

# ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ (ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ).

Контроль уровня экспрессии генов и использование метода экспрессионных микрочипов.

Преимущества:

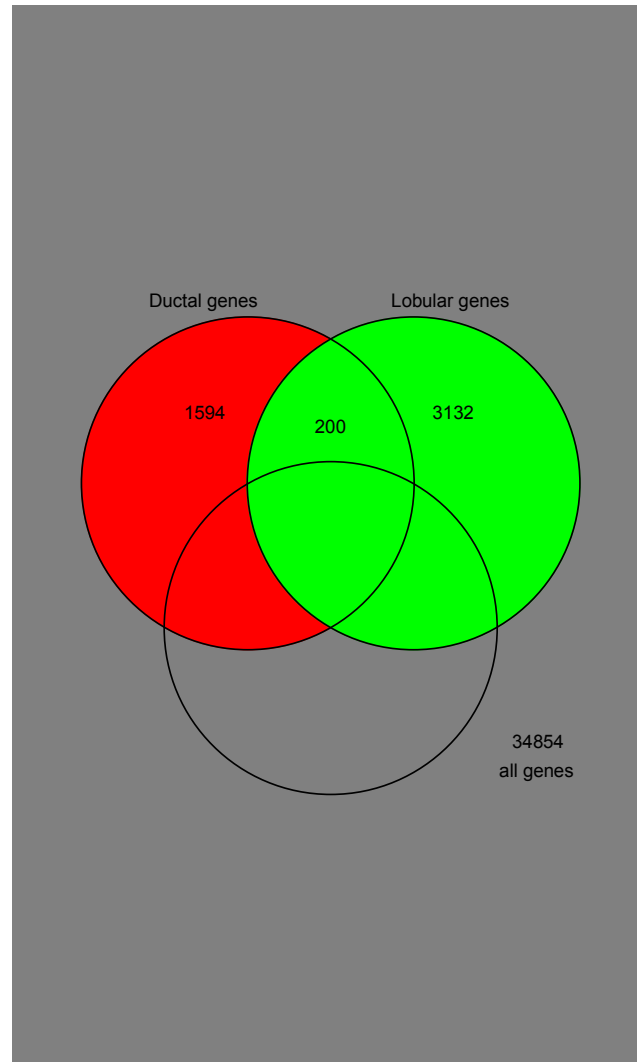
- одновременный анализ экспрессии всех генов клетки;
- вычленение кластеров специфических генов для опухолей различных локализаций и для каждой индивидуальной опухоли;
- создание упрощенных “диагностических” вариантов микрочипов, содержащих не более 100-1000 генов.

Значение для клиники:

- паттерн экспрессии генов может определять чувствительность к различным химиопрепаратам и определять тактику лечения;
- проводить целенаправленный поиск новых ген-направленных противоопухолевых препаратов;
- верифицировать диагноз в сложных случаях;
- прогноз заболевания.

# Математическая обработка данных.

## Круговая диаграмма.



# **ГЕНЫ, ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕСЯ В РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ.**

*(предварительные данные совместного исследования с Университетом*

*Дж.Мейсона, США)*

- 1. Опухолевый супрессор p27/KIP 1**
- 2. IGBP 1 (IGF связующий белок 1)**
- 3. PSG 1 ( бета 1-гликопротеид, специфичный для беременности)**
- 4. FGG (фибриноген)**
- 5. DKK 2**
- 6. TNFRSF 14 (ген семейства TNF, участвующий в индукции металлопротеиназ)**
- 7. CAV 1 (кавеолин)**
- 8. PL2G2A – ген фосфолипазы A2, ассоциированный с хорошим прогнозом.**
- 9. PSA – ген простат-специфического антигена.**
- 10. Транскрипционные факторы YY1 и HESX 1.**
- 11. RANBP 2 – белок ядерных пор.**
- 12. SUMO E3 лигаза**
- 13. Rho-Gef p114.**

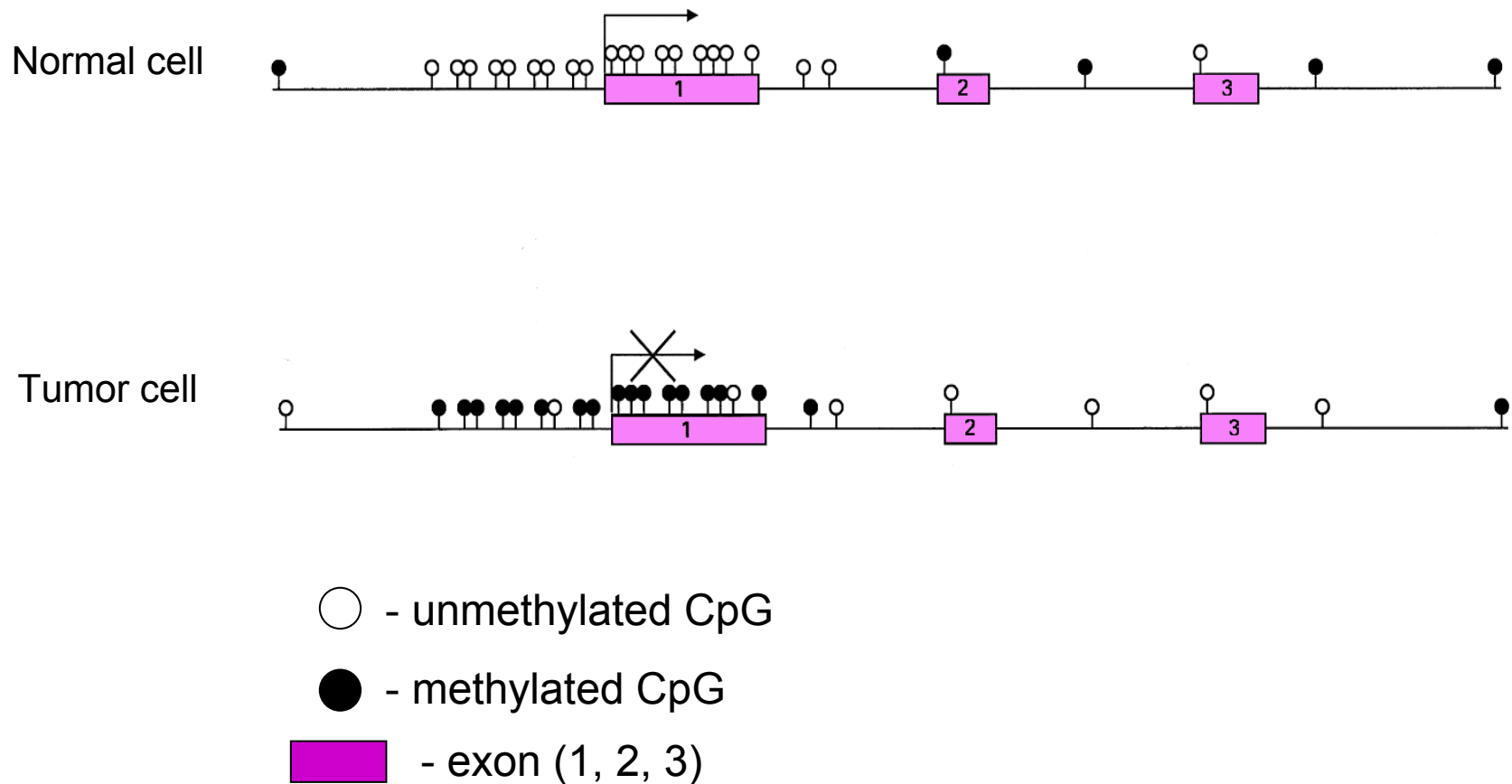
# **ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИИ ХРОМАТИНА.**

Гипоацетилирование гистонов гистоновыми деацетилазами (HDAC)

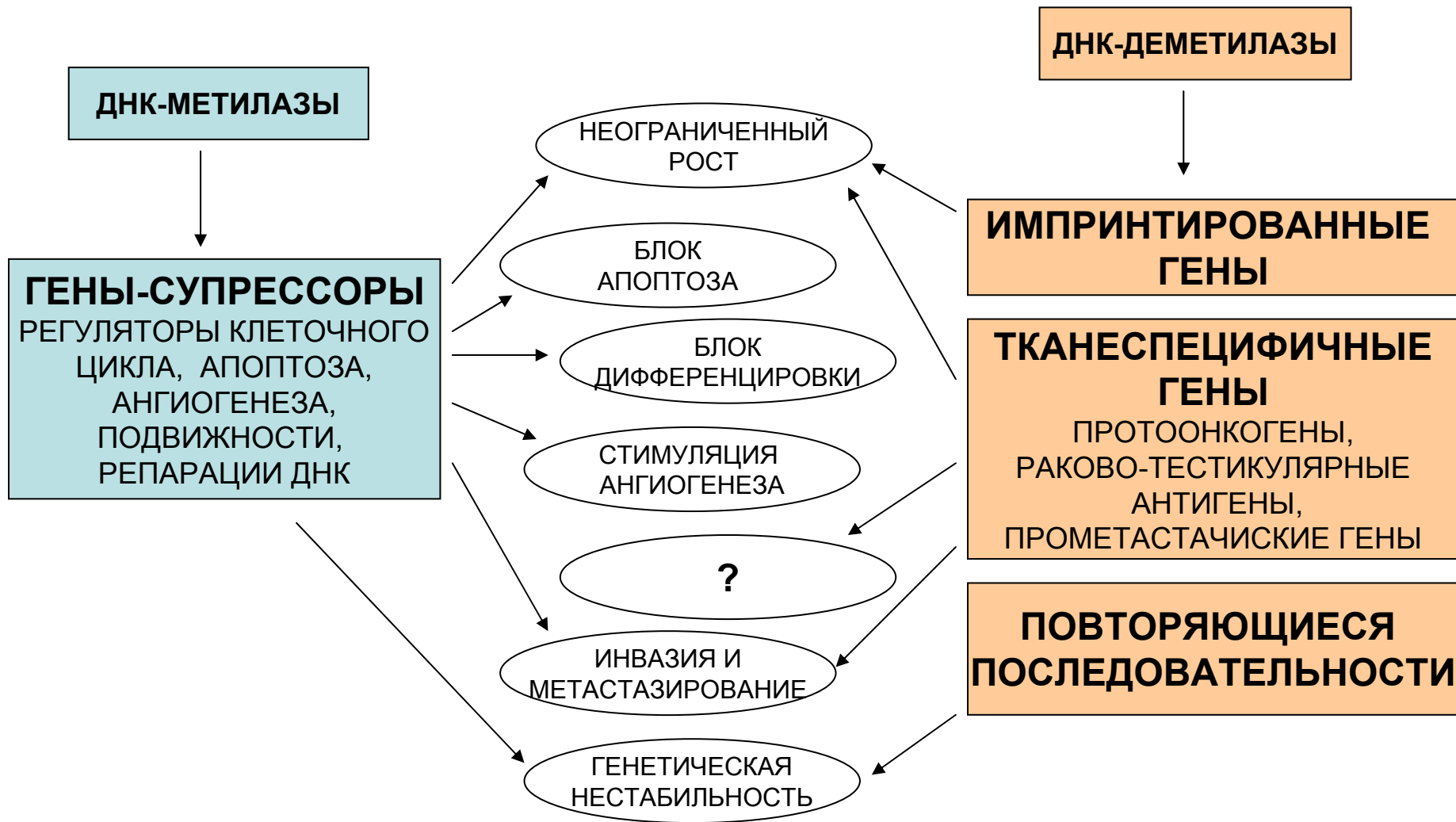
**Метилирование лизина 9 в гистоне H3 – направлено против транскрипционных репрессоров хроматина**

**Метилирование ДНК в CpG островков – за счет взаимодействия с HDAC индуцирует ингибиторную конфигурацию хроматина.**

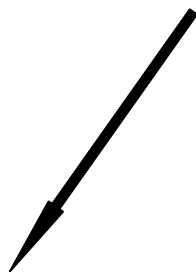
# Alteration of DNA methylation in tumors



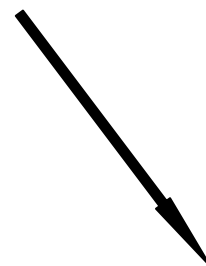
# МИШЕНИ ПРОЦЕССОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ И ДЕМЕТИЛИРОВАНИЯ В ОПУХОЛЯХ



## АБЕРРАНТНОЕ МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК В ОПУХОЛЯХ



Поиск генов, дифференциально метилированных в опухолевых и нормальных клетках



Выявление генов, *гипер-* или *гипометилированных* в опухолях определенного типа с высокой частотой



# GENE METHYLATION PROFILE OF CERVICAL CANCER

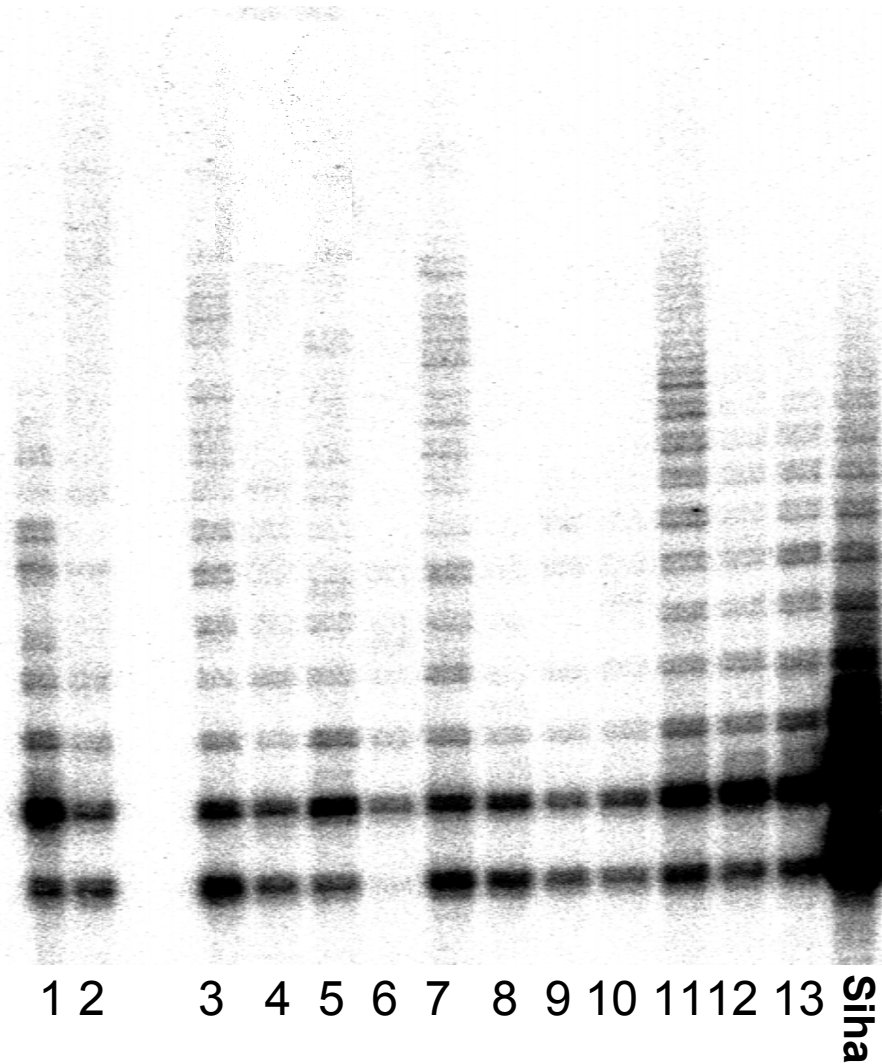
№№	Sample	HPV		CpG-28	RAR-β2	TIMP-2	hMLH	FHIT	TIMP-3	E-cad
1	282	16	<b>CIMP ++</b>							
2	286	16								
3	289	18								
4	275	16								
5	234	18								
6	443	16								
7	276	16								
8	411	16	<b>CIMP +</b>							
9	235	16								
10	432	16								
11	456	18								
12	450	16								
13	250	16								
14	284	16								
15	429	16								
16	439	16								
17	448	16	<b>CIMP -</b>							
18	438	16								
19	444	16								
20	446	66								
21	434	16								
22	445	33								
23	431	16								
24	429	16								
25	290	16								
26	297	16								
27	458	16								
28	426	16								
29	442	33								
<b>Frequency of methylation</b>				9/29 31%	8/29 27%	13/29 45%	7/29 24%	6/29 29%	9/29 31%	12/29 41%



# SPLICING

- Мутации в сайтах сплайсинга вызывают aberrantный сплайсинг, который часто выявляется в опухолях.
- Сплайсинг в опухолях включает в себя следующие варианты: использование альтернативных индивидуальных сайтов сплайсинга, вовлечение альтернативных экзонов и альтернативных интронов
- Альтернативный сплайсинг транскрипционных факторов (NRSF, андрогенный рецептор, ядерный коактиватор гормонов AIB1, хроматин ремоделирующий белок)
- Альтернативный сплайсинг трансмембранных белков - два варианта G-белков, FGFR1, РНК-связующий белок РТВ, белки, участвующие в клеточной адгезии - интегрины, CD 44
- Альтернативный сплайсинг секретируемых внеклеточных белков (активатор плазминогена, тенасцин С, фибронектин)

# Теломеразная активность в интраэпителиальных неоплазиях шейки матки (CIN)



1. CIN II
2. CIN II, III
3. CIN II, III
4. CIN II
5. CIN III
6. CIN III
7. CIN II
8. myoma
9. myoma
10. normal epithelium
11. cancer "in situ"
12. CIN III
13. CIN II, III

Siha+RNaseA

Группа	мРНК hTERT				Активность теломеразы
	no del	$\alpha$ -del	$\beta$ -del	$\alpha\beta$ -del	
Нормальный эпителий	<b>50%</b> (14/28)	<b>18%</b> (5/28)	<b>75%</b> (21/28)	<b>14%</b> (4/28)	<b>28%</b> (2/7)
CIN I	<b>89%</b> (8/9)	<b>33%</b> (3/9)	<b>100%</b> (9/9)	<b>67%</b> (6/9)	<b>56%</b> (5/9)
CIN II — CIN III	<b>90%</b> (28/31)	<b>61%</b> (19/31)	<b>97%</b> (30/31)	<b>71%</b> (23/31)	<b>52%</b> (13/25)

# 1. Биогенез и функции микроРНК: примеры участия в онкогенезе



# Микро РНК (mir-RNA)

- Mir-RNA, локализованные в участках генома, амплифицированных в опухолях, функционируют как онкогены, в то время как mir-RNA, локализованные в участках хроматина, делецированных в опухолях, функционируют как опухолевые супрессоры.
- Изменение в уровнях экспрессии mir-RNA обнаружено как в солидных опухолях, так и при лейкозах.
- Аномально экспрессирующиеся mir-RNA в опухолевых клетках в качестве мишеней используют транскрипты с генов, кодирующих белки, играющие ключевую роль в канцерогенезе (онкоген Ras, анти-апоптотические гены BCL-2 и BCL-6, транскрипционный фактор E2F1).
- Паттерн экспрессии mir-RNA коррелирует с клиническими и биологическими характеристиками опухолей (тип опухоли, уровень дифференцировки, агрессивность и ответ на терапию)
- Выявлены аномалии в mir-RNA и в генах, кодирующих эти mir-RNA, в герминальных клетках. Соответственно эти аномалии выявлены и в информационных РНК, являющихся мишенями для этих РНК. Поскольку каждая mir-RNA имеет множество мишеней, то наследуемые вариации в изменения транскрипции могут иметь серьезные последствия, в том числе и для синтеза белков, играющих ключевую роль в канцерогенезе. Можно предполагать, что этот феномен может иметь важное значение в семейной предрасположенности к возникновению опухолей.

# Микро РНК (mir-RNA)

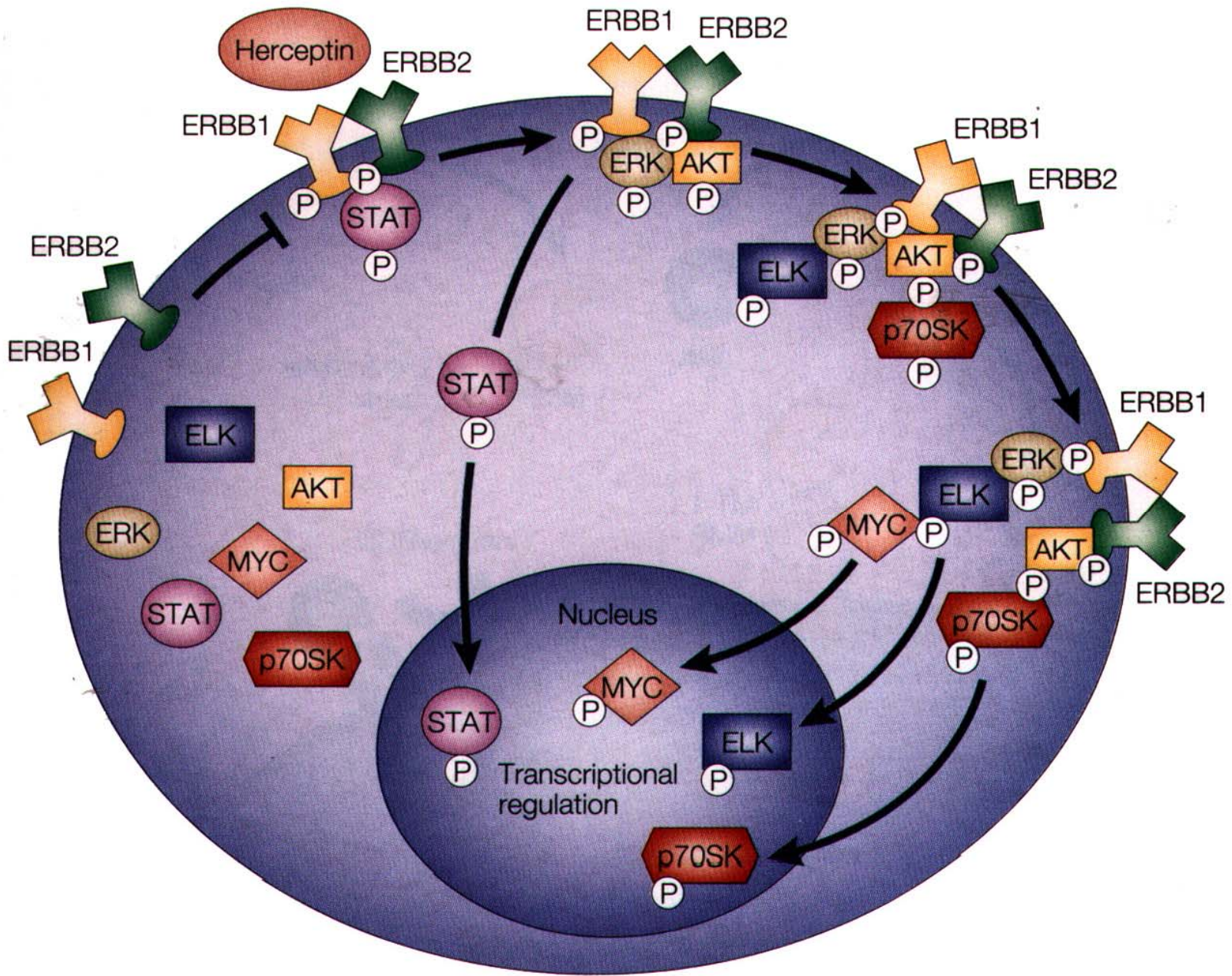
- Mir-RNA – распространенный класс негативных регуляторов активности генов, который контролирует такие клеточные функции как пролиферация, дифференцировка и апоптоз.
- Около половины mir-RNA картируется внутри “ломких” участков хромосом, которые ассоциированы с различными опухолями человека
- Mir-RNA могут функционировать и как онкогены, и как супрессоры и могут быть обозначены как “oncomirs”
- Экспрессионные профили mir-RNA являются более адекватным методом для классификации субтипов опухоли, чем экспрессионные профили для белок-кодирующих генов. Дифференциальная экспрессия различных mir-RNA в различных опухолях может быть с успехом использована в диагностике и терапии опухолей.
- Генная терапия с использованием mir-RNA может быть эффективным подходом для подавления опухолевой прогрессии.

**В основе неопластической трансформации клеток лежат наследуемые изменения сигнальных путей, контролирующих размножение, жизнеспособность и миграцию клеток.**

**Такие изменения могут возникать в результате**

**а) мутаций или эпигенетических изменений генов, кодирующих компоненты таких сигнальных систем (изменения онкогенов, опухолевых супрессоров и др.)**

**б) экспрессии вирусных генов, продукты которых либо имитируют функцию клеточных онкогенов, либо активируют клеточные протоонкогены, либо связывают и инактивируют клеточные опухолевые супрессоры**



**Example of a protein signalling pathway.**



Каждая опухоль имеет  
индивидуальную  
генетическую  
программу

# Новые препараты, созданные на основе знаний о мишенях

- Ингибиторы металлопротеиназ (инвазия, метастазирование, ангиогенез)
- Ингибиторы фарнезилтрансфераз (белки RAS)
- Ингибиторы нерецепторных киназ (mTOR, PKC, CDKs)
- Генотерапевтические подходы)

# Новые препараты: созданы на основании данных о мишенях

- HERCEPTIN (ERB2/HER 2)
- IRESSA (EGFR/HER1)
- ERLOTINIB (EGFR/HER 1)
- GLEEVEC(BCR/ABL)
- MABTERA (CD 20)
- AVASTIN (VEGF)
- VELCADE (Proteasome inhibitor)
- CELECOXIB (COX 2)

# **БУДУЩЕЕ**

**Последовательное  
использование различных  
схем лечения, направленных  
на группы генов,  
активирующихся на разных  
этапах опухолевого  
процесса, позволит  
продлевать жизнь больных  
раком на 15-20 лет, превратив  
рак из фатального в**