

**ГЕНЕТИЧНИ И ЕПИГЕНЕТИЧНИ ФАКТОРИ ЗА РАЗВИТИЕТО НА
КОЛОРЕКТАЛЕН КАРЦИНОМ**

Галина Братоева, Мартин Малаков

Медицински факултет, Тракийски университет

РЕЗЮМЕ

Колоректалният карцином е заболяване, което с всеки изминал ден придобива все по-голяма значимост. Нарастващият брой на болелите предизвиква увеличаване на броя на проучванията за патогенезата на заболяването. Днес се знае, че в своята същност заболяването има генетична основа. Колоректалният карцином може да се определи като мултифакторно хетерогенно заболяване. Известни са три групи гени, които имат отношение към развитието му. Към тях спадат хромозомна нестабилна група, микросателитна нестабилна група, гени, отличаващи се с хиперметиране. Съществуват и генетични заболявания, които предразполагат към развитието на колоректален карцином – фамилна аденоматозна полипоза, наследствен неполипозен карцином на дебелото черво, синдром на Peutz-Jeghers (PJS). В патогенезата на колоректалния карцином се включват и промени в епигенетичната регулация, към които се причислява аномалното ДНК метилиране. Цел на проучването ни е да систематизираме основните генетични мутации и епигенетични промени, които водят до развитието на колоректален карцином.

Ключови думи: колоректален карцином, епигенетика, мутации

Колоректалният карцином не е едно, а повече от 10 различни заболявания, обединени под общото наименование „Рак на дебелото черво“. От анатомична гледна точка дебелото черво се състои от различни части, всяка от които може да бъде засегната от онкологично заболяване със специфична хистологична характеристика. Видът на туморите, стадият на заболяването, възрастта и придружаващите заболявания на пациентите са основните показатели, спрямо които се изготвя индивидуална терапевтична стратегия от специалистите.

Честота и причини за развитие на колоректален рак

Честотата на колоректалния рак варира за различните нации. Тези вариации се дължат както на специфики в националните регистри, статистическите данни, популационния генофонд, организацията на здравеопазването, така и на медицинската култура и начина на живот. *В своята същност заболяването има генетична основа.* Това не означава, че пациентите с колоректален рак винаги унаследяват заболяването. При сравнително малък процент от болните има наследствена предразположеност към рак (при около 10%), която увеличава риска за развитие на колоректален рак. *При мнозинството от пациентите генетичните дефекти са десетки, дори стотици и се натрупват цял живот.* В своята съвкупност те водят до злокачествена трансформация на клетките.

Предшествениците на колоректалния карцином са полипите. Те са образувания по

вътрешната повърхност на дебелото черво. С времето (месеци, години) клетките по повърхността на полипите могат постепенно да придобият характеристики, различни от тези на нормалните клетки. Злокачествената трансформация на тези клетки намира израз в тяхното неконтролируемо делене и развиването на способност за навлизане в стената на червото и разпространение в организма както на съседни на първичното огнище места, така и на далечни локализации чрез кръвообращението и лимфата.

Промените в ритмичността на изхожданията, консистенцията на фекалните маси, наличието на примеси в тях (кръв, слуз), анемичен синдром с неизяснен произход – това са алармиращи симптоми на колоректалния карцином. За поставяне на диагнозата се изисква извършването на колоноскопия, вземането на биопсия от суспектни лезии по вътрешната повърхност на дебелото черво, премахване на полипи. Използват се и други образни методи, които имат уточняваща роля за разпространението на заболяването.

Генетика на колоректалния карцином

Приблизително 90% от случаите на рак на дебелото черво са спорадични (случайни; случаи, при които не се наблюдава наследствена обремененост). Само при 10% е установено причинно-следствено генетично събитие. В днешно време се правят много усилия, за да се открият генетичните и молекулярните характеристики на колоректалния карцином. Натрупват се все повече и повече доказателства, че тези признаци определят прогнозата на заболяването и отговора към целенасоченото лечение.

Колоректалния карцином може да се определи като мултифакторно хетерогенно заболяване. Днес са известни три групи гени, които имат отношение към развитието на колоректален карцином:

1. Хромозомна нестабилна група – характеризира се с натрупване на мутации в специфични прото-онкогени и тумор супресорни гени.

Тук е момента да се направи уточнение кои гени са прото-онкогени и кои са туморсупресорните гени. Прото-онкогените са нормални гени в клетките. При мутации те се превръщат в онкогени, които в свръхекспресирано състояние насочват клетките към злокачествена трансформация. Туморсупресорните гени предпазват клетките от злокачествена трансформация.

2. Микросателитна нестабилна група, възникнала от дисфункция на гените за възстановяване на ДНК, които водят до генетична предразположеност към мутации.
3. Гени, отличаващи се с хиперметиране.

Годишно се диагностицират повече от 1,2 милиона случая на колоректален карцином. Това го прави третият най-разпространен рак по света. Поради това се счита за

основен здравословен проблем. Както споменахме по-горе, по-малко от 10% от пациентите имат истинска наследствена предразположеност към колоректален рак. Въпреки това, при 25% от случаите се наблюдава фамилна анамнеза за колоректален карцином. Пациентите с фамилна анамнеза за този тип злокачествено заболяване имат по-висок риск в сравнение с общата популация. Този по-висок риск не може да се сравни с огромния риск при хората с наследствено предразположение.

Генетични заболявания предразполагащи към колоректален карцином

Към генетичните заболявания предразполагащи към колоректален карцином спадат:

- фамилна аденоматозна полипоза;
- наследствен неполипозен колоректален карцином;
- синдром на Peutz-Jeghers (PJS).

Фамилна аденоматозна полипоза

Фамилната аденоматозна полипоза е заболяване, което се среща с честота от 1:7000 до 1:22000. При него индивидите унаследяват едно мутирало копие от гена APC, разположено в дългото рамо на 5-та хромозома. Мутациите в този ген включват делеции, изместване на рамката и точкови мутации. Нормалната функция на APC генния продукт е на тумор-супресор, който контролира междуклетъчните контакти и инхибира растежа чрез взаимодействие с протеина *бета-катенин*. Наличието на хетерозиготна APC мутация е причина епителните клетки на дебелото черво да избегнат контрола на клетъчния цикъл и чрез делене да се формират кълъстери, наречени полипи или аденоми. Хетерозиготните индивиди развиват стотици или хиляди полипи на различни части на дебелото черво още в ранния си живот. На етап на развитие само на полипи се наблюдава мутация само в единия алел на гена APC. С течение на времето се появява и мутация в другия алел, което води до развитие на карцином. При наличие на една мутация в APC гена, може да възникне втора в RAS гена, който е локализиран в 12 хромозома. RAS генът представлява протоонкоген, чийто нормален продукт протеин, съставен от 121 аминокиселини, принадлежащ към групата на G-протеините. След продукцията на RAS-протеина, следва неговото активиране, което води до свързването му с Raf-киназа, активиране на MEK-протеина, който активира ERK-протеини (Extracellular single related kinase). ERK се свързват с ДНК и действат като транскрипционни фактори, които активират клетъчното делене. Мутацията в RAS-гена води до засилена клетъчна пролиферация. Третият фактор за малигнизация е загуба на функцията на двата алела на DCC (deleted in colon cancer), чийто нормален продукт е рецептор участващ в апоптозата.

Фамилната аденоматозна полипоза е наследствен синдром предразполагащ към

развитие на колоректален карцином. Класическият тип на болестта се характеризира с развитие на множество доброкачествени полипи още в тийнейджърска възраст. Ако тези полипи не се отстранят, те задължително малигнизират. Средната възраст, на която индивидите с това заболяване развиват рак, е 39 години. В някои случаи доброкачествени полипи могат да се открият и в други части на тялото, включително дуоденум, стомах, кожа. Случаите на полипи на дебелото черво, съчетани с полипи с друга локализация, се означават като *синдром на Гарднер*. Лечението на фамилната аденоматозна полипоза включва колектомия (частично или цялостно отстраняване на дебелото черво).

Наследствен неполипозен колоректален карцином

2-7% от случаите на колоректален карцином представляват наследствен неполипозен колоректален карцином известен още като *синдром на Линч* (Lynch синдром). Причината за синдрома е наследствена рецесивна мутация в ген, който е отговорен за поправка на ДНК. Най-често засегнатите гени са MLH1, MSH2, MSH6 и PMS2. Синдромът на Линч е два типа. Първият тип се унаследява автозомно-доминантно. Колоректалният карцином се развива рано (на възраст около 44 години). Вторият тип освен предразположението към развитието на колоректален карцином се асоциира и с злокачествени новообразувания в гастроинтестиналния тракт.

Синдром на Peutz-Jeghers (PJS)

Синдромът на Пьотц-Йегерс е много рядко автозомно-доминантно генетично заболяване, характеризиращо се с много хамартоматозни полипи от стомашно-чревния тракт, най-често срещани в тънките черва. Полипите са с диаметър 0,1-5 cm и броят варира между 1 и 20 на сегмент от стомашно-чревния тракт. Най-характерните екстрачревни прояви са лезии, причиняващи хиперпигментирани петна в устната кухина и на ръцете и краката, които обикновено настъпват в ранна детска възраст и избледняват в края на юношеството. Пациентите с PJS имат герминативна мутация на серин треонин киназа 11 (STK-11), тумор потискащ ген. Възрастните с PJS имат не само висок риск от развитие на гастроинтестинален рак, но и не-стомашно-чревни ракови заболявания, особено рак на гърдата.

Спорадичен колоректален карцином

Благодарение на генетичните постижения е постигнат значителен напредък в разбирането на молекулните механизми на спорадичния колоректален карцином. Още през 1990 г. Vogelstein описва своя многостепенен генетичен модел, представящ тезата, че натрупването на множество генетични мутации води до селективно растежно предимство на епителните клетки на дебелото черво. Той описва, че общото натрупване на генетични изменения е отговорно за злокачествената промяна. В неговия модел APC мутациите служат като отключващо събитие за образуването на аденом, последвано от натрупването на

множество мутации водещи до колоректален карцином. Според Vogelstein са необходими поне 7 отделни мутации за активиране на туморогенезата.

Както споменахме още в началото, за развитието на колоректален карцином са отговорни три групи гени или три молекулярни генни пътеки.

1. Хромозомна нестабилност – тя е най-често срещаната. Характеризира се с натрупването на числени (анеуплоидии) или структурни хромозомни мутации. Туморите, чиято поява се обуславя от хромозомна нестабилност, се отличават с натрупване на мутации в специфични онкогени (APC, KRAS, PIK3CA, BRAF, SMAD4, TP53) и тумор-супресорни гени. Така се активират критични пътища за генезата на колоректалния карцином.
2. Микросателитна нестабилна група – тя възниква от дисфункция на гените за възстановяване на ДНК. Това е предпоставка за повишена предразположеност към мутации. Микросателитите са повтарящи се нуклеотидни последователности с дължина от 1 до 6 базови двойки. Въмъкванията или заличаванията на микросателитите водят до мутации, измесващи рамката на четене, което може да доведе до прекъсване на протеините. Този тип мутация се среща при наследствения неполипозен карцином на дебелото черво и при 10% от случаите на спорадичен карцином.
3. Хиперметиране на гени – това е епигенетично явление. При повечето спорадични случаи на колоректален карцином преобладава този мутационен механизъм.

От горе посоченото става ясно, че колоректалния карцином не е единична болест, а по-скоро е хетерогенен комплекс от заболявания със сходни характеристики и най-вероятно с една и съща патогенеза и биологично поведение.

Епигенетика на колоректалния карцином

Епигенетиката изучава влиянието на средата върху гените. Ролята на епигенетиката в патогенезата на рака излезе на преден план през последното десетилетие. Сега е установено, че епигенетичните събития могат да бъдат отключващ фактор в патогенезата на колоректалния рак и че те си сътрудничат с генните мутации в промените на *нормалната лигавица на дебелото черво до рак на дебелото черво*, като повече гени в генома на рака на дебелото черво са засегнати от ДНК метилиране, отколкото чрез генни мутации. През 1982 г. аномални епигенетични промени са открити за първи път при колоректален рак. От този момент нататък епигенетичните изследвания разкриват епигенетичен пейзаж, състоящ се от сложен набор от епигенетични регулаторни механизми, които контролират генната експресия както в нормалната тъкан, така и в раковата тъкан. Аберантното (анормалното) ДНК метилиране е най-изследваният аспект на епигенетичните промени в колоректалния

рак и е ясно, че при повечето колоректални ракови заболявания се наблюдава глобално хипометилиране и локално хиперметилиране. Показано е, че аберантно (анормално) ДНК метилиране обикновено се появява в началото на полип-раковата последователност и че тези промени допринасят за иницирането на колоректални ракови заболявания. Има и промени в метилирането, които се появяват по-късно в патогенетичната последователност. За тях се смята, че допринасят за прогресирането на раковите заболявания. Предвид ролята на промененото метилиране на ДНК в насочването на патогенезата на колоректален рак разработването им като биомаркери за диагностициране, прогнозиране и насочване на терапията вероятно ще доведе до клинично полезни анализи, които ще бъдат използвани за насочване на грижите на пациентите. Промените в моделите на ДНК метилиране при колоректален рак допринасят за молекулярната хетерогенност на колоректалния рак, както е илюстрирано чрез идентифицирането на CpG остров метилаторен фенотип (СІМР) подтип на колоректален рак, който има отделен епигеном.

Ето и някои понятия, които трябва да се уточнят:

- ДНК метилиране – представлява ензимно добавяне на метилова група. Този процес е ключов регулатор на генната експресия. Точно по тази причина при много злокачествени новообразувания, този процес е засегнат.
- CpG Island – представлява ДНК последователност с дължина по-голяма от 500 бази. Тези зони припокриват промоторния регион. По принцип те са защитени от метилиране. По тази причина при колоректален карцином се наблюдава аберантното им метилиране, което е свързано с транскрипционно инактивиране.

Епигенетичните промени, като генните мутации, допринасят за патогенезата и молекулярната хетерогенност на тези ракови заболявания. Това се подчертава от идентифицирането на CpG остров метилаторен фенотип (СІМР) подтип на колоректален рак, който има отделен епигеном с висока честота на метилирани гени. Класическият възглед за рака е, че той възниква вследствие на натрупването на мутации в ключови гени или онкогени, които дерегулират хомеостатичните функции и причиняват трансформирането на нормалните клетки в ракови клетки. Епигенетичните механизми, за които се смята, че играят роля в рака, включват:

1. ДНК метилиране на цитозинови бази в последователности, наречени CpG Islands;
2. пост-транслационни модификации на хистони, които са протеини, които образуват нуклеозомите, които регулират структурата на опаковката на ДНК (наречена хроматин);
3. микроРНК и некодиращи РНК;
4. нуклеозомно позициониране.

От казаното до тук става ясно, че генетичните мутации и промените в епигенетиката заемат централно място в патогенезата на туморните заболявания. Изучаването им заедно с генетичните мутации създава нови хоризонти за лечение на колоректалния и на други карциноми.

Библиография:

1. A, Yagi K. Two groups of DNA methylation markers to classify colorectal cancer into three epigenotypes. *Cancer Sci.* 2011;102:18–24
2. Armaghany T, Wilson JD, Chu Q, Mills G. Genetic Alterations in Colorectal Cancer. *Gastrointestinal Cancer Research : GCR.* 2012;5(1):19-27.
3. Bisgaard ML, Fenger K, Bulow S, Niebuhr E, Mohr J. Familial adenomatous polyposis (FAP): frequency, penetrance, and mutation rate. *Hum Mutat.* 1994;3:121–125
4. Bogaert J, Prenen H. Molecular genetics of colorectal cancer. *Annals of Gastroenterology.* 2014;27(1):9-14.
5. Bulow S, Bjork J, Christensen IJ, et al. Duodenal adenomatosis in familial adenomatous polyposis. *Gut.* 2004;53:381–386.
6. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular characterization of human colon and rectal cancer. *Nature.* 2012;487:330–337
7. Giardiello FM, Trimbath JD. Peutz-Jeghers syndrome and management recommendations. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2006;4:408–415.
8. Groves CJ, Saunders BP, Spigelman AD, Phillips RK. Duodenal cancer in patients with familial adenomatous polyposis (FAP): results of a 10 year prospective study. *Gut.* 2002;50:636–641
9. Half E, Bercovich D, Rozen P. Familial adenomatous polyposis. *Orphanet J Rare Dis.* 2009;4:22
10. Hisamuddin IM, Yang VW. Genetics of Colorectal Cancer. *Medscape General Medicine.* 2004;6(3):-
11. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61:69–90.
12. Knudsen AL, Bisgaard ML, Bulow S. Attenuated familial adenomatous polyposis (AFAP). A review of the literature. *Fam Cancer.* 2003;2:43–55
13. Prenen H, Vecchione L, Van Cutsem E. Role of targeted agents in metastatic colorectal cancer. *Target Oncol.* 2013;8:83–96.
14. Theodoratou E, Campbell H, Tenesa A, et al. A large-scale metaanalysis to refine colorectal cancer risk estimates associated with MUTYH variants. *Br J Cancer.* 2010;103:1875–1884.
15. Weisenberger DJ, et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet.* 2006;38:787–793.
16. Weisenberger DJ, et al. DNA methylation analysis by digital bisulfite genomic sequencing and digital MethyLight. *Nucleic Acids Res.* 2008;36:4689–4698.

Science & Technologies

17. Zeichner SB, Raj N, Cusnir M, Francavilla M, Hirzel A. A de novo germline APC mutation (3927del5) in a patient with familial adenomatous polyposis: case report and literature review. Clin Med Insights Oncol. 2012;6:315–323
18. проф. Драга Тончева, „Медицинска генетика в постгеномната ера“, София 2010