

Podstata nádorové transformace buněk a etiopatogeneze nádorů

Kontrola buněčného cyklu
Nádorová transformace
Interakce nádoru a organismu
Metastazování



1

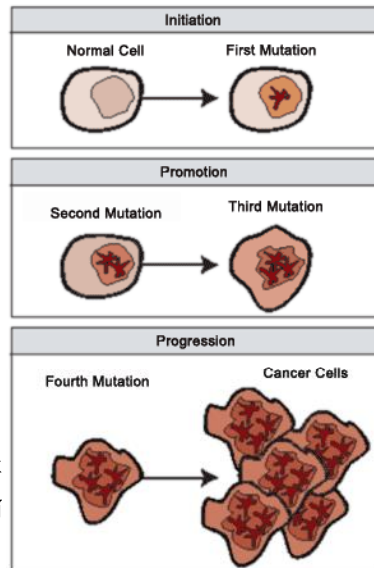
Nádory (tumory) - základní fakta

- Nádor je patologický stav (nemoc) v důsledku **porušené kontroly buněčného cyklu**
 - růst a dělení buněk je fyziologicky vysoce regulovaný proces podřízený zájmu mnohobuněčného organismu !!!
 - nádorová buňka se chová jako nezávislá jednotka
- Příčinou porušené regulace je genetická změna zpočátku nejčastěji v 1 či několika málo buňkách
 - ale! náš genom je neustále atakován **mutageny**, naprostá většina mutací je však neškodná. ti. opraví se nebo se týká genů, které nejsou kritické pro regulaci b. dělení
- poškozená buňka může být
 - somatická (jakákoliv buňka těla)
 - naprostá většina nádorů, náhodné, bez zjevné rodinné anamnézy, tzv. **sporadické**
 - germinativní (vajíčko či spermie)
 - dědičně predisponovány, průkazná rodinná anamnéza, tzv. **familiární**

2

Nádory (tumory) - základní fakta

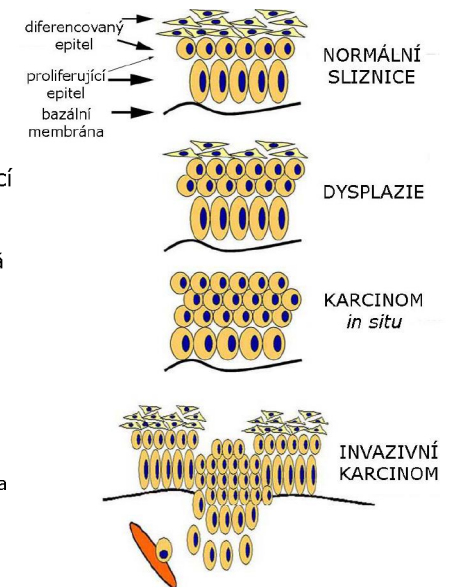
- buňky vycházející z patologického klonu se **nekontrolovaně množí** (různě rychle) a posléze event. šíří i na další sekundární místa (metastázy)
 - podle rychlosti proliferace rozlišujeme nádory
 - benigni** – většinou rostou jen v místě vzniku, nejsou agresivní, zachovávají si diferenciaci
 - maligní** – rostou rychle, invazivně a šíří se na další místa, nediferencované
- všechny nádory jsou důsledkem **genetické poruchy klíčových genů kontroly buněčného cyklu** (tj. růst, DNA replikace, kontrola, oprava, apoptóza)
 - (proto)onkogenů** – normálně podporují (po stimulaci) dělení a růst buněk, pokud jsou mutovány, dělení je spontánní a nekontrolované
 - supresorových genů** – normálně v případě potřeby zastavují b. dělení a iniciují opravu či apoptózu, pokud jsou mutovány, umožňují propagaci neopravených mutací a rezistenci k apoptóze
 - DNA reparačních genů** – normálně opravují v molekule DNA opravitelné změny. pokud jsou mutovány neopravená změna může být přenesena do dceřných bb.



3

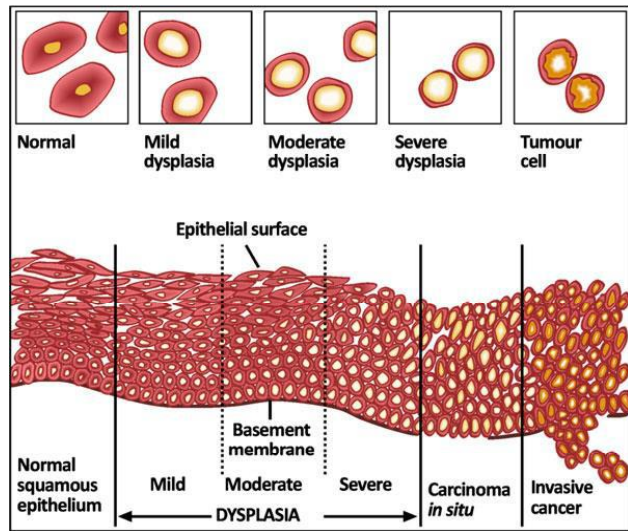
Nádory (tumory) - základní fakta

- Genetická změna může vzniknout
 - (1) chybou při DNA replikaci a dělení buňky
 - (2) působením zevních faktorů (**karcinogenů**)
 - fyzikálních – např. UV a ionizující záření
 - chemických – organické látky, toxiny, těžké kovy, ...
 - biologických – některé RNA a DNA viry
- Nádor zpravidla původně vychází z mutací 1 buňky (**monoklonální**)
 - proces nádorové transformace je ovšem **vicestupňový** (tj. postupná kumulace několika mutací), takže se postupně stává geneticky **heterogenní**
 - nádor přechází ze stadia prekancerózy (metaplazie, dysplazie), přes benigní až k malignímu
- Histologicky – tj. podle toho z jaké tkáně pochází – rozlišujeme 3 sk.
 - epiteliální
 - kůže, sliznice, výstelky vývodů
 - papilom, adenom (b.), karcinom (m.)
 - mesenchymální
 - pojivo, endotel, sval, tkáň, hematopoetická a lymfatická tkáň, kosti
 - fibrom, hemangiom, myom (b.), sarkom, lymfom, leukemie (m.),
 - neuroektodermové
 - CNS a periferní nervy, pigmentové névy
 - astrocytom, gliom, neuroblastom, neurinom, melanom



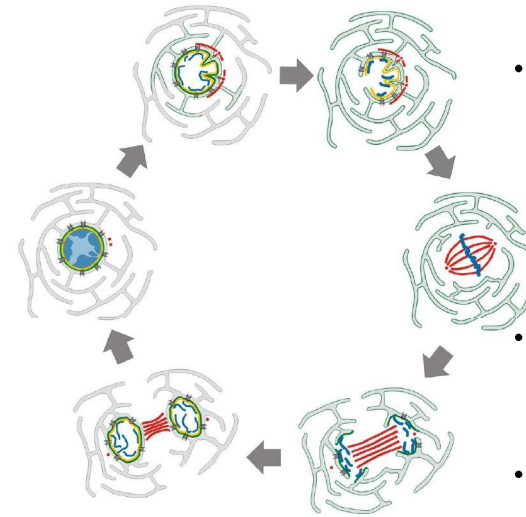
4

Postupná změna buněčného fenotypu



5

Buněčný cyklus



- buněčný cyklus (4 fáze)
- cyklická souhra reakcí zajišťujících růst buňky (G1- a G2 -fáze), DNA replikaci (S-fáze) a mitózu (M-fáze)
- b. cyklus probíhá při
 - bezchybném provedení jednotlivých kroků
 - správnost reakcí je kontrolována ve 3 kontrolních bodech
 - v G1-fázi - po skončení předcházející M-fáze a před S-fází
 - v G2-fázi - po skončení replikace
 - v M-fázi (metafáze)
 - dostatku energetických substrátů
 - dostatku zevních (mitogenních) stimulů
 - růstové faktory a mezibuněčná signalizace
- přirozeně je inhibován (bb. v G₀-fázi)
 - kontaktní inhibicí
 - produkty supresorových genů
 - inhibitory cdc (např. p21)
 - nedostatkem růstových faktorů
- porucha regulace → **nádorové bujení**

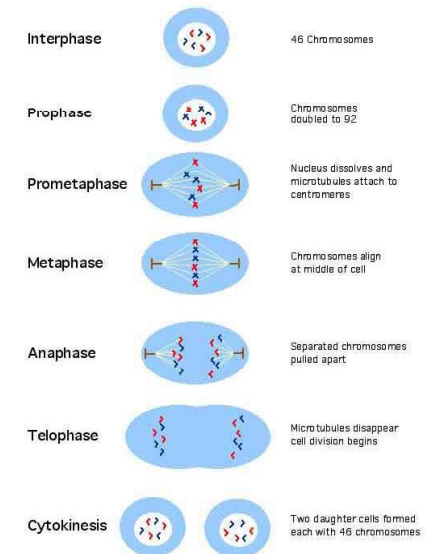
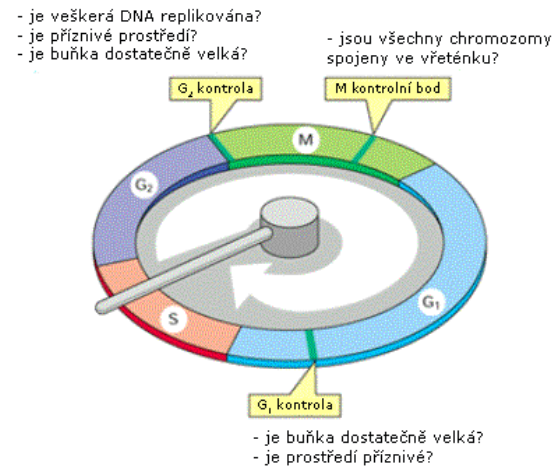
6

Jednotlivé fáze b. cyklu

G₀-fáze	Klidová fáze buněčného cyklu, ve které buňka plní své základní funkce a udržuje bazální metabolismus.
G₁-fáze	Interval mezi ukončením mitózy a začátkem syntézy DNA, probíhá intenzivní syntéza všech typů RNA v jádře, v cytoplasmě probíhá proteosyntéza a buňka roste. Délka G ₁ -fáze obvykle určuje délku celého buněčného cyklu. G₁/S kontrolní bod (je DNA intaktní?).
S-fáze	V jádře probíhá replikace DNA a v cytoplasmě jsou syntetizovány histony (obvykle trvá 10-12 hod). Po ukončení S-fáze buněčné jádro obsahuje dvojnásobné množství DNA.
G₂-fáze	Interval mezi koncem syntézy DNA a začátkem mitózy, je typický dalším růstem buňky, proteosyntézou, přičemž ve zvýšené míře je syntetizován tubulin a další proteiny sloužící k výstavbě mitotického aparátu. V G ₂ -fázi cyklu probíhá kontrola ukončení DNA replikace před vstupem do mitózy - G₂ kontrolní bod (je DNA kompletně a správně replikovaná?).
M-fáze	Mitotické dělení sestává z řady na sebe navazujících změn, které dělíme do 6 fází, z nichž prvních pět (profáze, prometafáze, metafáze, anafáze, telofáze) představuje dělení jádra. Šestou fází je vlastní rozdělení buňky neboli cytokineze. M ("spindle") kontrolní bod (je mitotické vřeténko správně vytvořeno?).

7

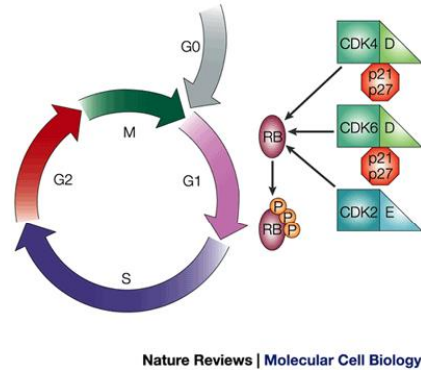
Kontrolní body b. cyklu / mitóza



8

Regulační proteiny b. cyklu

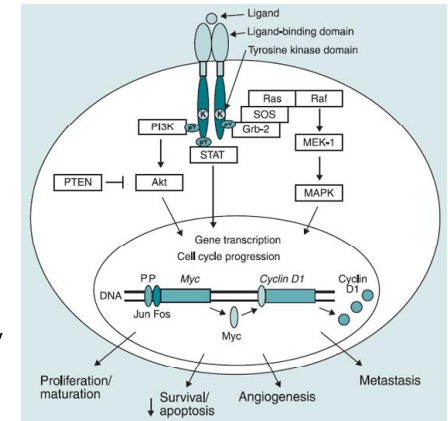
- (A) produkty (proto)onkogenů
 - růstové faktory
 - receptory růstových faktorů
 - G-proteiny
 - membránové tyrozinkinázy (např. Abl)
 - cytoplasmatické signální proteiny (např. Raf)
 - transkripční faktory (např. jun, fos, myc)
 - cykliny
 - cyklin-dependentní proteinkinázy (cdk)
- (B) produkty supresorových genů
 - Rb
 - p53
 - p21
 - ...
- (C) produkty genů kódujících DNA reparační enzymy
 - mismatch reparační
 - excisní reparační
 - homologní rekombinace



9

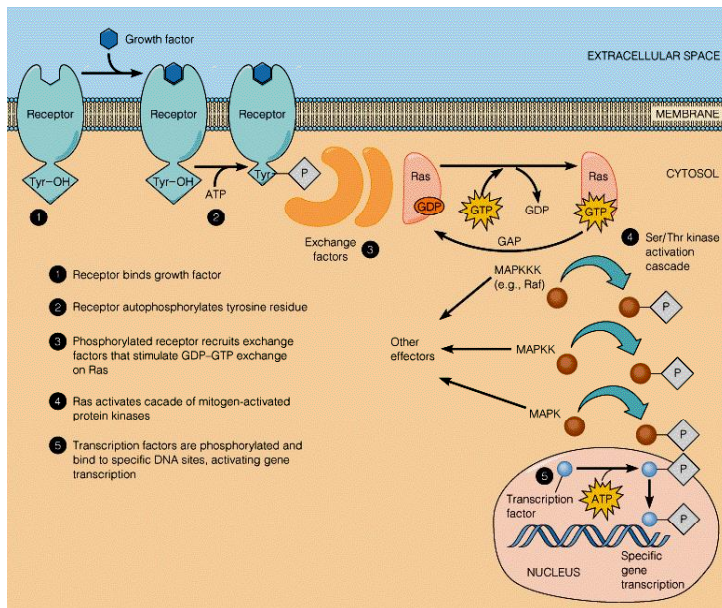
(A) Protoonkogeny

- růstové faktory**
 - působí ve velmi malých koncentracích, většinou parakrinně, tkáňově specificky
 - např. TGF-β, PDGF, EGF, VEGF, ...
- receptory růstových faktorů**
 - extracelulární, transmembránová a intracelulární doména
 - tato často s tyrozinkinázovou aktivitou
- G proteiny**
- další cytoplasmatické faktory**
 - Tyr-kinázy (Src, Abl, ...)
 - GTP-ázy (Ras)
 - Ser/Thr-kinázy (Raf)
 - hierarchicky nejvyšší MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) → aktivace dalších MAPK kináz a transkripce genů – transkripčních faktorů
 - tzv. geny "časné" odpovědi (cca 15 min)
- transkripční faktory/ geny "časné" odpovědi**
 - např. proteinů fos, jun a myc (produkty protoonkogenů fos, jun a myc)
 - stimulují expresi genů „genů pozdní odpovědi“
- geny "pozdní" odpovědi (cca 1 hod) - cykliny**
 - jejich exprese stimulována pomocí "časných" proteinů fos, jun, myc aj.
- cyklin-dependentní kinázy (cdk)**
- anti-apoptické faktory**
 - např. Bcl-2, Bcl-X



10

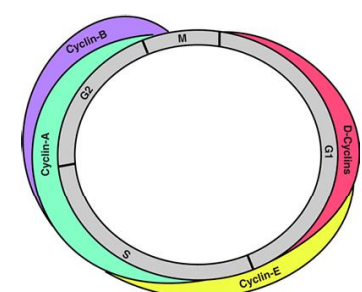
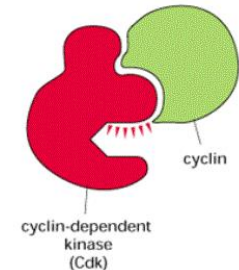
(A) Protoonkogeny - shrnutí



11

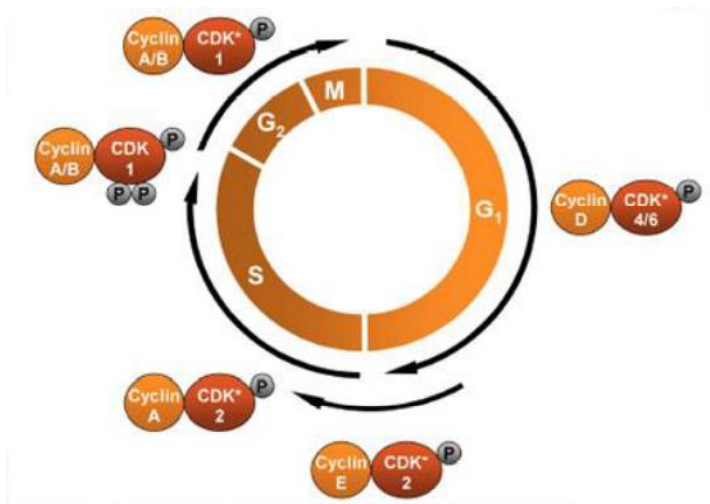
(A) Protoonkogeny - pokračování

- cykliny**
 - 8 typů – A, B, C, D, E, F, G, H
 - specifické pro jednotlivé fáze cyklu
 - např. Cdk2 + cyklin E v G1 fázi
- cdk (cyclin-dependent kinases)**
 - 9 typů – cdk1 – cdk9
 - pouze komplex cdk s cyklinem je aktivní
 - fosforylují seriny a threoniny cílových proteinů a aktivují je
 - např. fosforylace Rb-protein v G1 fázi → iniciace DNA replikace (S fáze)
 - součástí komplexů cyklin/cdc jsou inhibitory cdc (např. p21), teprve jejich proteolýza umožňuje aktivitu komplexu
 - zatímco hladina cdk zůstává během cyklu y podstatě konstantní, exprese cyklinů se liší
 - je striktně kontrolována podle potřeb okolní tkáně!!!**



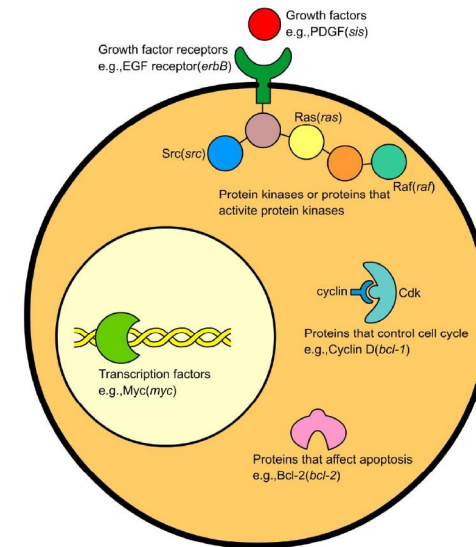
12

Souhra cyklínů – cdk



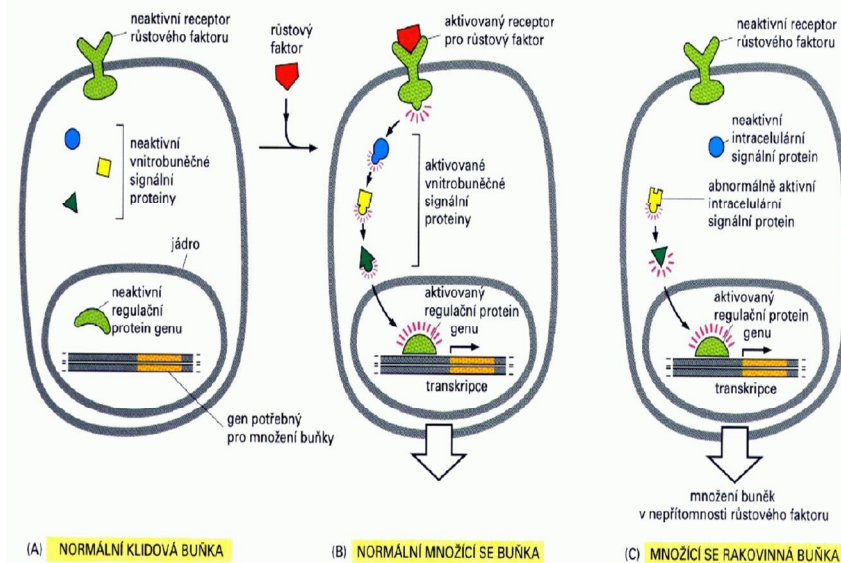
13

Shrnutí protoonkogenů



14

Důsledek mutací protoonkogenů



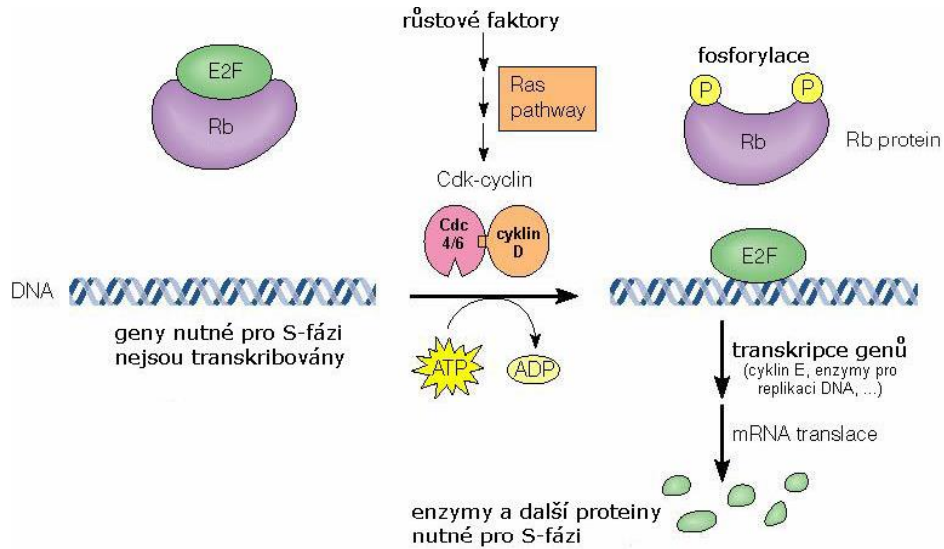
15

(B) Supresorové geny

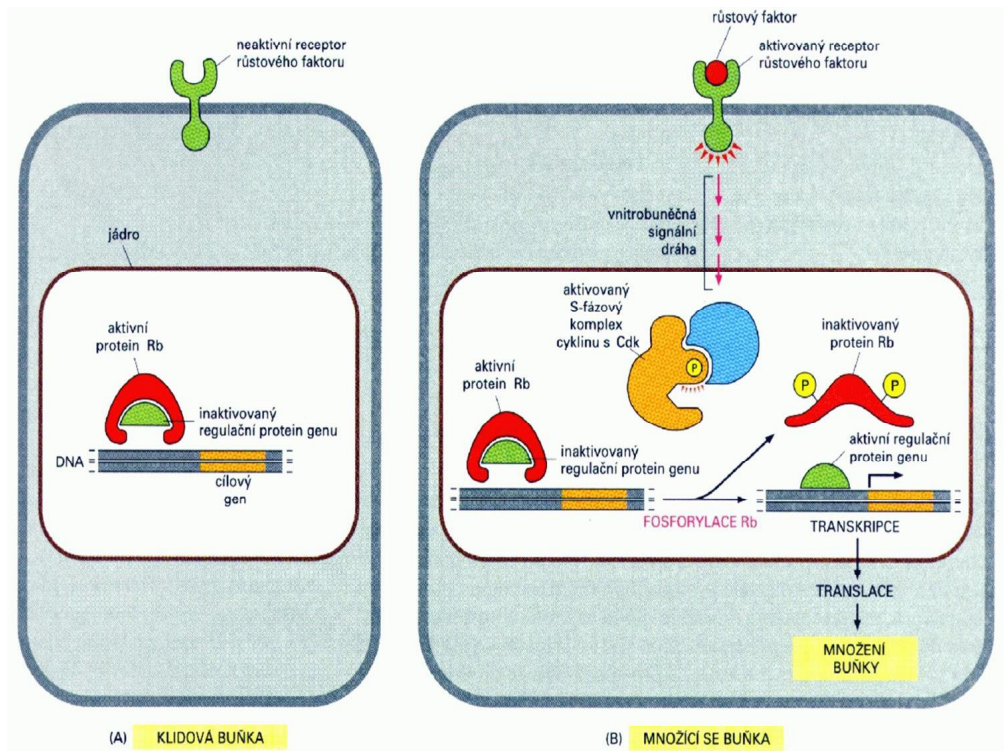
- kódují inhibiční proteiny zastavující b. cyklus, zahajující DNA reparaci a iniciující apoptózu
- **(1) Rb protein** (ch. 13q14)
 - tzv. protein s kapsou (angl. pocket protein family)
 - hl. negativní regulátor b. cyklu řídí přechod z G1- do S-fáze, aktivita řízena de-/fosforylací (pomocí cdk4/6 + cyklin D)
 - mutace Rb (neří. mikrodelační) vedou ke vzniku retinoblastomu (nádor sítnice) a mnoha dalším tumorů
- **(2) p53 protein** (ch. 17p13)
 - "strážce genomu" – kontrola cyklu v G1 a G2 kontrolních bodech
 - při poškození DNA se zvyšuje exprese p53
 - funguje jako **transkripční faktor** genů reparace DNA a apoptózy
- **(3) inhibitory cyklin-dependentních kináz** (např. p21, p27, p16, ...)
 - p21 je hl. cílový gen p53 = inhibitor Cdk – zastavení cyklu v G1 fázi inhibicí Cdk2/cyklin E komplexu
- **(4) pro-apoptické**
 - rodina genů Bcl (Bax, Bak, Bad, ...)
- **(5) další** např. inhibiční transkripční faktory, M-kontrolní bod cyklu, Wnt dráha aj.
 - FOXO, SMAD, APC,
- mutace v supresorových genech jsou podkladem dědičných typů nádorových onemocnění
 - často názvy podle typu nádoru, který vzniká při jejich mutaci, např.
 - Rb (retinoblastom)
 - WT (Wilmsův tumor)
 - NF1 a NF2 (neurofibromatóza)
 - APC (adenomatózní polypóza coli)
 - VHL (von Hippel-Lindau syndrom)

16

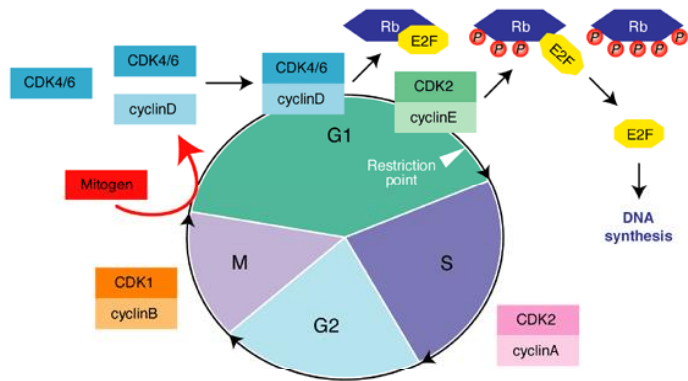
Rb protein (Rb/E2F G₁ checkpoint)



17



Shrnutí – nastartování b. cyklu

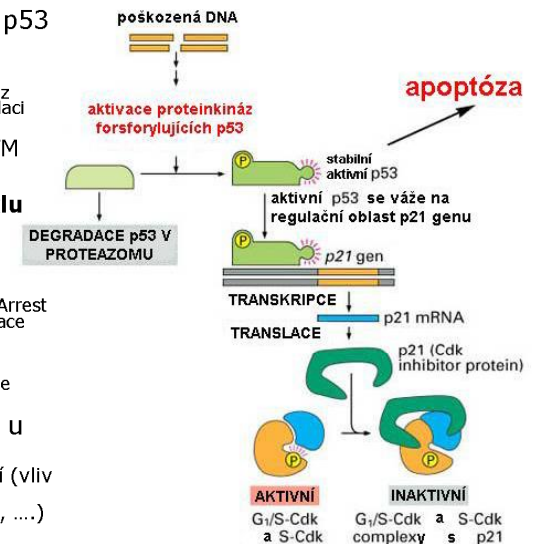


- mitogeny startují b. cyklus indukci cyklinu D a inaktivací Rb proteinu
 - průběh cyklu je koordinován postupnou aktivací jednotlivých CDKs a jejich podjednotek – cyklinů (oscilujících mezi rychlou syntézou a degradací)
 - exprese cyklinu D (a do určité míry cyklinu E) indukovaná mitogeny představuje začátek cyklu (neplatí pouze u embryonálních kmenových bb.)
 - cyklin D- a cyklin E-dependentní kinázy fosforylují a tak blokují Rb protein, hl. kontrolní bod přechodu G₁ do S fáze
 - inaktivace Rb proteinu představuje moment, kdy b. cyklus přestává být závislý na mitogenech
 - inaktivací Rb se uvolní E2F transkripční faktory, které stimulují expresi dalších cyklinů a ostatních genů nutných pro DNA syntézu

19

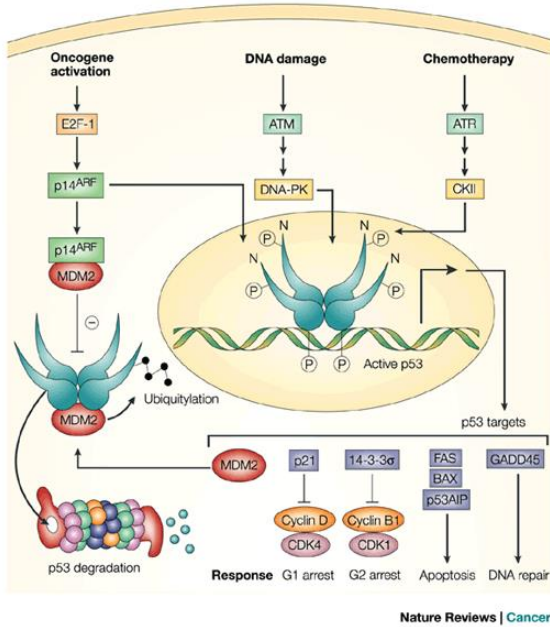
Protein p53 (ch. 17p13)

- jaderný protein, aktivní jako fosforylovaný tetramer s funkcí transkripčního faktoru
- při poškození DNA se aktivuje p53
 - stabilizací = ↓ ubiquitin ligázy MDM2
 - MDM2 jinak vede k transportu p53 z jádra, ubiquitylaci a rychlé degradaci proteasomem
 - fosforylací prostřednictvím ATM
- p53 dále zprostředkuje:
 - expresi **inhibitorů b. cyklu**
 - p21 → dočasné zastavení b. cyklu v G₁/S kontrolním bodě, které umožní reparaci DNA
 - pokus o **reparaci DNA**
 - zvyšuje expresi GADD 45 (Growth Arrest and DNA Damage) → excizní reparace DNA
 - apoptóza**
 - pokud není oprava úspěšná, zvyšuje expresi Bax
- mutace p53 jsou přítomny cca u 50% všech nádorů!!!
 - jejich efekt je ale velmi komplexní (vliv na tvorbu tetrameru, fosforylaci, migraci, degradaci, vazbu na DNA, ...)



20

p53 tumor suppression

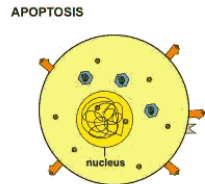


- obsah p53 v buňce je normálně kontrolován negativní zpětnou vazbou = p53 reguluje transkripci MDM2, která iniciuje degradaci p53
- Ve stresu je (= aktivace onkogenu) v buňce je indukován p14^{ARF}, který sekvestruje MDM2
 - brání tak ubiquitylaci a degradaci p53 proteasomem
- poškození DNA (popř. chemoterapie) aktivuje proteinkinázy jako např. ATM a ATR, které prostřednictvím DNA-dependentních proteinkinázy (DNA-PK) a caseinkinázy II (CKII), fosforylují 'N-konec p53 a zabráňují vazbě MDM2 a dále C-konec p53, což zesiluje sekvencně specifickou vazbu p53 na DNA
- tyto procesy zvyšují p53 hladinu a aktivují jeho transkripční aktivitu na cílové geny p53, jako např.
 - p21 a 14-3-3 způsobující zástavu cyklu v G1 a G2 kontrolních bodech inhibiči cyklné proteinkinázy (CDK) aktivity
 - FAS, BAX a p53AIP způsobující apoptózu v případě, že není možná oprava DNA
 - GADD45 zahajující opravu DNA

Nature Reviews | Cancer

Apoptóza

- forma aktivní (snářehovavá energie) řízené buněčné smrti postihující izolované buňky = „programovaná buněčná smrt“
- indukce
 - vnější cesta (receptorová dráha)**
 - DEATH receptory (FAS, TNFR) a jejich ligandy (TNFα, LTA, TRAIL) = DISC (death-inducing signalling complex)
 - Tc lymfocyty a NKbb (granzyme)
 - absence růstových stimulů
 - vnitřní cesta (nereceptorová) - zásadní úlohu mají mitochondrie**
 - ROS, hypertermie, poškození DNA, hypoxie, hladovění, ...
 - permeabilizace mitochondriální membrány (Bax, ...), uvolnění cytochromu c a Ca
 - v cytoplazmě tvorba apoptozomu - cytochrom c + Apaf + ionty Ca a aktivace "horních" kaspáz (procaspase 9)
- obě cesty konvergují na úrovni kaspázy 3, na regulaci obou drah se podílí členové rodiny Bcl
 - anti-apoptotické (Bcl-2, Bcl-X, ...)
 - pro-apoptotické (Bax, Bak, Bad, ...)
- realizace apoptózy
 - kaspázy (cysteinové aspartázy)
 - horní kaspázy (receptorová cesta k-8, nereceptorová k-9)
 - dolní kaspázy (-3, -6, -7)
 - substráty: cytoskelet, membránové proteiny
 - endonukleázy
 - fragmentace DNA
- morfologie apoptózy
 - zakulacení buňky
 - budding
 - apoptotická tělíska

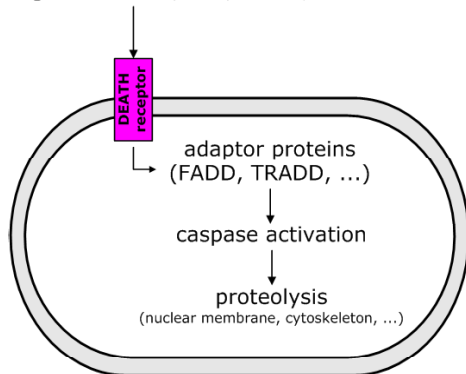


22

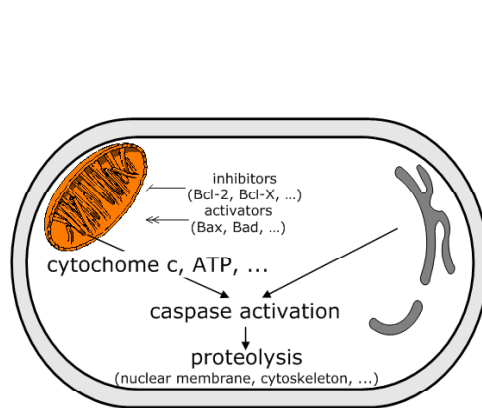
Dráhy aktivace apoptózy

EXTRINSIC PATHWAY

ligands: TNF-α, LTA, TRAIL, Fas-L



INTRINSIC PATHWAY - mitochondria-related ER-related



23

Tvorba apoptozomu a konvergence drah

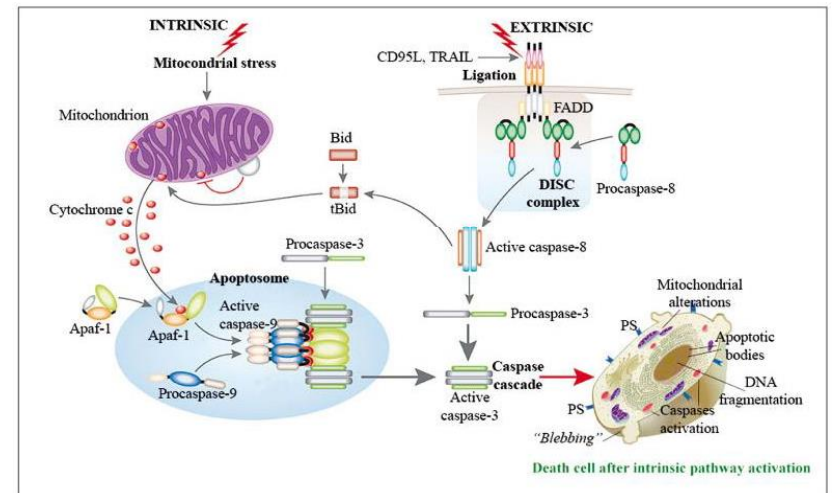
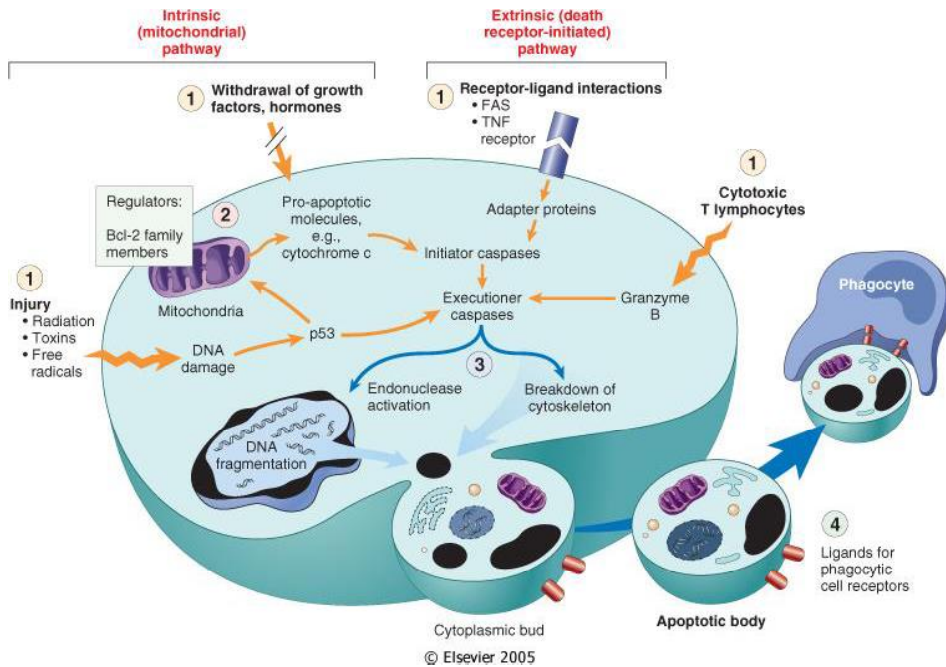


Fig. 3. Apoptotic pathways: the extrinsic pathway involves so-called death receptors (CD95, TRAIL); the intrinsic one involves mitochondrial granules. Both pathways converge at caspase-3 activation, where classic biochemical and morphological changes in association with the apoptotic phenotype are originated.

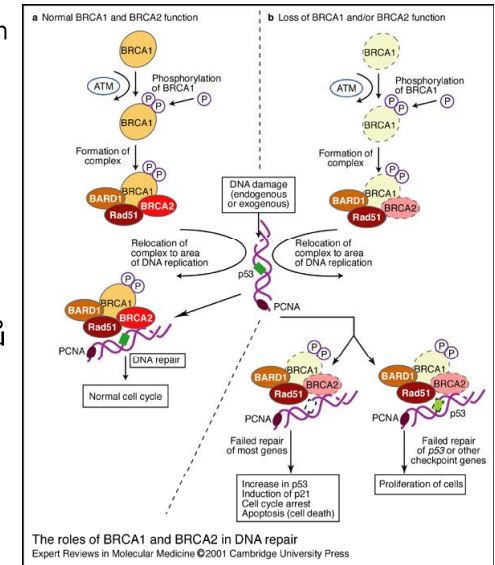
24



25

(C) DNA reparační geny

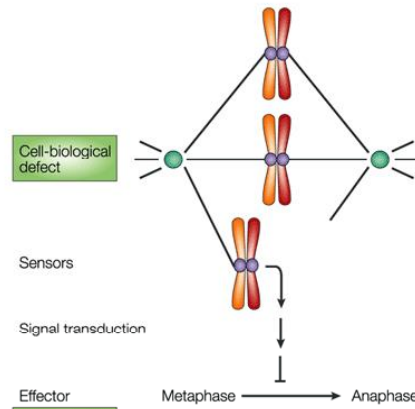
- (1) geny reparace chybného párování ("mismatch repair")
 - nestabilita délky mikrosatelitových lokusů (např. **HNPCC** = Hereditary Non-Polypous Colon Cancer)
- (2) geny excizní reparace
- (3) geny homologní rekombinace
 - hlavní dráha aktivovaná při poškození DNA (double strand break) zahrnuje:
 - **BRCA1 a BRCA2**
 - **ATM, ATR** – jinázy
 - **CHK1 a 2** – checkpoint kinázy
 - ATM, ATR/CHK2 (CHK1) → p53/MDM2 → p21 → "growth arrest"
- vrozená porucha reparačních genů je podkladem několika dědičných typů nádorových onemocnění
 - ataxia telangiectatica
 - Bloomův syndrom
 - Fanconiho anemie
 - xeroderma pigmentosum
 - syndrom fragilního X



26

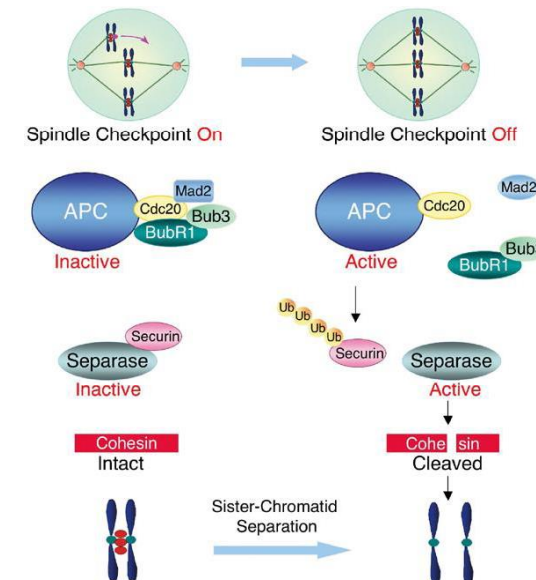
Kontrola dělicího vřeténka v mitóze

- naprostá většina nádorových buněk vykazuje aneuploidii
 - důsledek selhání kontroly v M-fázi (mitotic spindle checkpoint) = **non-disjunkce chromozomů**
- přispívá k chromozomové nestabilitě a další kancerogenezi
 - zvýšení dávky onkogenu, ztráta supresoru, ...
- marker nepříznivé prognózy
- pro tento mechanismus svědčí i empirické pozorování, že riziko nádorů je zvýšeno u syndromů konstitutivní aneuploidie (např. Downův syndrom, ...)
- na M-kontrolu se podílí supresor APC
 - mutován u familiárního syndromu mnohočetné polypózy střeva



27

Role APC při disjunkci chromozomů



28

Proces nádorové transformace

- na nádorové transformaci se podílejí mutace v kritickém místě DNA podílející se na regulaci b. cyklu v důsledku
 - působení mutagenů / karcinogenů
 - spontánní chybou při replikaci
- mutace, která má karcinogenní potenciál, vede k:

- hyperaktivaci protoonkogenů** (transformace na onkogeny)

- „gain of function“ = dominantní efekt (tj. k vyvolání efektu stačí když je jedna alela genu mutována)

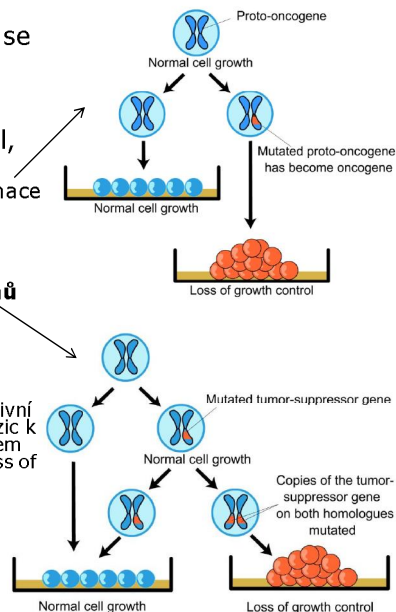
- inaktivaci supresorů či reparačních genů**

- „loss of function“ = recesivní působení (tj. k vyvolání efektu musí být obě alely genu inaktivovány)

- mohou být mutovány sporadicky v somatické buňce

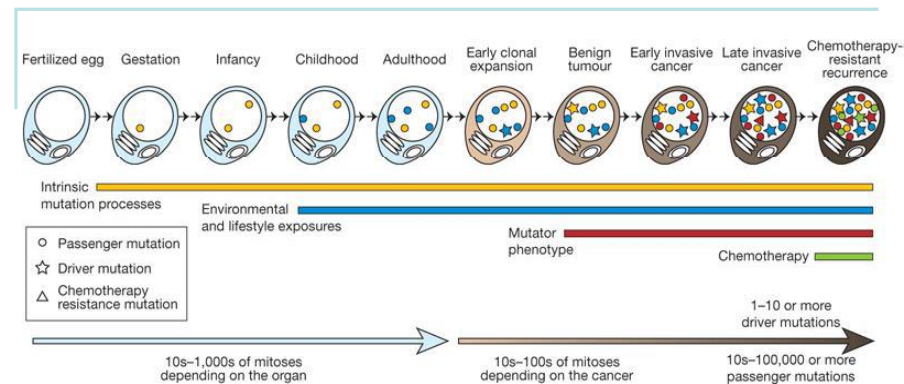
- anebo jedna alela je dysfunkční již v germinativní buňce (viz dále syndromy dědičných predispozic k nádor. onemocněním) a druhá mutována během života (tzv. **ztráta heterozygosity**, LOH, „loss of heterozygosity“)

- náhodnou mutací
- genovou konverzí (pokus o reparaci)
- non-disjunkci při mitóze



29

Somatic cell mutations: an example Sporadic colorectal cancer



The lineage of mitotic cell divisions from the fertilized egg to a single cell within a cancer showing the timing of the somatic mutations acquired by the cancer cell and the processes that contribute to them.

MR Stratton *et al. Nature* 458, 719-724 (2009)

nature

Typy DNA mutací a jejich důsledky

bodové mutace

- tichá (silent) = bez efektu (vzniká alternativní kodon, při translaci stejná AK)
- nesynonymní (missense) = jiná AK a tudíž možná změna funkce proteinu (hyper- či inaktivace)
- vznik stop-kodonu (nonsense) = ukončení translace proteinu (zkrácený nefunkční protein)
- mutace v regulačních oblastech genů (zejm. promotory) = kvantitativní efekt na transkripci

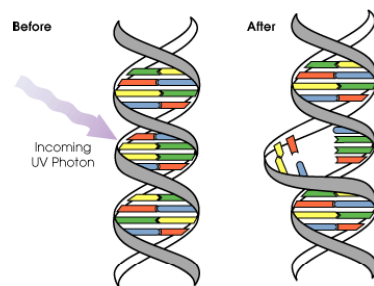
Wild type allele:
M D D Q S R M L Q T L A G V N L
atggacgatcaatccaggatgctgagactctggccggggtgaacctg

silent (third base pair) mutation:
M D D Q S R M L Q T L A G V N L
atggacgatcaatccaggatgctgcaactctggccggggtgaacctg

point mutation (missense):
M D D Q S R M L K T L A G V N L
atggacgatcaatccaggatgctgagactctggccggggtgaacctg

point mutation (nonsense):
M D D Q S R M L stop
atggacgatcaatccaggatgctgagactctggccggggtgaacctg

frameshift leading to premature termination:
M D D Q S R M L R L W P G stop
atggacgatcaatccaggatgctgagactctggccggggtgaacctg

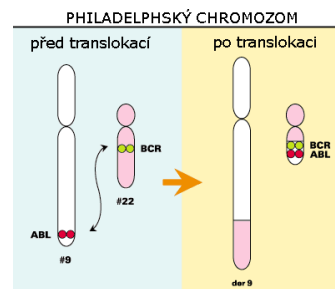


31

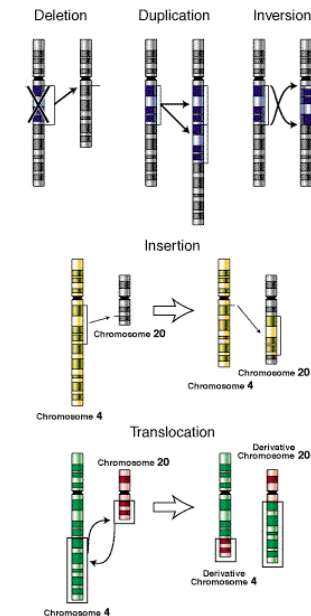
Typy DNA mutací a jejich důsledky

chromozomové aberace

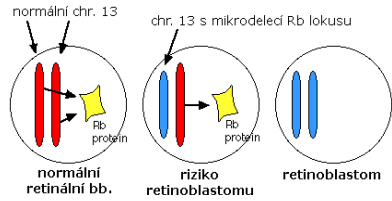
- delece = zánik funkce proteinu (např. supresoru)
- duplikace = zdvojení dávky (např. protoonkogeny)
- translokace = možný vznik fúzního genu
 - velmi časté u hematologických malignit
 - část genu (např. protoonkogeny) se dostane do regulační oblasti jiného genu (např. trvale exprimovaného)



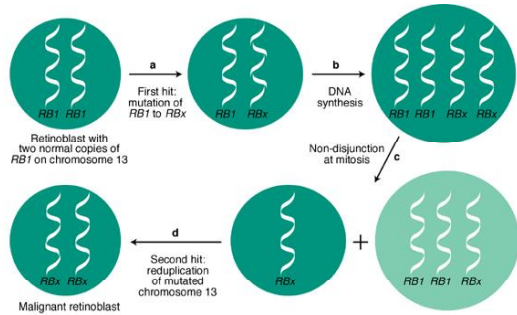
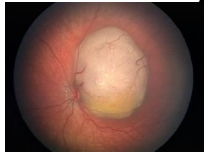
32



LOH - příklad: retinoblastom



- mikrodelece v oblasti chr. 13q14 vedou k poruše tumorsupresoru Rb

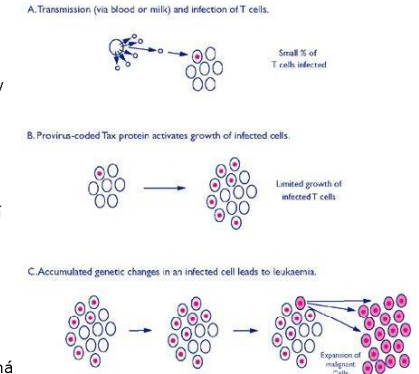


- (1) vrozený – familiární retinoblastom
 - pacient zdědil jednu mutovanou alelu. druhá mutace brzy v průběhu života
 - ztráta vrozené heterozygosity (LOH)
- (2) získaný – sporadický retinoblastom
 - inaktivace Rb mutacemi či LOH obou alel v průběhu života

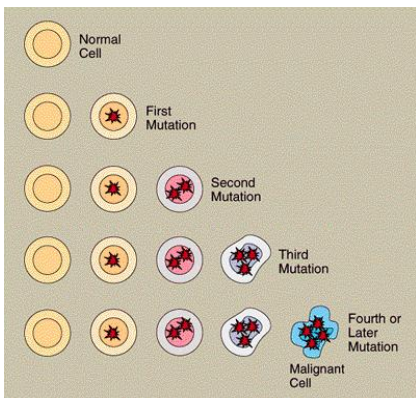
Mutageny / karcinogeny

- **fyzikální**
 - UV (karcinom a basaliom kůže, melanom)
 - ionizující záření a RTG záření (leukemie, št. žláza, kosti, ...)
- **chemické**
 - polycyklické aromatické a chlorované uhlovodíky, aromatické aminy, nitrosaminy, těžké kovy, mykotoxiny
 - některé jsou toxické až po metabolické transformaci v organismu, popř. při tepelném zpracování (potrava)
 - nádory GIT jako důsledek expozice karcinogenům v dietě
 - nádory plic jako důsledek kouření
 - alkoholická cirhóza – hepatocelulární ca
- **biologické** = viry
 - inkorporace virového genomu do hostitelského, opět v kritických místech
 - RNA viry – retroviry (aktivace vlastních nebo vnesení virových onkogenů)
 - např. B-lymfom
 - inaktivace supresorů
 - DNA viry (herpes, EBV, hepadnaviry, papilomaviry, adenoviry)
 - např. B-lymfomy, hepatocelulární ca, ca děložního čípku, hrtanu, ústní dutiny
 - nepřímý efekt
 - zvýšení citlivosti k mitogenům - HTLV (vlastobuněčná T-buněčná leukemie) – ↑ exprese receptorů IL2
 - imunodeficience - HIV (Kaposiho sarkom)
- **chronická iritace tkáně zánětem**
 - např. Baretův jícen při GER, ulcerózní kolitida, Crohnova nemoc, celiakie, divertikulitida

Figure 2.2: HTLV1 retrovirus and adult T-cell leukaemia



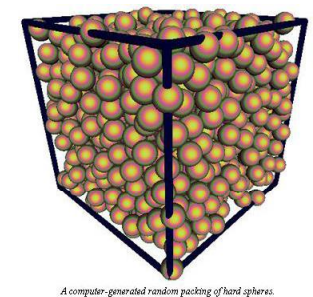
Nádorová transformace je vždy několikastupňový proces



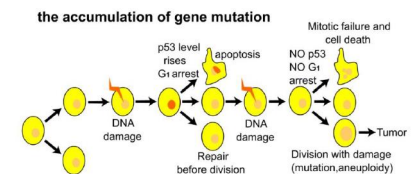
- postupná kumulace změn v genomu
 - typicky 6 – 10 mutací nutných v přechodu z normálního do nádorového fenotypu
 - přes stadium prekanceróz
- trvá určitou dobu
 - proto incidence nádorů roste s věkem
 - čím mladší věk manifestace, tím je pravděpodobnější je určitý stupeň vrozené dispozice

Růst tumoru

- naše tělo složeno z cca 10^{14} buněk
 - denně se obměňují biliony buněk !!!
 - při jednom dělení vzniká nově 6 bilionů nukleotidů (= cca 700 kg materiálu)
 - při takovém počtu dělení samozřejmě nastává mnoho chyb, ale kupodivu nádor se vyvine jen u cca 1/3 lidí
 - odstraňování poškozených bb. imunitně, apoptózou, odloučením restrikce dělení zevními podmínkami
- dělení v klonu nádorových buněk: $N=2^n$
 - 2, 4, 8, 16, 32,
 - 10 dělení = ~1 000 bb.
 - 20 dělení = ~1 000 000 bb. (m = 1 mg)
 - 30 dělení = ~1 000 000 000 bb. (m = 1 g)
 - 40 dělení = m = 1 kg
 - při 12-ti hodinovém h. cyklu za zhruba 20 dní
- ve skutečnosti je výsem růst nádoru mnohem pomalejší - dělení × zánik buněk
 - prodlužování trvání b. cyklu
 - neproliferující frakce bb. (diferencované)
 - zánik bb. (malnutrice, lymfocytů)
 - mechanické ztráty bb. (odlupování např. ve střevě)
- podmínkou růstu je vytvoření nádorového stromatu a kapilární sítě (**angiogeneze**)
 - nak převažuje proliferace nad zánikem buněk

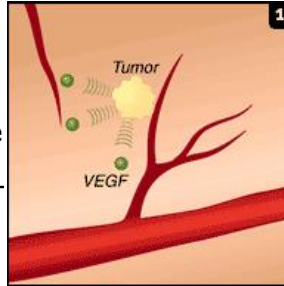


A computer-generated random packing of hard spheres.



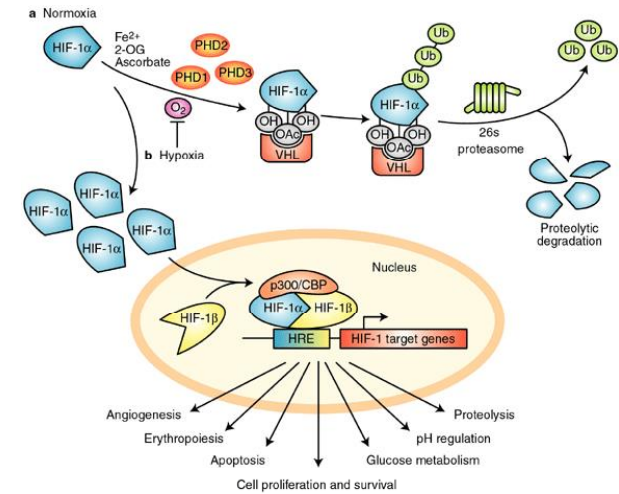
Růst tumoru: další faktory ovlivňující b. cyklus

- metabolismus = **potřeba energie** (kyslík a substráty)
 - buněčná masa velikosti okolo 1mm^3 (cca 1×10^6 buněk) není bez vaskularizace schopná dále růst (proliferace je v rovnováze s apoptózou)
 - v odpovědi na **hypoxii** je regulován hypoxia-inducible factor-1a (HIF-1a), který po translokaci do jádra ovlivňuje transkripci řady genů, mimo jiné
 - represe E-cadherinu
 - ↑ exprese GLUT1 a 3 = ↑ substráty
 - také efekt hormonů a růst. faktorů
 - vascular endothelial growth factor (VEGF) a angipoetin
 - tento stimuluje novotvorbu cév (**angiogeneze**) nutných pro další růst nádoru
 - chemotaxe makrofágů do tumoru a produkce dalších angiogenních a růstových faktorů
 - VEGF
 - basic fibroblast growth factor (bFGF)
 - transforming growth factor-b (TGF-b)
 - platelet-derived growth factor (PDGF)



37

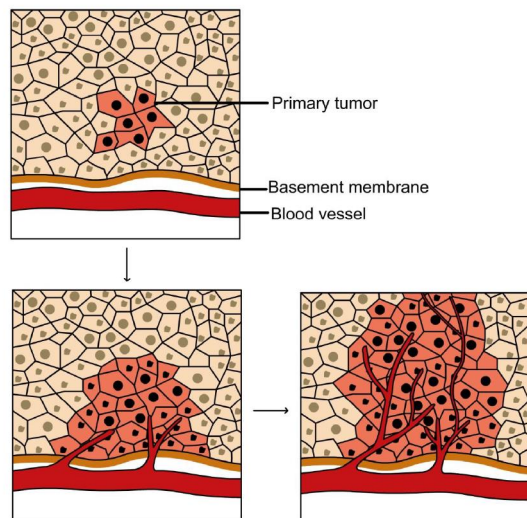
Hypoxií-indukovaná transkripce genů



HIF-1α regulation by proline hydroxylation

38

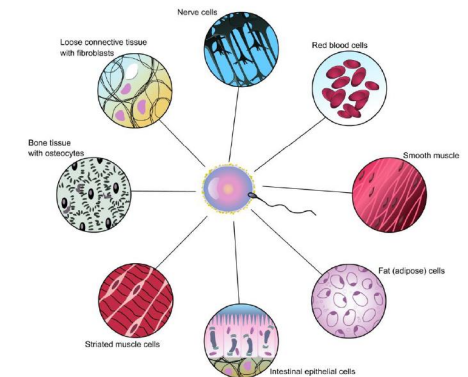
Angiogeneze



39

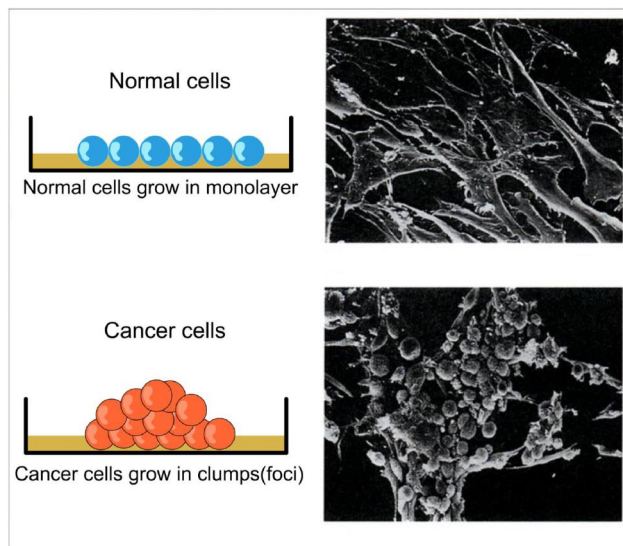
Změny v chování nádorových bb.

- v mnohobuněčném organizmu musí jednotlivé buňky regulovat svoje
 - dělení
 - diferenciaci (specializaci)
 - housekeeping geny – exprimovány ve všech bb.
 - tissue-specific geny
 - mezubuněčnou signalizaci
 - migraci
- na diferenciaci buněk se podílí epigenetické změny
- velký význam u nádorové transformace
 - dediferenciace nádorových buněk až na buňky fenotypicky připomínající kmenové bb.
 - neomezená nekontrolovaná proliferace
 - porucha senescence (telomerázy)
 - porucha mezibuněčných kontaktů
 - migrační fenotyp



40

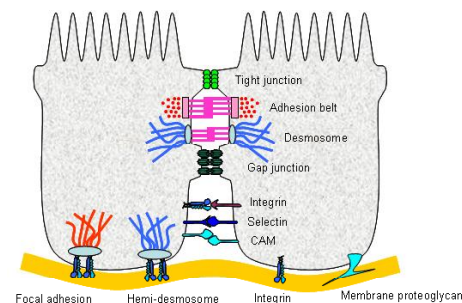
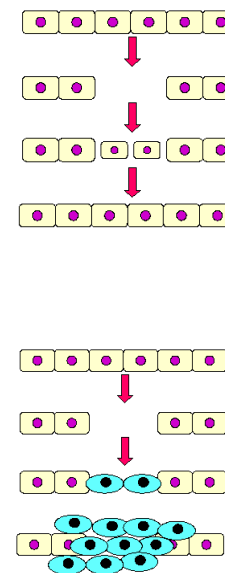
Abnormality v morfologii a růstu nádorových bb. – *in vitro*



41

Růst tumoru: další faktory ovlivňující b. cyklus

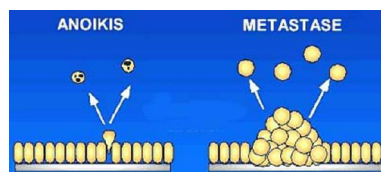
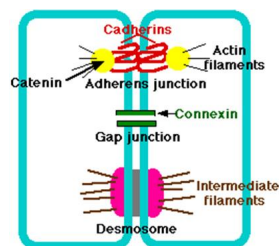
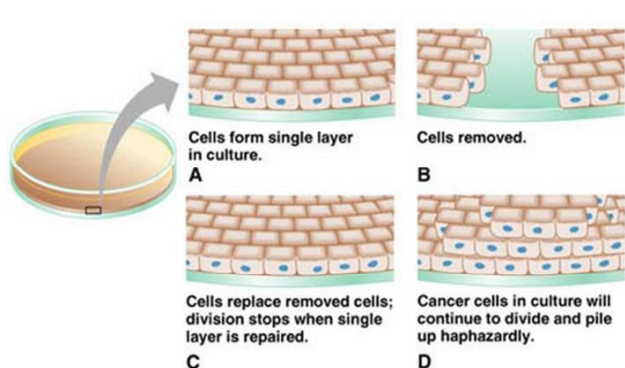
- mezibuněčná komunikace (~kontaktní inhibice)
 - = po dosažení souvislosti tkáně (každá buňka má svého souseda) se proliferace zastaví i při dalším působení mitogenů
 - u nádorů ne!
- na kontaktní inhibici se aktivně podílejí proteiny mezibuněčných spojů, komunikující s cytoskeletem buňky a dalšími signálními proteiny
 - integriny – spojení bb. s ECM
 - cadheriny – spojení bb. mezi sebou



42

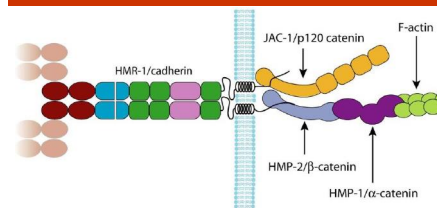
Kontaktní inhibice

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

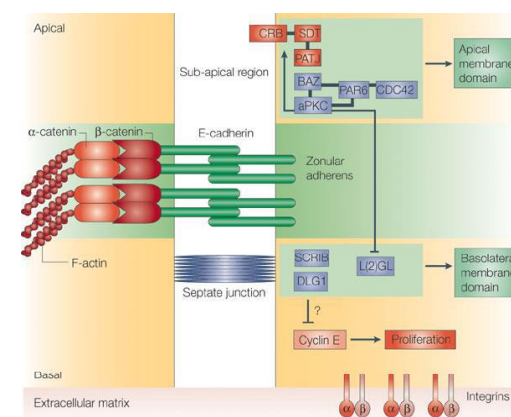


43

Princip "kontaktní inhibice"



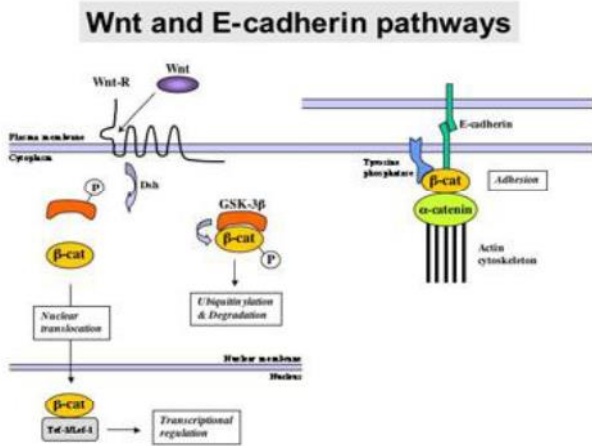
- E-cadherin:
 - Ca²⁺-dependentní transmembránový protein epiteliálních bb.
 - 5 cadherinových repeatů (EC1-EC5) v extracelulární doméne
 - 1 transmembránová doména intracel. doména vážící β- a α-cateniny a násl. aktinový cytoskelet
 - v epitel. bb. konstantně regenerován a 5-hod. na b. povrchu
 - ztráta E-cadherinu je spojena s progresí tumoru a metastazováním
 - v důsl. hypermetvlace, hypoxie (aktivace PI3K dráhy), microRNA atd.
- **volné cateniny fungují jako onkogeny**



Copyright © 2005 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Cancer

44

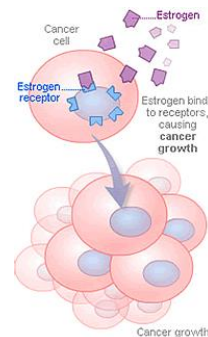
Ztráta E-cadherinu je signálem k proliferaci



45

Hormonální stimulace

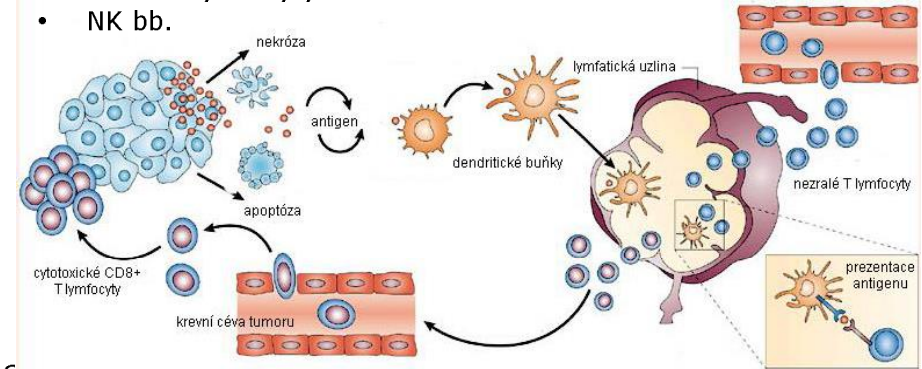
- růst některých tumorů je výrazně potencován hormony (nejč. pohlavními)
 - ca prsu, dělohy, vaječníků, prostaty



47

Imunitní systém vs. nádor

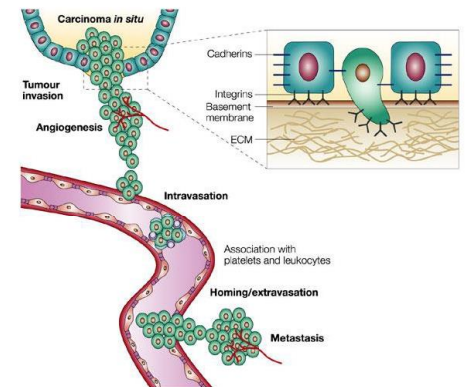
- nádorové bb. mají některé imunologické odlišnosti
 - změny přirozených povrchových antigenů (např. ztráta MHC)
 - unikají imunitnímu rozeznání a likvidaci
 - exprese nových (tzv. onkofetálních) antigenů
 - diagnostické markery (např. CEA, α -fetoprotein aj.)
- v protinádorové imunitě se uplatňují cytotoxické mechanismy
 - CD8+ T-lymfocyty
 - NK bb.



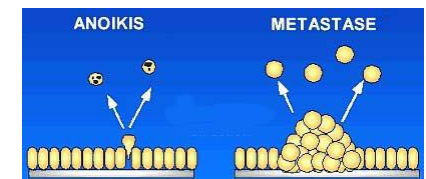
46

Invazivita tumoru

- nádorové bb. získávají ztrátou adhezivních proteinů (E-cadherinu) "motility" fenotyp (epithelial-mesenchymal transition, EMT)
 - ztráta apikobazální polarizace bb.
 - epitelové nádory (karcinomy) tvoří 2/3 všech nádorů
 - produkce proteolytických enzymů nádor. bb.
 - matrix metalloproteinázy (MMP) a uPA
 - degradují extracelulární matrix a umožňují "pučení" nových cév a extravasaci nádor. bb.
 - rezistence k anikis
 - forma apoptózy iniciovaná "odloupnutím" epitel. b. od ECM

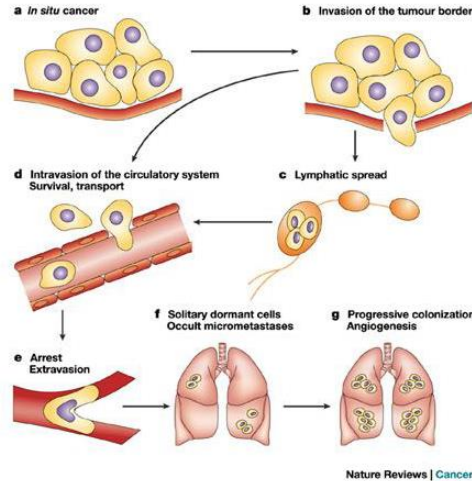


Nature Reviews | Molecular Cell Biology



48

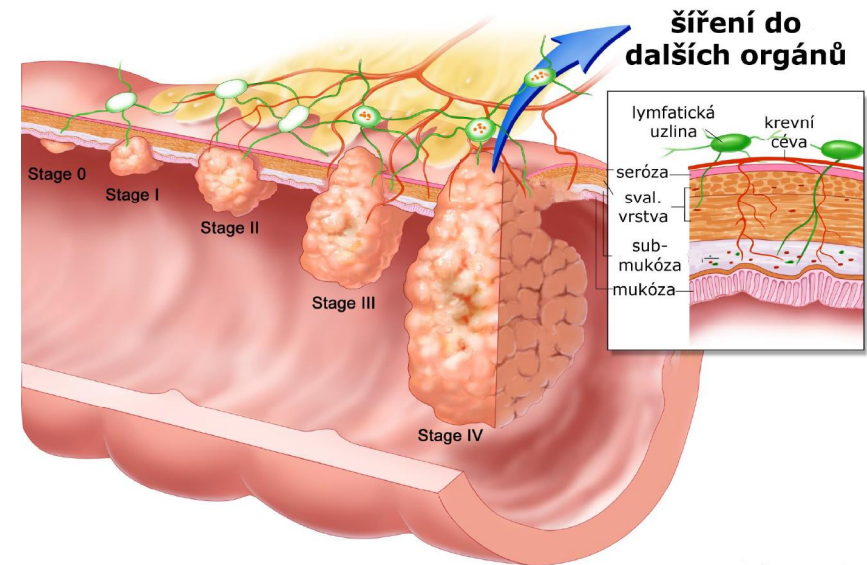
Metastazování



- vytváření dceřiných nádorů vzdálených od primárního ložiska
 - krví
 - často po směru toku
 - např. z GIT do jater
 - např. venózní krví do plic
 - např. z plic tepennou krví do kostí a mozku
 - lymfou
 - nejprve nejbližší lymf. uzliny, poté vzdálenější

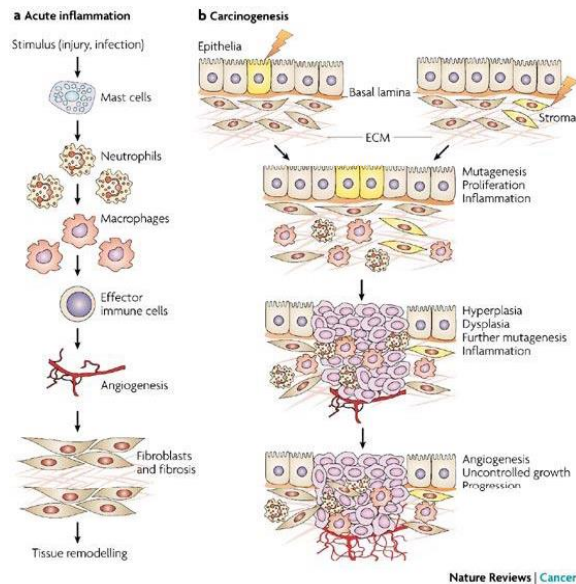
49

Příklad – kolorektální karcinom



50

Paralela procesů: hojení ran (koordinace, dočasnost) vs. nádor (chaos, trvale)



51

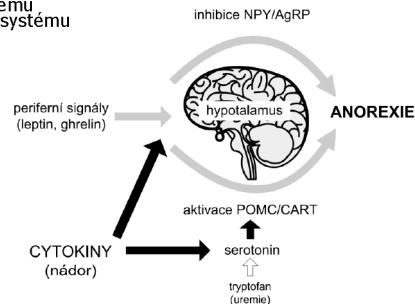
Interakce nádoru a hostitele

- místní působení nádoru
 - mechanický útlak (např. nádory mozku)
 - obstrukci (např. nádory žl. cest)
 - krvácení, snadná tvorba modřin (leukemie)
 - krvácení do GIT (nádory střeva a žaludku)
 - edém (např. lymfomy)
 - trombózy (DIC)
 - porucha zraku (útlak zrak. nervu adeomem hypofýzy)
 - porucha hlasu (ca hrtanu)
 - kašel (ca plic)
 - porucha polykání (ca jícnu)
 - zlomenina kosti (myelom)
- celkové působení
 - **zvýšení teploty**
 - produkce cvtokinů (pyrogenů) nádorem a imunitními bb. hostitele (např. IL1, TNF α)
 - **nádorová anorexie/kachexie**
 - kombinovaný důsledek, viz dále
 - **útlum kostní dřeně (anémie)**
 - typ anémie chron. onemocnění, prozánětlivé cytokiny mají tlumivý efekt na erythropézu
 - **paraneoplastické syndromy**
 - některé tumory produkují hormonv (adenomv)- důležitý diagnostický znak!
 - pigmentace, endokrinopatie (např. Cushing), hyperkalcemie, atd.

52

Nádorová anorexie / kachexie

- je důsledkem sekundární anorexie u nádorového onemocnění
 - iniciální anorexie je zřejmě součástí nespecifických obranných mechanismů organismu (energetická deprivace rostoucího nádoru)
 - postupně se stává přetěžující komplikací vedoucí k progresivní kachektizaci a dalšímu narušení obranyschopnosti nemocného
- anorexie u nádorových onemocnění (patogeneticky spjatá s existencí nádoru iak bylo experimentálně prokázáno) je odlišná od nevolnosti a zvracení, které vzniká jako vedlejší efekt léčby!
- důsledky nádorové anorexie jsou rovněž závažnější než efekt pouhého hladovění u jinak zdravého člověka, protože jsou vlivem onemocnění zvýšeny energetické nároky (opět na vrub rostoucího tumoru).
- patofyziologicky se při rozvoji nádorové anorexie primárně uplatňuje změněná aktivace regulačních center v hypothalamu, ovlivňujících příjem potravy (zejm. n. arcuatus) v důsledku působení cytokinů produkovaných nádorem, popř. imunitním systémem hostitele
 - v hypothalamických centrech dochází k dlouhodobému snížení koncentrace NPY a naopak k hyperaktivaci systému POMC/CART
 - cytokiny produkované nádorem, popř. imunitním systémem hostitele (IL-1, IL-6, TNF- α), stimulují uvolňování serotoninu a tím perzistentní aktivaci POMC/CART neuronů



53

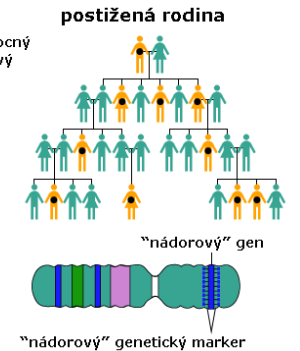
Syndrome	Major tumor types	Mode of inheritance	Type of gene	Genes
Adenomatous polyposis of the colon	Colon, thyroid, stomach, intestine, hepatoblastoma	Dominant	TS	APC
Juvenile polyposis	Gastrointestinal	Dominant	TS	SMAD4/DPC4
Peutz-Jeghers syndrome	Intestinal, ovarian, pancreatic	Dominant	TS	STK11
Neurofibromatosis type 1	Neurofibroma, optic pathway glioma, peripheral nerve sheath tumor	Dominant	TS	NF1
Neurofibromatosis type 2	Vestibular schwannoma	Dominant	TS	NF2
Tuberous sclerosis	Hamartoma, renal angiomyolipoma, renal cell carcinoma	Dominant	TS	TSC1/TSC2
Xeroderma pigmentosum	Skin, melanoma, leukemia	Recessive	SG	XPA,B,C,D,E,F,G, POLH
Bloom syndrome	Leukemia, lymphoma, skin	Recessive	SG	BLM
Fanconi anemia	Leukemia, squamous cell carcinoma, gynaecological system	Recessive	SG	FANCA,B,C,D ₂ ,E,F,G
Nijmegen breakage syndrome	Lymphoma, medulloblastoma, glioma	Recessive	SG	NBS1
Ataxia teleangiectasia	Leukemia, lymphoma	Recessive	SG	ATM
Von Hippel-Lindau syndrome	Retinal and central nervous hemangioblastoma, pheochromocytoma, renal cell carcinoma	Dominant	TS	VHL
Wilms tumor syndrome	Wilms tumor	Dominant	TS	WT1
Retinoblastoma	Retinoblastoma, osteosarcoma	Dominant	TS	RB1
Li-Fraumeni syndrome	Soft tissue sarcoma, osteosarcoma, breast, adrenocortical carcinoma, leukemia, brain tumor	Dominant	TS	TP53
Multiple exostosis	Chondrosarcoma	Dominant	TS	EXT1/EXT2
Werner syndrome	Osteosarcoma, meningioma	Recessive	SG	WRN
MEN 1	Pancreatic islet cell tumor, pituitary adenoma, parathyroid adenoma	Dominant	TS	MEN1
MEN 2	Medullary thyroid carcinoma, pheochromocytoma, parathyroid hyperplasia	Dominant	OG	RET

TS - tumor suppressor gene; OG - oncogene; SG - stability gene; OMIM - online Mendelian inheritance in man

55

Typy nádorů s familiárním výskytem

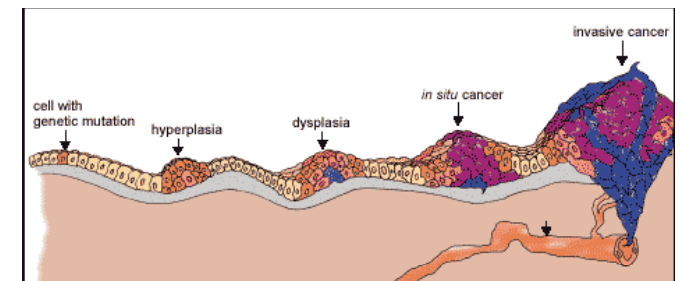
- (1) některé vzácné typy nádorů v důsledku vrozených mutací (většinou se vyskytují v dětském věku):
 - retinoblastom (nádor sítnice)
 - Wilmsův tumor (nádor ledvin)
 - Li-Fraumeni syndrom (různé tvary nádorů vč. sarkomů, nádorů mozku, leukemií)
 - familiální adenomatózní polypóza (nádory tl. střeva)
- (2) jiné mutace zvyšují pravděpodobnost k běžným tvům nádoru (za spolupůsobení faktorů prostředí): ~5 – 10% všech nádorů
 - nicméně protože tyto typy nádorů jsou velmi běžné i malé procento reprezentuje velký absolutní počet osob! (např. 1/300 žen je nositelkou mutace predisponující k rakovině prsu a přibližně totéž platí pro rakovinu střeva)
 - nádory kolorekta
 - nádory prsu
 - varianty BRCA1 genu
- možná predikce – genetické vyšetření a poradenství



54

Klasifikace nádorů

- morfologická diagnostika = **typing**
 - určení histologického typu
- hodnocení invazivity = **grading**
 - stupeň benignity \times malignity
- určení iniciálního rozsahu = **staging**
 - TNM klasifikace
 - T = tumor
 - N = node (uzliny)
 - M = metastasis



56

