφή
- **Θεραπεία:** προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος
- Όχι ειδική για τα καρκινικά κύτταρα - πολλά φυσιολογικά πεθαίνουν

Σισπλατίνη αλλάζει τη δομή του DNA- κυτταρικό θάνατο

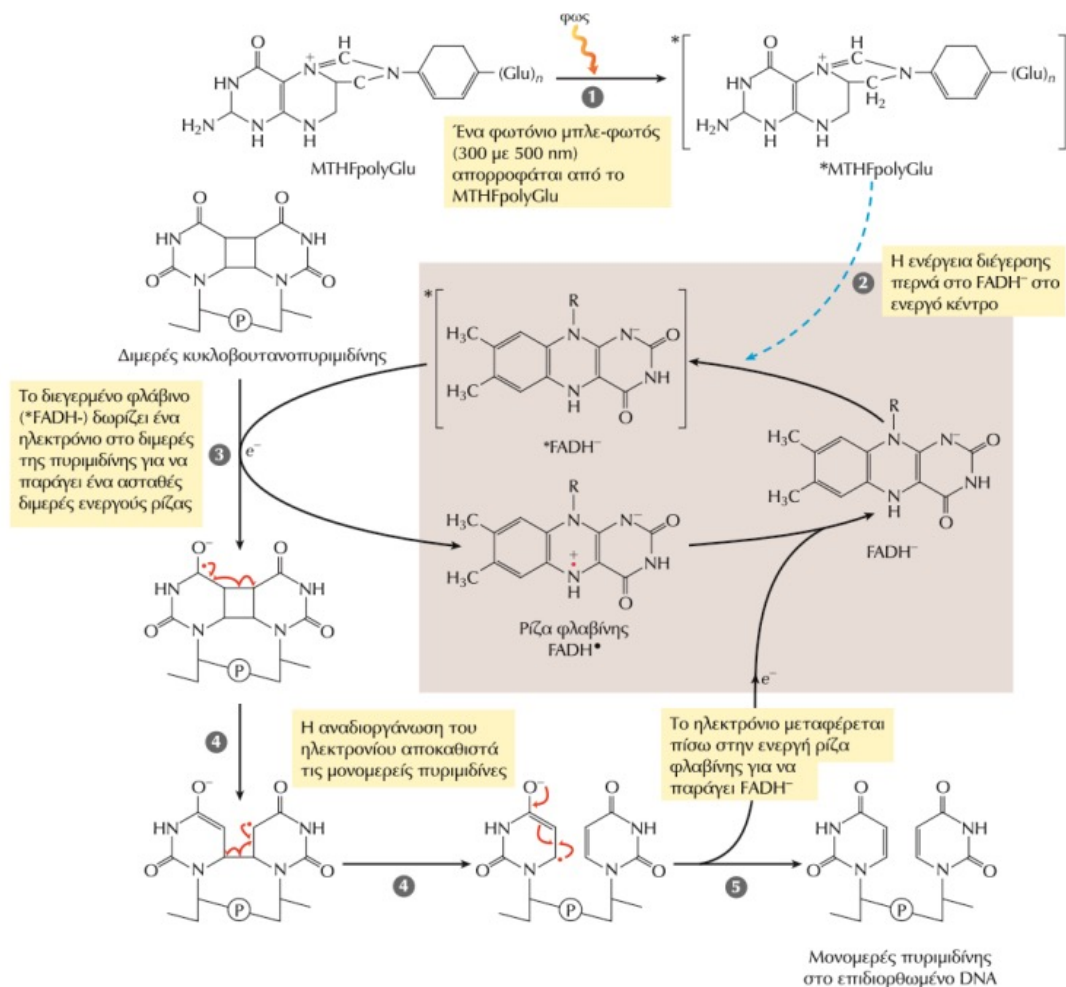


ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗΣ

ΑΜΕΣΗ ΚΑΙ ΕΜΜΕΣΗ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ

ΑΜΕΣΗ	ΕΜΜΕΣΗ
Φωτολύαση- διμερών T-T στα φυτά	Εκτομή βάσης BER
O ⁶ -μεθυλογουανινο μεθυλοτρανσφεράση (MGMT)	Εκτομή Νουκλεοτιδίου NER
Επιδιόρθωση κατά την αντιγραφή 3'-5	Αταίριαστος Συνδυασμός MMR
	Ομόλογος Ανασυνδυασμός

ΑΜΕΣΗ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ- ΦΩΤΟΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ



- Χωρίς αφαίρεση μιας βάσης ή ενός νουκλεοτιδίου
- Άμεση φωτο-ενεργοποίηση των διμερών κυκλοβουτανο-πυριμιδίνης: DNA φωτολυάσες
- Υπεριώδες φως επάγει αντίδραση: παραγωγή διμερών πυριμιδίνης
- Φωτολυάσες- ενέργεια από το φως: αναστρέφουν τη βλάβη
- 2 χρωμοφόρα: συμπαραγοντες απορρόφησης φωτός: FADH₂ και φυλλικό οξύ

Σημαντική για πολλούς οργανισμούς – όχι για τα θηλαστικά.

ΕΙΚΟΝΑ 25-26 Επιδιόρθωση διμερών πυριμιδίνης από τη φωτολυάση. Η ενέργεια του φωτός χρησιμοποιείται για την αναστροφή της φωτοαντίδρασης η οποία είχε προκαλέσει τη βλάβη. Τα δύο χρωμοφόρα της φωτολυάσης του *E. coli* (MB 54.000), N⁵,N¹⁰-μεθυλενοτετραδρόφολικό-πολυγλουταμικό (MTHF poly Glu) και FADH₂, επιτελούν συμπληρωματικές λειτουργίες. Το MTHFpolyGlu λειτουργεί ως δέκτης φωτονίων. Το FADH₂ διεγείρεται και η διεγερμένη φλαβίνη (*FADH[•]) προσφέρει ένα ηλεκτρόνιο στο διμερές πυριμιδίνης, προκαλώντας την επιδιόρθωση που απεικονίζεται εδώ.

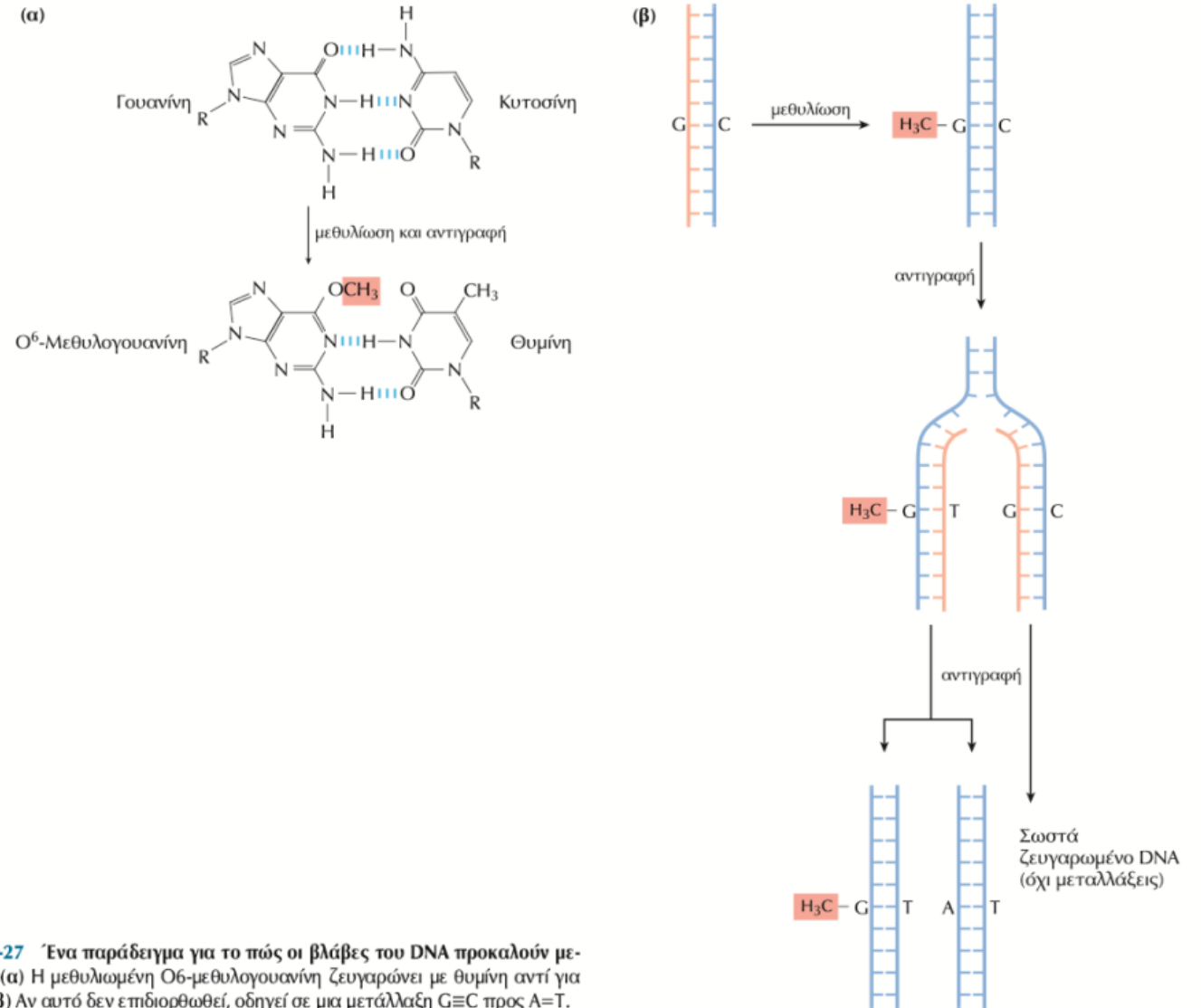
ΑΜΕΣΗ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ

Ο6 –μεθυλογουανινο μεθυλοτρανσφεράση (MGMT)

- **Βλάβες αλκυλίωσης**
- Ο⁶-μεθυλογουανίνη σχηματίζεται: μεταλλαξιγόνο βλάβη

Ζευγάρι με Θυμίνη αντί της Κυτοσίνης: δημιουργεί μεταλλάξεις

Άμεση επιδιόρθωση της από τη μεθυλοτρανσφεράση της Ο⁶ –μεθυλογουανίνης DNA



ΕΙΚΟΝΑ 25-27 Ένα παράδειγμα για το πώς οι βλάβες του DNA προκαλούν μεταλλάξεις. (α) Η μεθυλιωμένη Ο⁶-μεθυλογουανίνη ζευγαρώνει με θυμίνη αντί για κυτοσίνη. (β) Αν αυτό δεν επιδιορθωθεί, οδηγεί σε μια μετάλλαξη G≡C προς A=T.

ΑΜΕΣΗ ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ

Σύμπλεγμα αντιγραφής

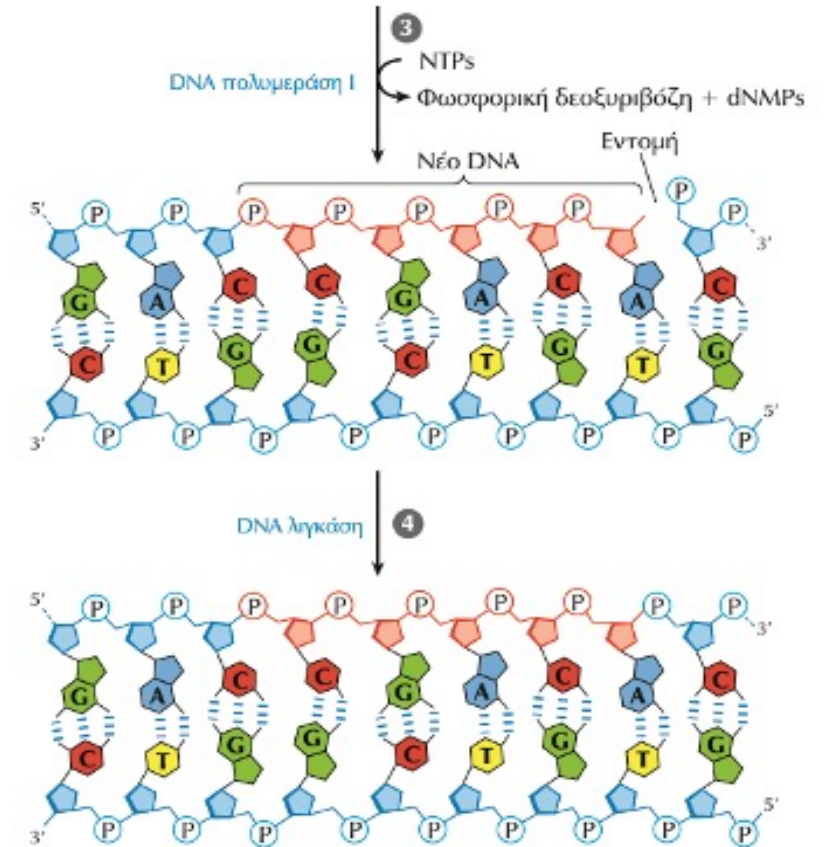
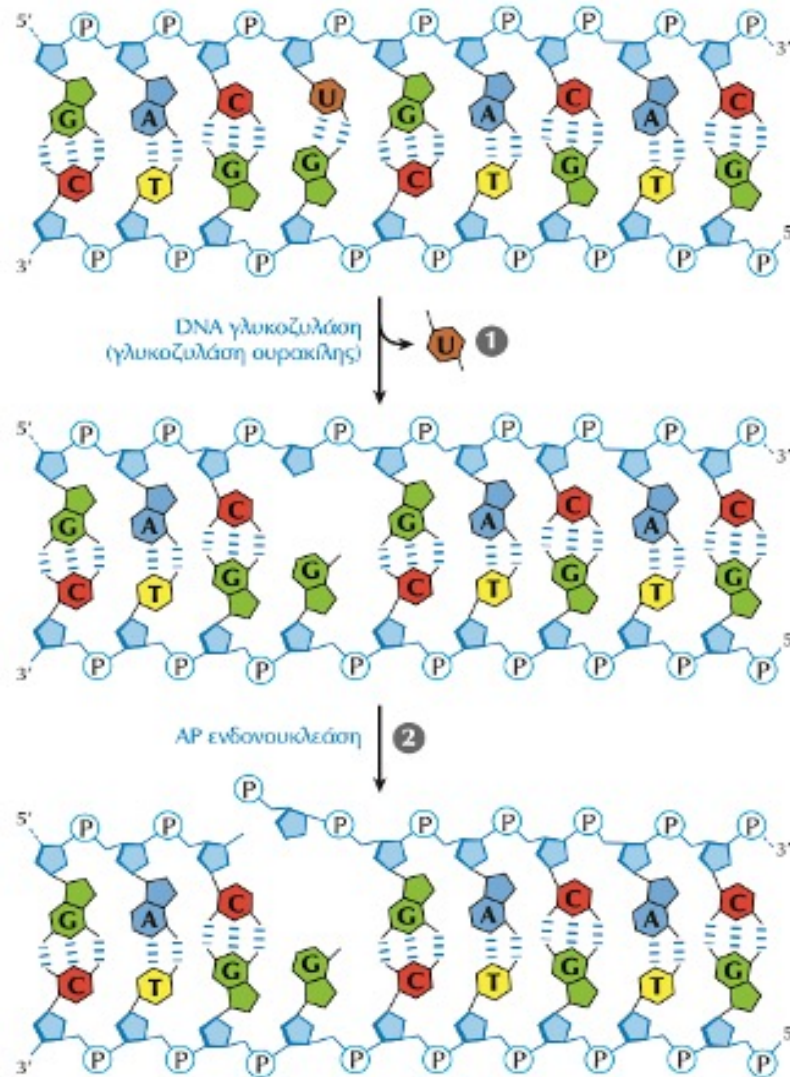
Σε βλάβη επί ενός κλώνου εκμαγείου: σταματά

Εξέλιξη αντιγραφής:

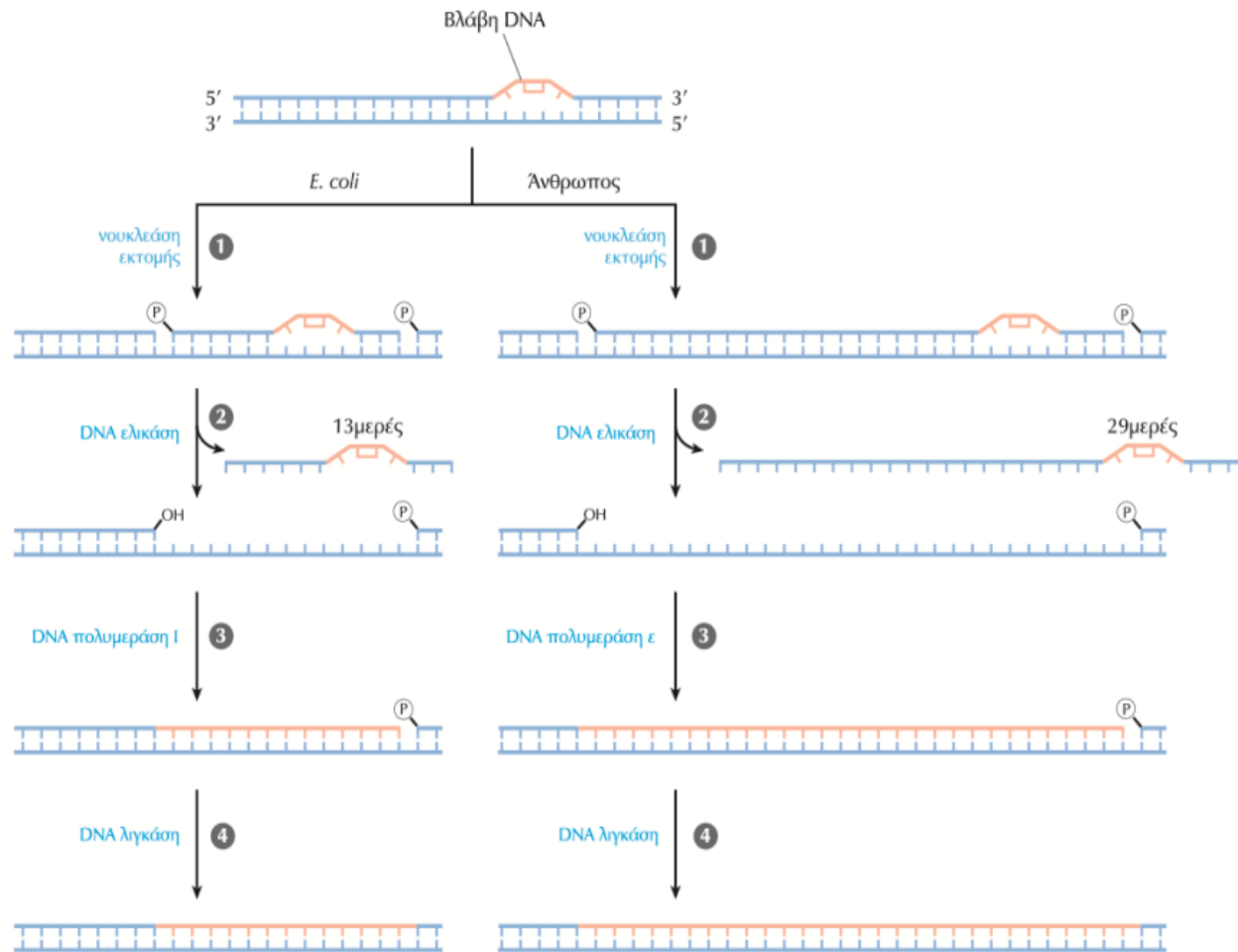
1. Αποσυναρμολόγηση ή οπισθοχώρηση:
επιδιόρθωση βλάβης
2. Παρακαμπτήριος σύνθεση
3. Υπερπήδηση βλάβης και εκ νέου σύνθεση
πέρα αυτής (κενό στο θυγατρικό κλώνο)

ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΕΚΤΟΜΗΣ ΒΑΣΕΩΝ (BER)

- Υπάρχουν τουλάχιστον 8 διαφορετικές γλυκοζυλάσες: αναγνωρίζουν ορισμένους τύπους βλαφθέντων βάσεων
- DNA γλυκοζυλάση της ουρακίλης



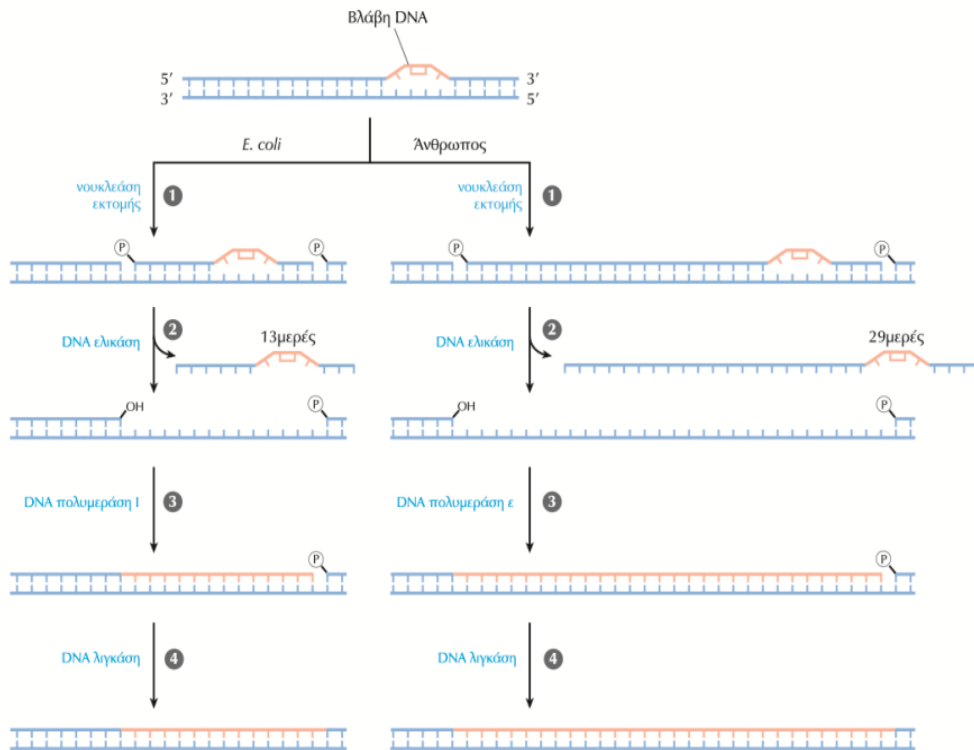
ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΕΚΤΟΜΗΣ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΩΝ (NER)



ΕΙΚΟΝΑ 25-25 Επιδιόρθωση του DNA με εκτομή νουκλεοτιδίων στο *E. coli* και τον άνθρωπο. Ο γενικός μηχανισμός επιδιόρθωσης με εκτομή νουκλεοτιδίων είναι παρόμοιος σε όλους τους οργανισμούς. ❶ Μια νουκλεάση εκτομής προσδέεται στη θέση μιας μεγάλης βλάβης του DNA και κόβει τον κλώνο εκατέρωθεν της βλάβης. ❷ Ένα τμήμα DNA 13 νουκλεοτιδίων (13μερές) ή 29 νουκλεοτιδίων (29μερές) αφαιρείται με τη βοήθεια μιας ελικάσης. ❸ Το κενό γεμίζει από τη DNA πολυμεράση και ❹ η εντομή που απομένει «σφραγίζεται» από τη DNA λιγκάση. [Πηγή: Aziz Sancar].

1. Αφορά σε μεγάλες ενώσεις προσθήκης ή παραμόρφωση της διπλής ελικοειδούς δομής του DNA
2. Διμερή της πυριμιδίνης/ βενζοπυρένιο/ αφλατοξίνη/ σισπλατίνη: αφαιρούνται με MER
3. Η βλάβη αφαιρείται από ένα ενζυμικό σύμπλοκο: αποκόπτει αρκετά νουκλεοτίδια-βλάβη: απομάκρυνση ως ολιγονουκλεοτίδιο

ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΕΚΤΟΜΗΣ ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΩΝ (NER)



ΕΙΚΟΝΑ 25-25 Επιδιόρθωση του DNA με εκτομή νουκλεοτιδίων στο *E. coli* και τον άνθρωπο. Ο γενικός μηχανισμός επιδιόρθωσης με εκτομή νουκλεοτιδίων είναι παρόμοιος σε όλους τους οργανισμούς. ❶ Μια νουκλεάση εκτομής προσδένεται στη θέση μιας μεγάλης βλάβης του DNA και κόβει τον κλώνο εκατέρωθεν της βλάβης. ❷ Ένα τμήμα DNA 13 νουκλεοτιδίων (13μερές) ή 29 νουκλεοτιδίων (29μερές) αφαιρείται με τη βοήθεια μιας ελικάσης. ❸ Το κενό γεμίζει από τη DNA πολυμεράση και ❹ η εντομή που απομένει «σφραγίζεται» από τη DNA λιγκάση. [Πηγή: Aziz Sancar].

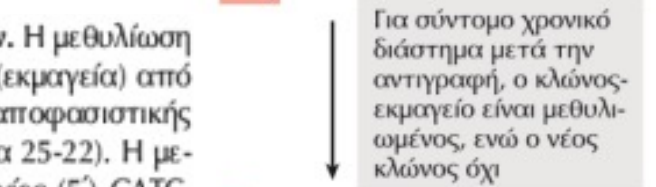
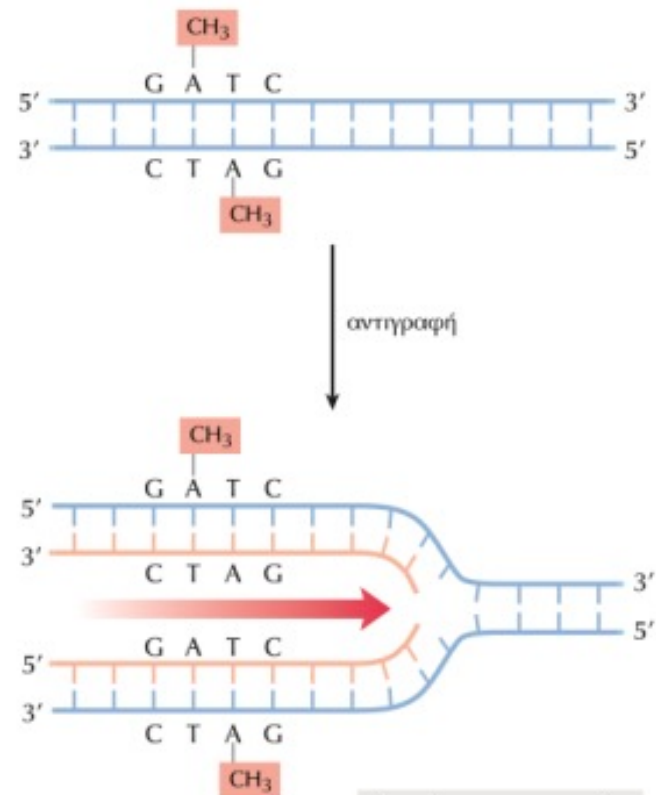
- Πολυμερές ένζυμο (νουκλεάση εκτομής) υδρολύει δύο φωσφοδιεστερικούς δεσμούς που βρίσκονται εκατέρωθεν της στρέβλωσης την οποία προκαλεί η βλάβη
- Απελευθέρωση νουκλεοτιδίων
- Συμπλήρωση κενού με DNA πολυμεράση-ε
- Επανασύνδεση εντομών από DNA λιγκάση

ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΑΤΑΙΡΙΑΣΤΩΝ ΖΕΥΓΩΝ (MMR)

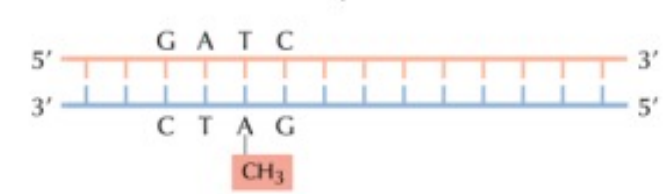
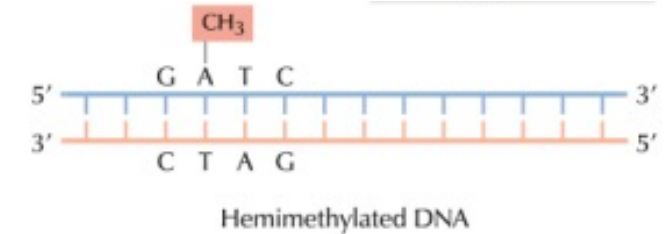
- Αφαιρεί τα σφάλματα αντιγραφής
- Τα αταίριαστα ζεύγη (mismatches) σχεδόν πάντα επιδιορθώνονται έτσι ώστε να αντικατοπτρίζουν τις πληροφορίες στον πατρικό κλώνο(κλώνος-εκμαγείο)
- το σύστημα επιδιόρθωσης πρέπει με κάποιο τρόπο να διακρίνει τον κλώνο-εκμαγείο από το νεοσυντεθειμένο κλώνο. Το κύτταρο τα καταφέρνει «σημαδεύοντας» το DNA εκμαγείο με μεθυλο-ομάδες ώστε να το διακρίνει από τους νεοσυντεθειμένους κλώνους

ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΑΤΑΙΡΙΑΣΤΩΝ ΖΕΥΓΩΝ (MMR)

- Στο *E. coli*, το σύστημα επιδιόρθωσης των αταίριαστων ζευγών (mismatch repair system) περιλαμβάνει τουλάχιστον 12 πρωτεΐνες που δρουν είτε στη διάκριση των κλώνων είτε στη διεργασία επιδιόρθωσης.
- Διάκριση των κλώνων: μεθυλάση Dam η οποία, όπως προαναφέραμε, μεθυλιώνει το DNA στη θέση N6 όλων των καταλοίπων αδενίνης που βρίσκονται μέσα σε αλληλουχίες (5')GATC.

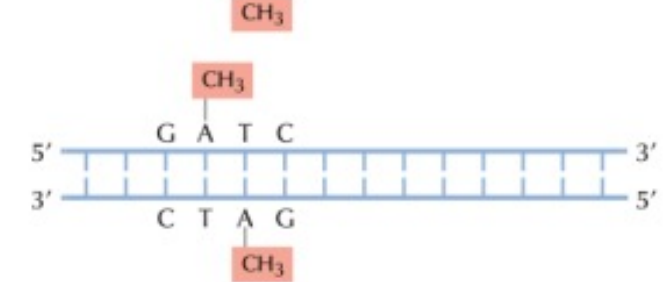
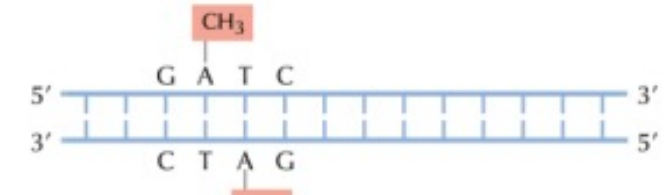


Για σύντομο χρονικό διάστημα μετά την αντιγραφή, ο κλώνος-εκμαγεύο είναι μεθυλιωμένος, ενώ ο νέος κλώνος όχι



Dam μεθυλάση

Μετά από λίγα λεπτά ο νέος κλώνος μεθυλιώνεται και πλέον οι δύο κλώνοι δε διακρίνονται

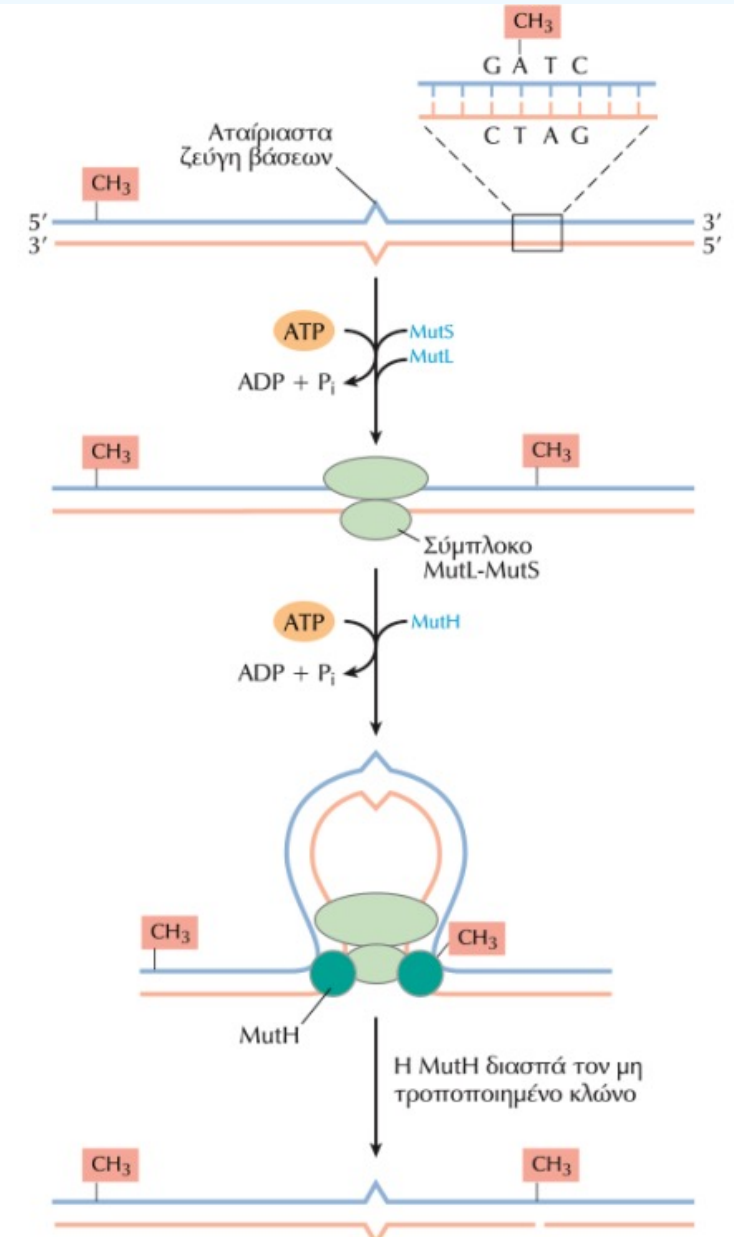


ΕΙΚΟΝΑ 25-21 Μεθυλίωση και επιδιόρθωση αταίριαστων ζευγών. Η μεθυλίωση των κλώνων του DNA βοηθά στη διάκριση των πατρικών κλώνων (εκμαγεύα) από τους νεοσυντεθειμένους κλώνους στο DNA του *E. coli*, λειτουργία αποφασιστικής σημασίας για την επιδιόρθωση των αταίριαστων ζευγών (βλ. Εικόνα 25-22). Η μεθυλίωση συμβαίνει στο N⁶ του κατάλοιπου αδενίνης στις αλληλουχίες (5') GATC. Αυτή η αλληλουχία είναι παλίνδρομο (βλ. Εικόνα 8-18), δηλαδή υπάρχει και στους δύο κλώνους αλλά με αντίθετο προσανατολισμό.

ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΑΤΑΙΡΙΑΣΤΩΝ ΖΕΥΓΩΝ (MMR)

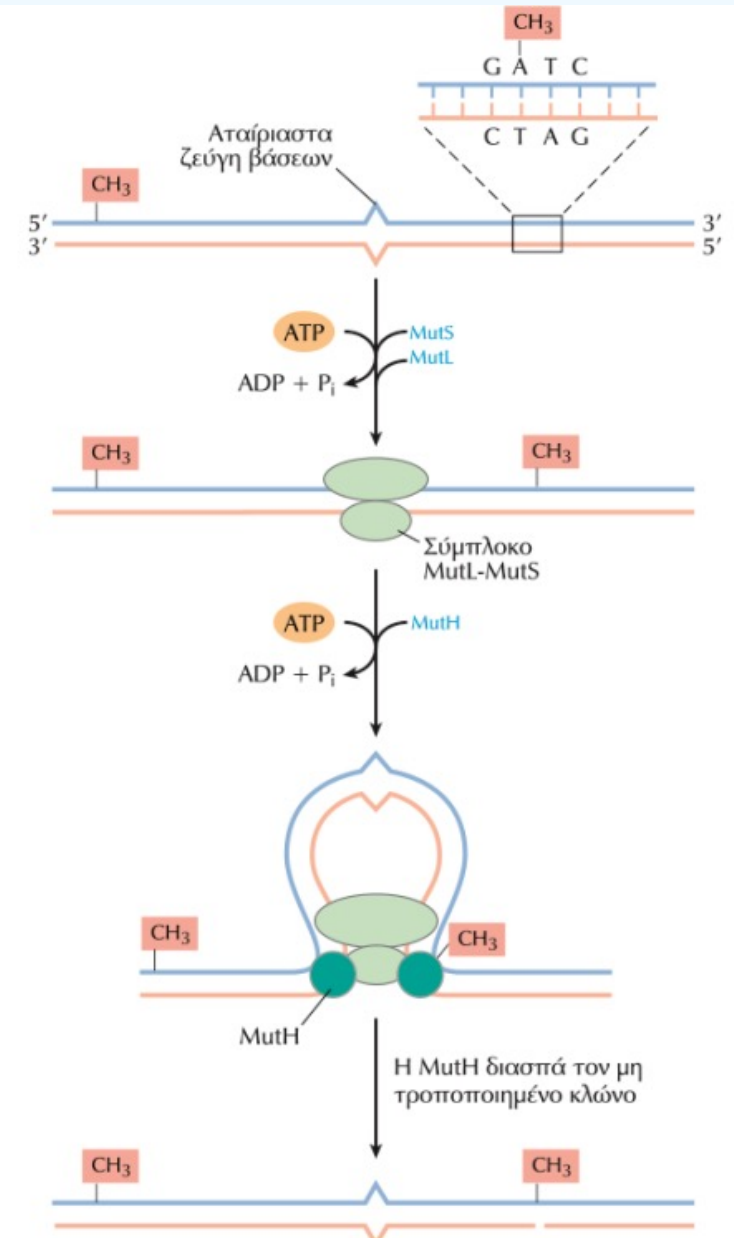
Πώς όμως κατευθύνεται η διεργασία επιδιόρθωσης των αταίριαστων ζευγών από τις σχετικά απομακρυσμένες αλληλουχίες GATC;

1. Η πρωτεΐνη MutL σχηματίζει σύμπλοκο με την πρωτεΐνη MutS που προσδένεται σε όλα τα αταίριαστα ζεύγη βάσεων (εκτός από το C-C).
2. Η πρωτεΐνη MutH προσδένεται στην MutL και στις αλληλουχίες GATC τις οποίες συναντά το σύμπλοκο MutL-MutS.
3. Η MutH διαθέτει δράση τοποειδικής ενδονουκλεάσης και είναι ανενεργός έως ότου το σύμπλοκο συναντήσει μια ημιμεθυλιωμένη αλληλουχία GATC.
4. Επιδιόρθωση: Σε αυτή τη θέση, η MutH καταλύει τη διάσπαση του μη μεθυλιωμένου καταλοίπου G στον 5' κλώνο της αλληλουχίας GATC.



ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΑΤΑΙΡΙΑΣΤΩΝ ΖΕΥΓΩΝ (MMR)

- Τα ευκαρυωτικά κύτταρα διαθέτουν συστήματα επιδιόρθωσης των αταίριαστων ζευγών χρησιμοποιώντας πρωτεΐνες που έχουν δομικές και λειτουργικές ομοιότητες με τις βακτηριακές MutS και MutL (όχι όμως και με τη MutH).
- Οι μεταλλάξεις σε ανθρώπινα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες αυτού του είδους ευθύνονται για ορισμένα από τα πιο κοινά σύνδρομα κληρονομικής ευπάθειας σε καρκίνο
- Στους περισσότερους ευκαρυώτες, από τη ζύμη έως τον άνθρωπο, οι πρωτεΐνες MSH2, MSH3 και MSH6 είναι οι κύριες ομόλογες της MutS (MutS homolog).
- Δε γνωρίζουμε τον ακριβή μηχανισμό με τον οποίο αναγνωρίζονται οι νεοσυντεθειμένοι κλώνοι DNA. Ωστόσο, η σχετική έρευνα αποκάλυψε ότι αυτή η αναγνώριση δεν περιλαμβάνει αλληλουχίες GATC.



ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΑΤΑΙΡΙΑΣΤΩΝ ΖΕΥΓΩΝ (MMR)- ΚΛΙΝΙΚΟΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΜΟΣ: ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

- 10% των περιπτώσεων σχετίζονται με κληρονομικές βλάβες στα γονίδια BRCA1 και BRCA2
- Οι αντίστοιχες πρωτεΐνες έχουν μεγάλο μέγεθος (BRCA1:1834 αμινοξέα/BRCA2: 3418 αμινοξέα). Και οι δύο αλληλεπιδρούν με πολλές άλλες πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη μεταγραφή, τη διατήρηση των χρωμοσωμάτων, την επιδιόρθωση του DNA και τον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου
- Οι γυναίκες με βλάβη είτε στο ένα είτε στο άλλο γονίδιο έχουν πάνω από 80% πιθανότητα να αναπτύξουν καρκίνο του μαστού

ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΑΤΑΙΡΙΑΣΤΩΝ ΖΕΥΓΩΝ (MMR)- MSI (Αστάθεια Μικροδορυφορικού DNA)

MSI είναι ένας μοριακός φαινότυπος όγκων που προκύπτει από αυξημένη συχνότητα μεταλλάξεων στο γονιδίωμα.

Το διαγνωστικό χαρακτηριστικό της MSI είναι η προσθήκη ή απώλεια νουκλεοτιδίων από μικροδορυφορικές περιοχές—στοιχεία του DNA που αποτελούνται από σύντομα επαναλαμβανόμενα μοτίβα: **ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑΣ**

Αυτές οι αλλαγές εμφανίζονται ως νέες αλληλόμορφες ακολουθίες διαφόρων μηκών: δεν κωδικοποιούν/διάσπαρτες στο γονιδίωμα

ΕΠΙΔΙΟΡΘΩΣΗ ΑΤΑΙΡΙΑΣΤΩΝ ΖΕΥΓΩΝ (MMR)- MSI (Αστάθεια Μικροδορυφορικού DNA)

Συσχέτιση MSI με καρκίνο

Η MSI σχετίζεται κλασικά με **καρκίνους του παχέος εντέρου όπως και:**

- **Ενδομητριάκο καρκίνο**
- **Ωοθηκικό καρκίνο**
- **Γαστρικό καρκίνο**
- **Προστατικό καρκίνο**
- **Γλοιοβλάστωμα**

ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ

Ο ανασυνδυασμός είναι μια θεμελιώδης διαδικασία για την ανταλλαγή και ανανέωση γενετικής πληροφορίας και διακρίνεται σε δύο κύριους τύπους: **τον ομόλογο και τον μη ομόλογο ανασυνδυασμό.**

Ο ανασυνδυασμός, είτε μέσω ομόλογων είτε μη ομόλογων μηχανισμών, είναι ζωτικής σημασίας για τη γενετική ποικιλία, την επιδιόρθωση του DNA και τη λειτουργία του γονιδιώματος.

ΟΜΟΛΟΓΟΣ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΟΣ

Ο ομόλογος ανασυνδυασμός συμβαίνει μεταξύ γενετικών αλληλουχιών που είναι παρόμοιες ή ταυτόσημες, όπως αυτές που βρίσκονται στα χρωμοσώματα των γονέων.

Αυτή η διαδικασία είναι κρίσιμη κατά την αναπαραγωγή, καθώς εξασφαλίζει ότι τα γεννητικά κύτταρα (γαμέτες) λαμβάνουν μια απλοειδή σειρά χρωμοσωμάτων.

Κατά τη διάρκεια του ομόλογου ανασυνδυασμού, οι αλληλουχίες των χρωμοσωμάτων αναμιγνύονται, δημιουργώντας γενετική ποικιλία.