

Maligní transformace

doc. RNDr. Sabina Ševčíková, PhD

UPF LF MU

Dnešní přednáška

Fakta o nádorech

Hallmarks of cancer

Hallmarks of cancer- the next generation

Zdroje

Hanahan et Weinberg – Hallmarks of cancer (2000)

Hanahan et Weinberg – Hallmarks of cancer, the next generation (2011)

Prof. MUDr. Jana Šmardová, CSc. -
Molekulární biologie nádorů

Fakta o nádorech

Česká republika a nádory v číslech

- Každý třetí člověk v ČR onemocní nádorem
- Každý čtvrtý na ni zemře
- Každoročně onemocní v ČR 94 000 lidí (2015)
- Prevalence nádorů 542 000 osob (2015)
- Mortalita 27 000 lidí (absolutní čísla stagnují)

Česká republika a nádory v číslech

- Každých 20 minut umírá v ČR jeden člověk na nádory
- V počtu onkologicky nemocných - přední místa v Evropě
- Nejčastějším nově diagnostikovaným zhoubným onemocněním v letech 2011–2015 byly:
 - kožní nádory (vyjma melanomu),
 - karcinomy tlustého střeva a konečníku
 - karcinomu prsu u žen
 - zhoubné nádory prostaty a plic

Hlavní faktory určující epidemiologii zhoubných nádorů v ČR

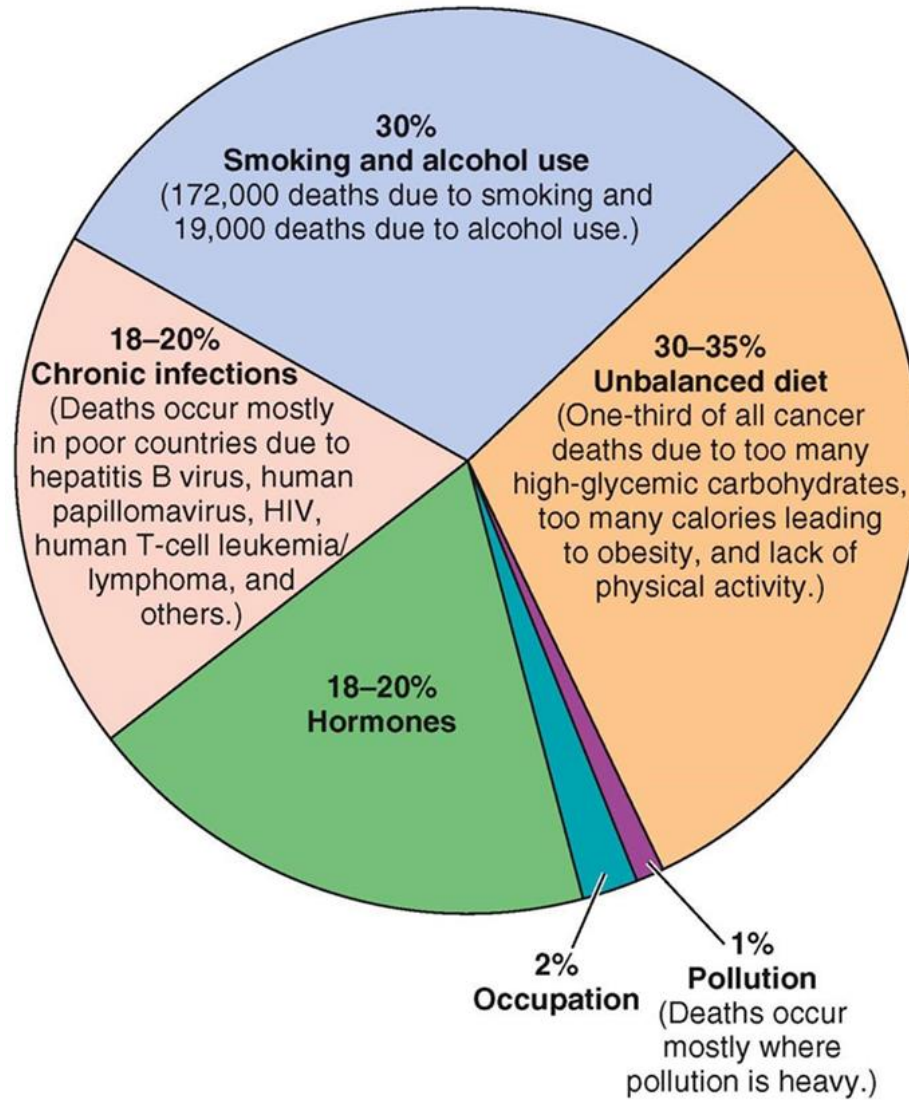
1. Významné demografické stárnutí české populace
2. Úspěšnost nové léčby : prodlužující se přežití pacientů
3. Následné malignity u onkologických pacientů

Nádory jako globální problém

- Nádory 12 % všech úmrtí (56 milionů za rok 2000)
- V roce 2000 - 5,3 milionů mužů a 4,7 milionů žen bylo diagnostikováno, 6,2 milionů zemřelo na nádor
- Predikce- 10 milionů nových případů v roce 2000 na 15 milionů v roce 2020– stárnoucí populace – kouření a špatný životní styl
- Update: <http://www.who.int/topics/cancer/en/>

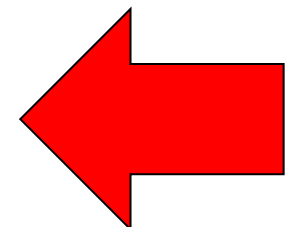
Fakta o nádorech

- Zhruba 1/3 nádorů je spojena s obezitou, špatnou životosprávou a malou fyzickou aktivitou
- Kouření – 30% všech úmrtí na nádory, 87 % úmrtí na nádory plic
- Obezita zvyšuje riziko nádorů prsu u postmenopauzových žen o 50 % a 40 % u nádorů střeva u mužů



HIGHEST **CANCER** RATES IN THE WORLD

Cases per 100,000 people



Men'sHealth

Global cancer rates

The ten worst countries and the UK cancer rate, per 100,000 of the population

1	Denmark	326.1
2	Ireland	317
3	Australia	314.1
4	New Zealand	309.2
5	Belgium	306.8
6	France	300.4
7	US	300.2
8	Norway	299.1
9	Canada	296.6
10	Czech Republic	295
22	UK	266.9



SOURCE: WORLD CANCER RESEARCH FUND

TABLE 16.2 Preventing Cancer through Diet and Lifestyle

Type of Cancer	Factors that Decrease Risk	Factors that Increase Risk
Breast	Engage in physical activity for at least 4 hours per week; consume lots of fruits and vegetables	Obesity and weight gain; alcohol consumption; hormone replacement therapy
Colorectal	Engage in regular, moderate physical activity; consume lots of fruits and vegetables	High intake of red meat; smoking; alcohol consumption; obesity
Lung	Consume at least 5 servings of fruits and vegetables daily	Tobacco use; some occupations
Oral/Throat	Consume at least 5 servings of fruits and vegetables daily; engage in regular, moderate physical activity	Tobacco use; obesity; alcohol consumption; salted foods
Prostate	Consume at least 5 servings of fruits and vegetables daily	High intake of red meat and high-fat dairy products
Stomach	Consume at least 5 servings of fruits and vegetables daily; refrigerate food	Salted foods; <i>Helicobacter pylori</i> bacteria

Here are some additional tips issued by a panel of cancer researchers:

- Avoid being underweight or overweight, and limit weight gain during adulthood to less than 11 pounds.
- If you don't get much exercise at work, take a 1-hour brisk walk or similar exercise daily, and exercise vigorously for at least 1 hour a week.
- Eat 8 or more servings a day of cereals and grains (such as rice, corn, breads, and pasta), legumes (such as peas), roots (such as beets, radishes, and carrots), tubers (such as potatoes), and plantains (including bananas).
- Limit consumption of refined sugar.
- Limit alcoholic drinks to less than 2 a day for men and 1 for women.
- Limit intake of red meat to less than 3 ounces a day, if eaten at all.
- Limit consumption of salted foods and use of cooking and table salt. Use herbs and spices to season foods.

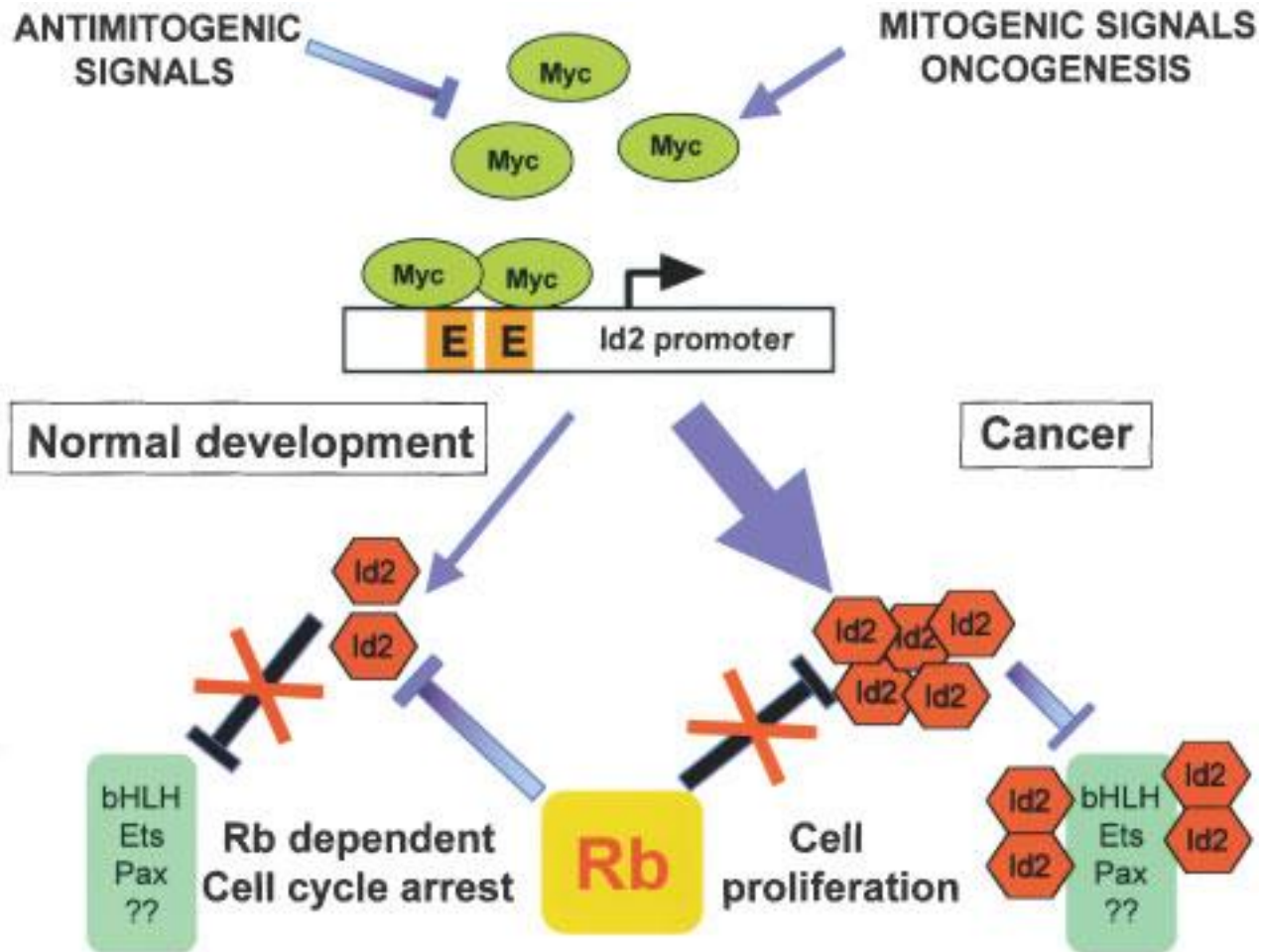
Sources: World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research, "Food, Nutrition and the Prevention of Cancer," www.wecf-uk.org; American Cancer Society, "The Complete Guide: Nutrition and Physical Activity," www.cancer.org.

Nádor

- nekontrolovaný růst buněk v tkáni vyšších organismů
- nemá fyziologickou funkci
- klonálního charakteru
- narušuje rovnováhu v organismu
- kritické dva typy genů
 - Onkogeny (gain of function)
 - Nádorové supresory (loss of function)

Onkogeny

- 1970 – src – kuřecí retrovirus Rous sarcoma virus (Dr. Martin, UC Berkley)
- 1976 – Stehelin, Vermus, Bishop – onkogeny aktivované protoonkogeny
- Protoonkogen – gen, který kóduje proteiny ovlivňující růst a nebo diferenciaci, přenos signálů
- Aktivace – mutace a nebo zvýšená exprese – onkogen
- Ras, Myc, ERK....
- Mutace aktivující, dominantní, somatické buňky



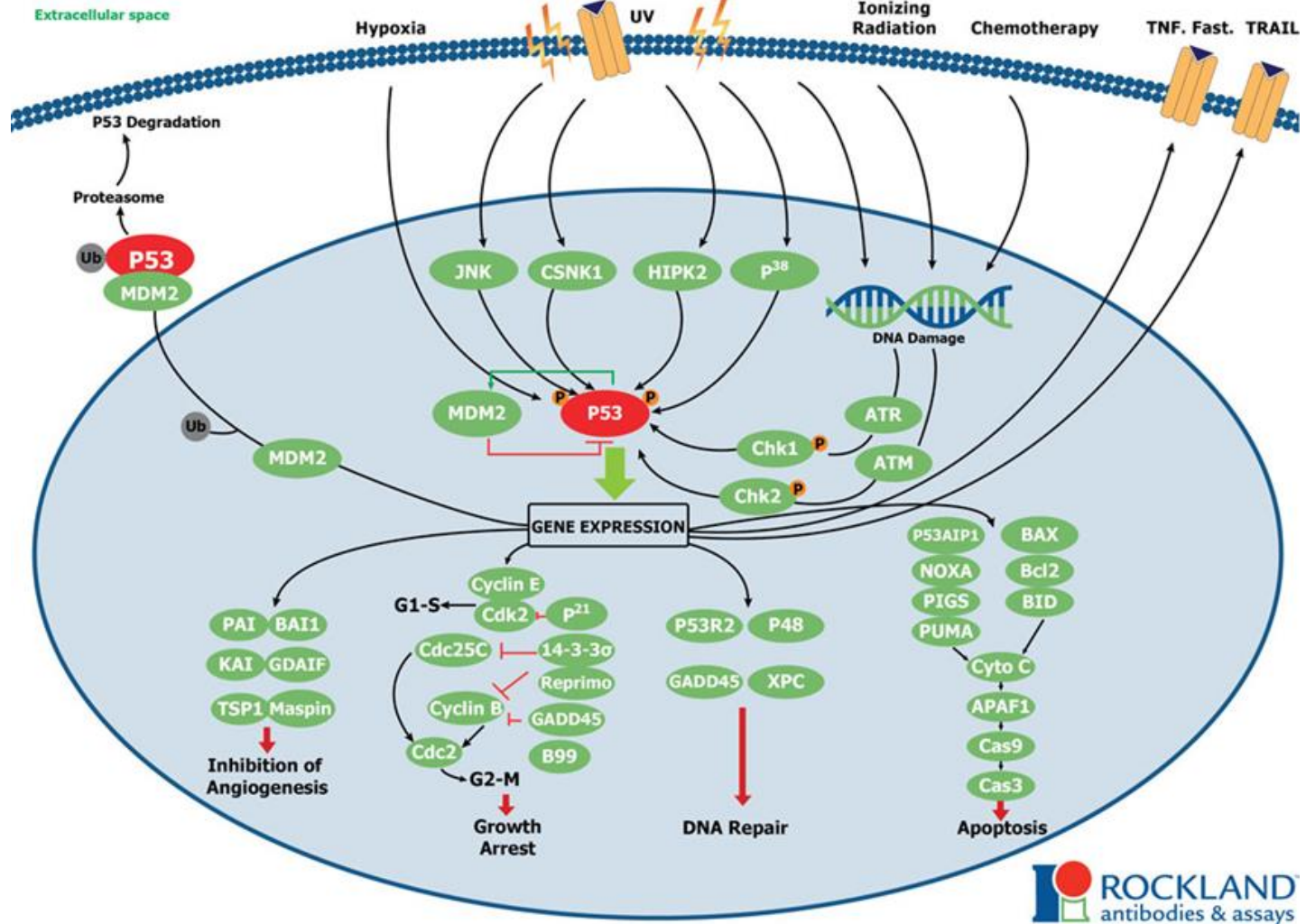
<https://blogs.shu.edu/cancer/2014/12/23/merck-acquires-oncoethix-for-novel-myc-blocker/>

Nádorové supresory

- p53 – guardian of genome (53 kDa)
- Proliferace, apoptóza, oprava DNA, angiogeneze, replikace, buněčné dělení...
- Regulován protein MDM2 – přesun do cytoplazmy, neaktivní
- Indukce exprese po vystavení buňky stresu
- Zastavení buněčného cyklu, apoptóza

- Mutace ve více než 50 % lidských nádorů
- **Li Fraumeniho syndrom** – hereditární nádorový syndrom, zárodečná mutace p53
- Mutace inaktivující, recesivní, somatické i zárodečné buňky

p53 Signaling



Risk faktory

- Riziko vzniku nádoru roste s narůstajícím věkem
 - Expozice k chemikáliím
 - Viry
 - Mutace
 - Lifestyle?
-
- Včasná diagnóza a léčba důležitá
 - Identifikace osob v riziku

Rizikové faktory

4 in 10 cancer cases can be prevented...



...make a change to reduce the risk of cancer



● ● ● Larger circles indicate more UK cancer cases.

Circle size here is not relative to other infographics based on Brown et al 2018.
Source: Brown et al, British Journal of Cancer, 2018

cruk.org/prevention
Together we will beat cancer



Chemikálie zvyšující riziko nádorů

- Azbest
- Pesticidy
- Herbicidy
- Benzen
- Radioaktivní látky
- Chemikálie v jídle – herbicidy, pesticidy, Ečka...

Onkogenní viry a lidské nádory

RNA viry:

- lidský lymfotropní virus typu I (HTLV-1) - T-leukemie dospělých (ATTL)

DNA viry:

- Virus Epstein-Barrové (EBV) - Burkittův lymfom (BL), Hodgkinův lymfom (HD), lymfomy, nazofaryngální karcinomy (NPC)
- Virus hepatitidy B (HBV) - hepatocelulární karcinom (HCC)
- Lidské papilomaviry (HPV 16, 18,..) - anogenitální nádory, nádory ústní dutiny, bradavice
- Lidský herpesvirus typu 8 (HHV8) - Kaposiho sarkom (KS)

THE HISTORY OF CANCER

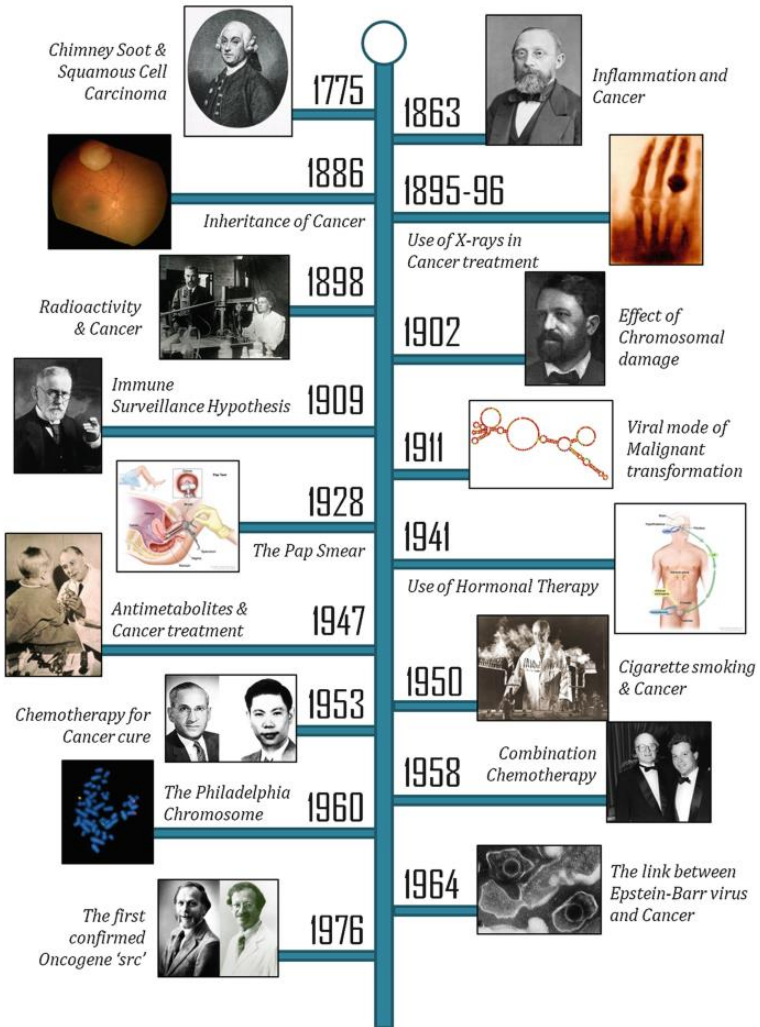
Cancer is characterized by out of control growth of abnormal cells. It can affect many parts of the body and ranges in severity. The understanding that we have of cancer today, & the subsequent research and treatment options, come after several hundred years trying to understand it.

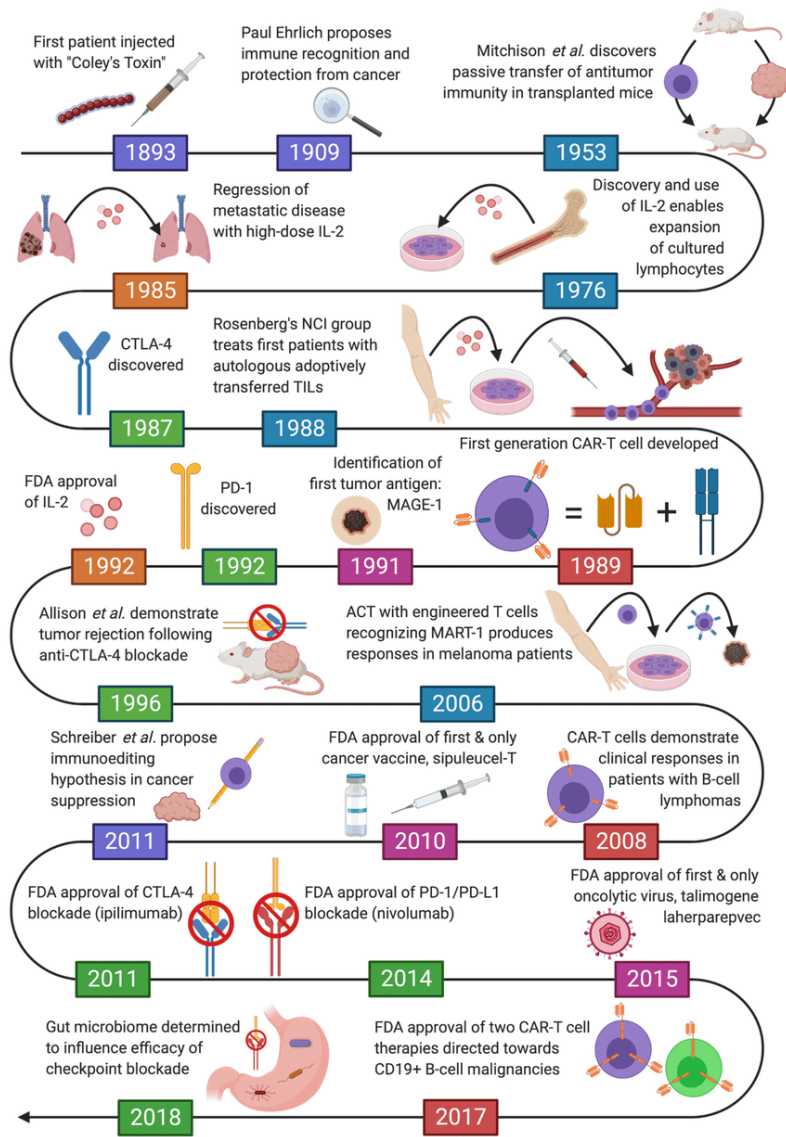


The earliest evidence of cancer has been found in fossilized bone tumors of **Egyptian mummies**. According to the American Cancer Society, the earliest reference to cancer is located in a part of an ancient Egyptian **textbook** about trauma surgery. Although this **textbook** does not make use of the word "cancer," it describes different tumor & ulcer cases.

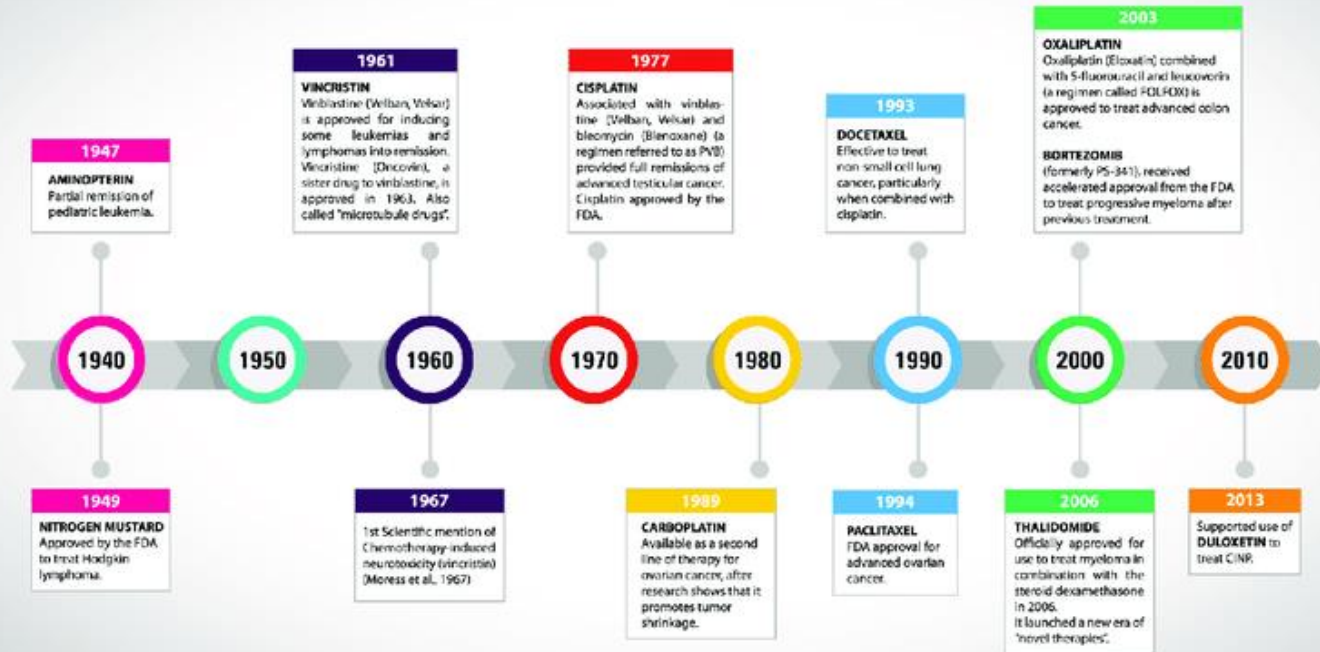


A BRIEF HISTORY ON CANCER RESEARCH





CHEMOTHERAPY AND CINP OVER THE DECADES



Historický přehled

- 400 p.n.l. **Hippocrates** popsal nádory jako dlouhé výběžky
- řec: karkinos = rak; onkos = krab
 - lat: cancer = rak
- popisné poznatky:
 - 1848 - zvýšený výskyt rakoviny prsu u jeptišek (bezdětnost, nekojení)
 - 1902 - souvislost RTG paprsků a vzniku rakoviny
 - poč. 20. stol. - rodinný výskyt nádorů

Klasifikace nádorů I: podle schopnosti infiltrovat se do jiné tkáně

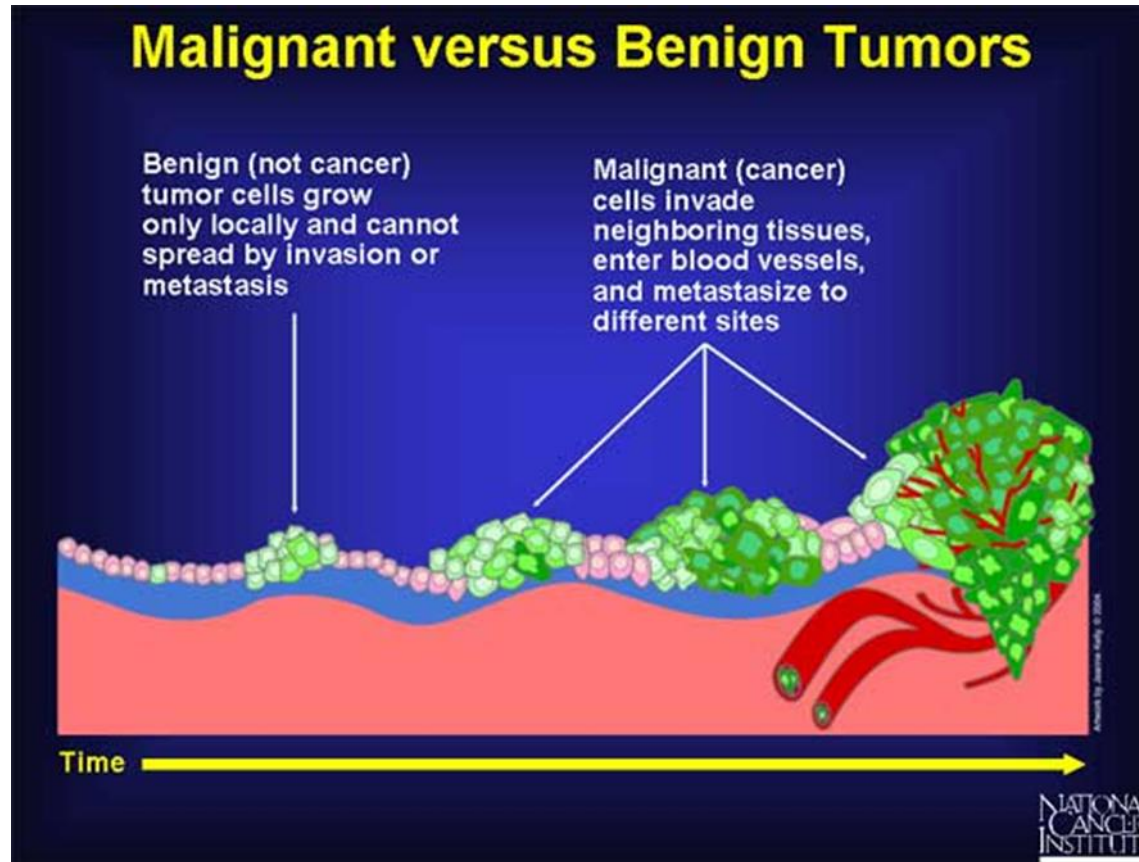
▪ **Benigní (nezhoubné):**

- zůstávají na místě svého vzniku, omezeny potenciálem růstu, žádné metastáze
- Záleží na místě

▪ **Maligní (zhoubné):**

- pronikají do okolních tkání a prostřednictvím krevního a lymfatického systému do celého těla (primární)
- v nových tkáních vyvolávají tvorbu sekundárních nádorů (metastází)

Klasifikace nádorů I: podle schopnosti infiltrovat se do jiné tkáně



Klasifikace nádorů II: podle typu tkání, ze kterých vznikají

- **Karcinomy** – nádory epiteliálních buněk (asi 90 % lidských nádorů)
- **Sarkomy** – pevné nádory konektivních tkání – svalů, kostí, chrupavky
- **Leukémie** - odvozené z hematopoetických buněk
- **Lymfomy a mnohočetný myelom** – odvozené z buněk imunitního systému
- **Gliomy** - nádory odvozené z nervové tkáně

Klasifikace nádorů III: podle postiženého orgánu nebo tkáně

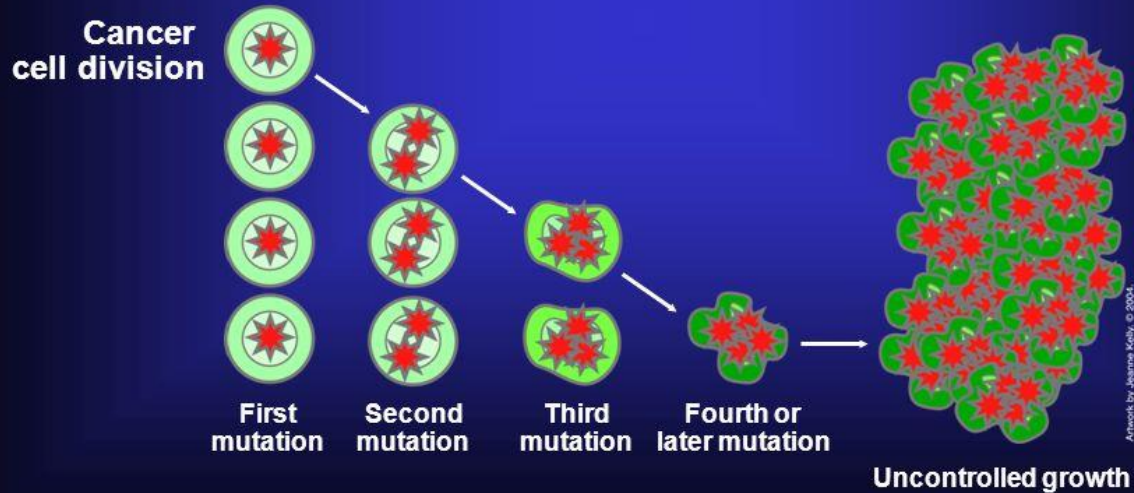
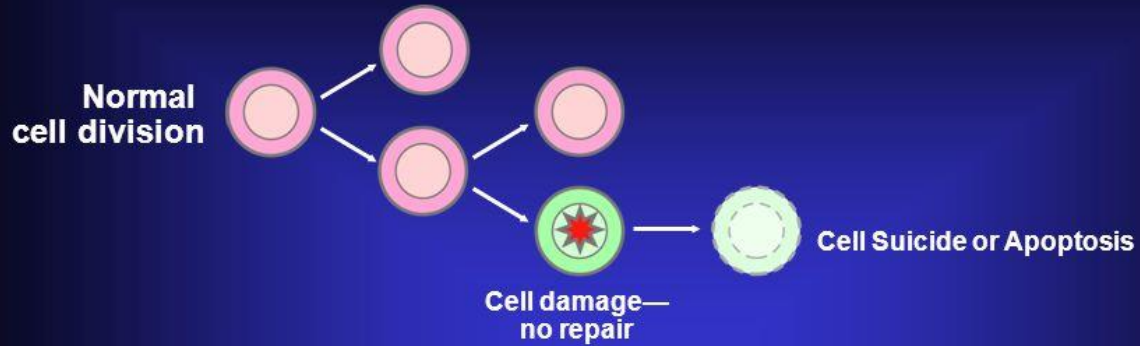
- karcinom plic
- kolorektální karcinom
- nádor prsu
- akutní myeloidní leukémie

Kancerogeneze

- proces vzniku a vývoje nádoru
- několikastupňový proces
- Multifaktoriální proces – genetické, environmentální, lifestyle faktory ovlivňují postupné hromadění genetických (a epigenetických) změn
- Není monogenní onemocnění - 4-7 zásahů?

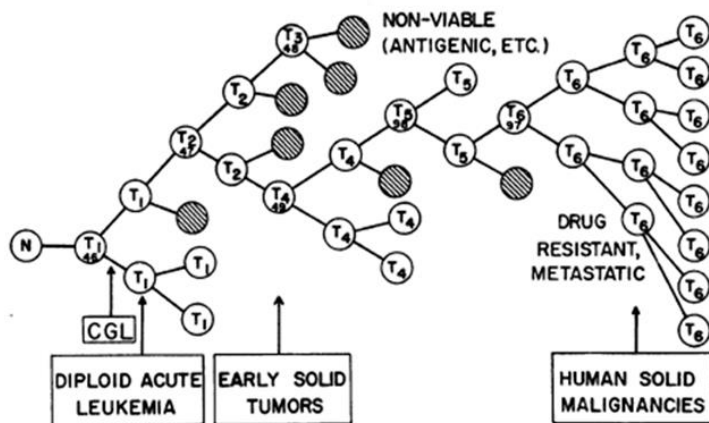
Neoplastická transformace - je přeměna somatické buňky v buňku nádorovou

Loss of Normal Growth Control



Artwork by Joanne Kelly, © 2004.

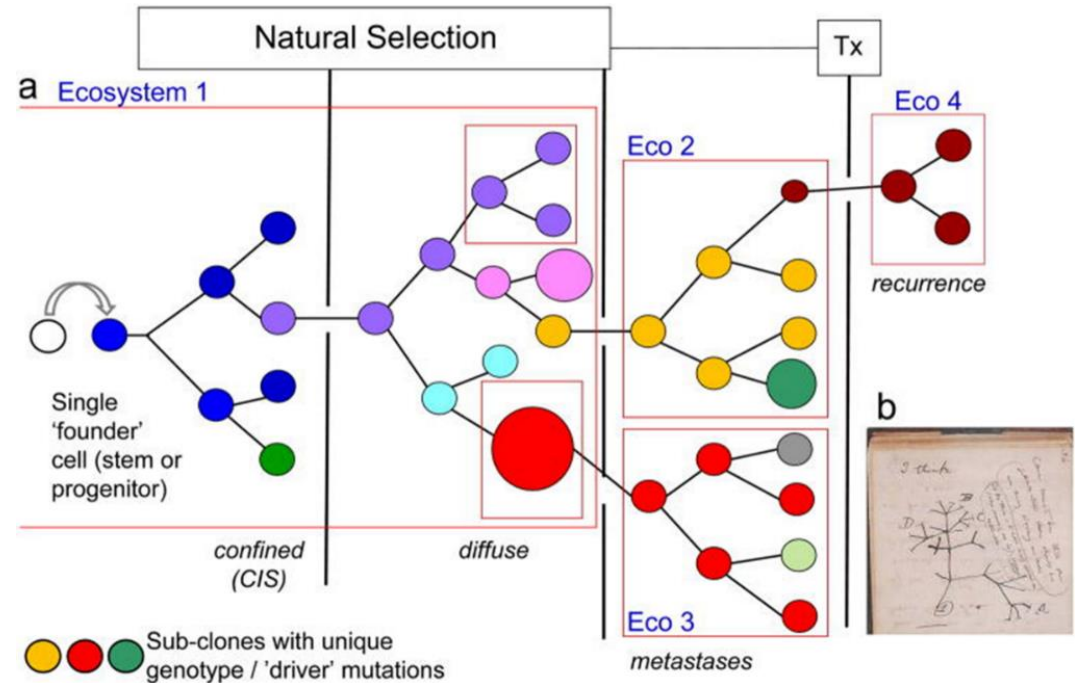
Klonální evoluce nádorů



- Nowellova teorie nádorové evoluce
- Nádor vzniká z jedné buňky
- Dominance jednoho klonu
- Selekcce, klonální expanze

Model větvení

- Darwinova teorie přírodní výběru
- Agresivní klony se šíří, pasivní zaniknou

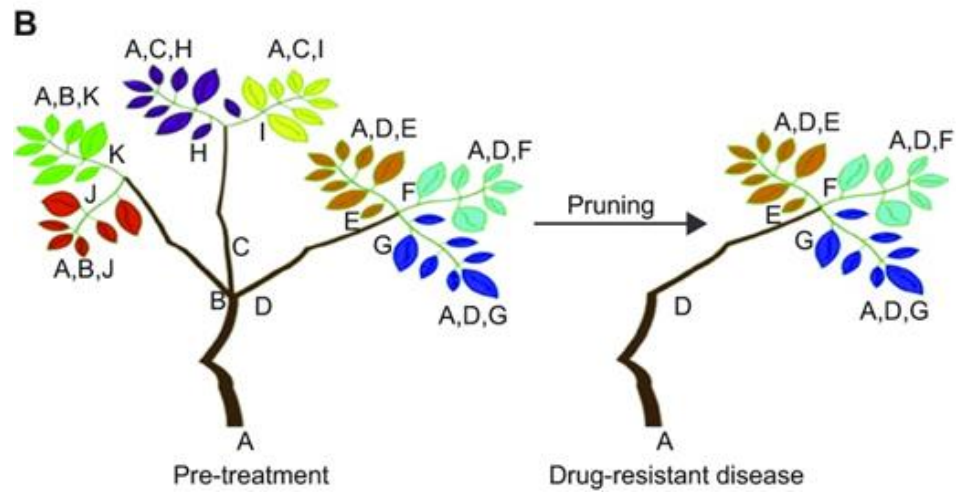
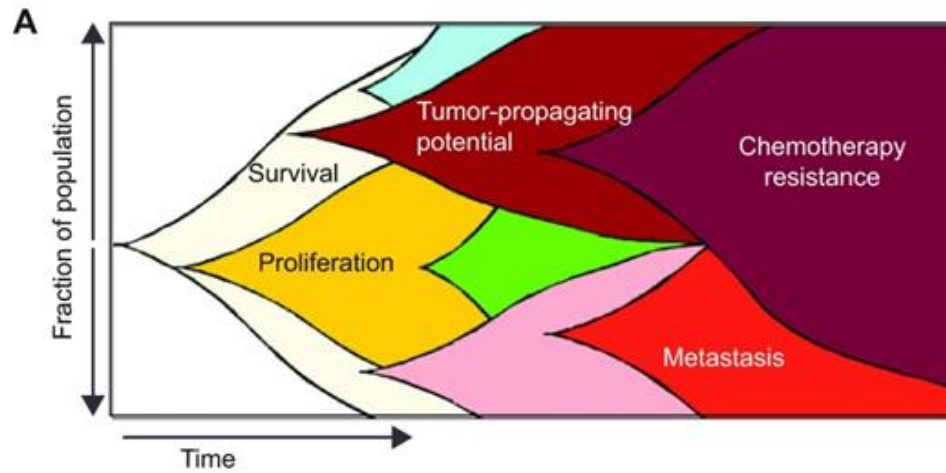


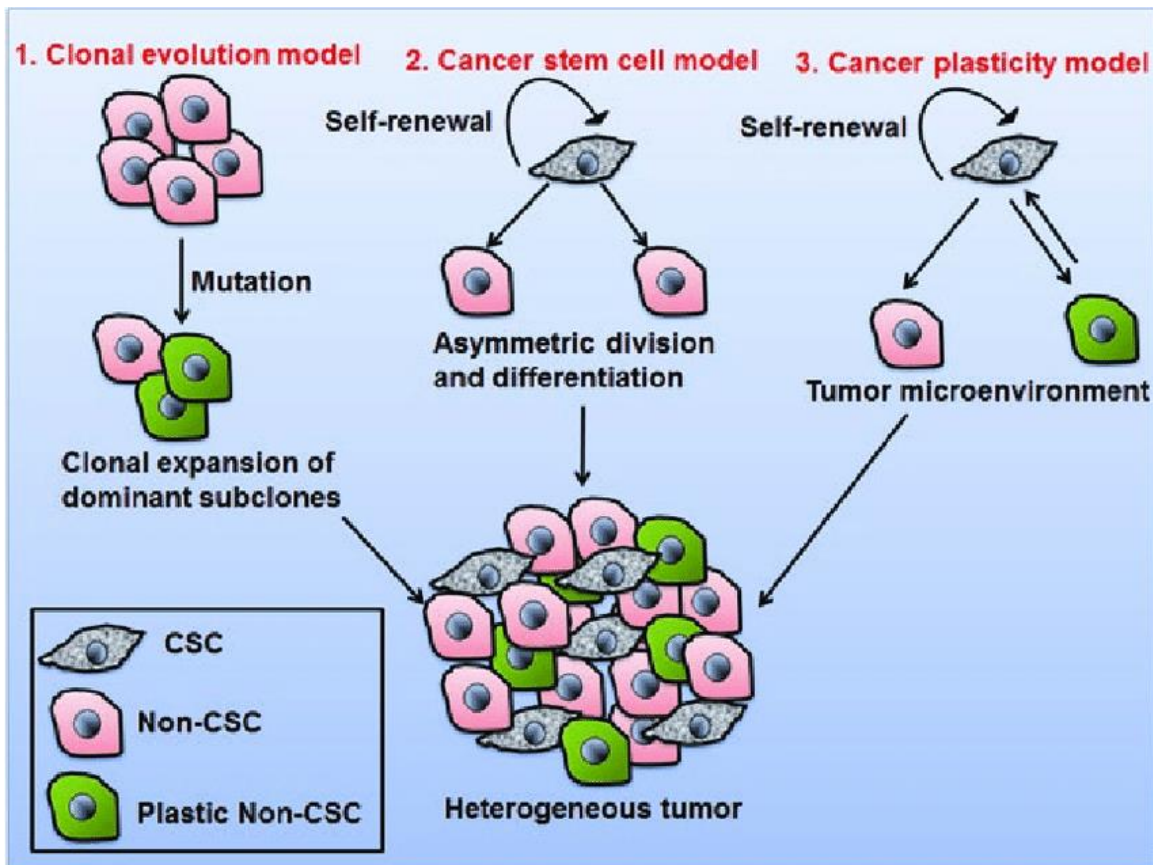
Bahlis, 2012
Greaves, 2012

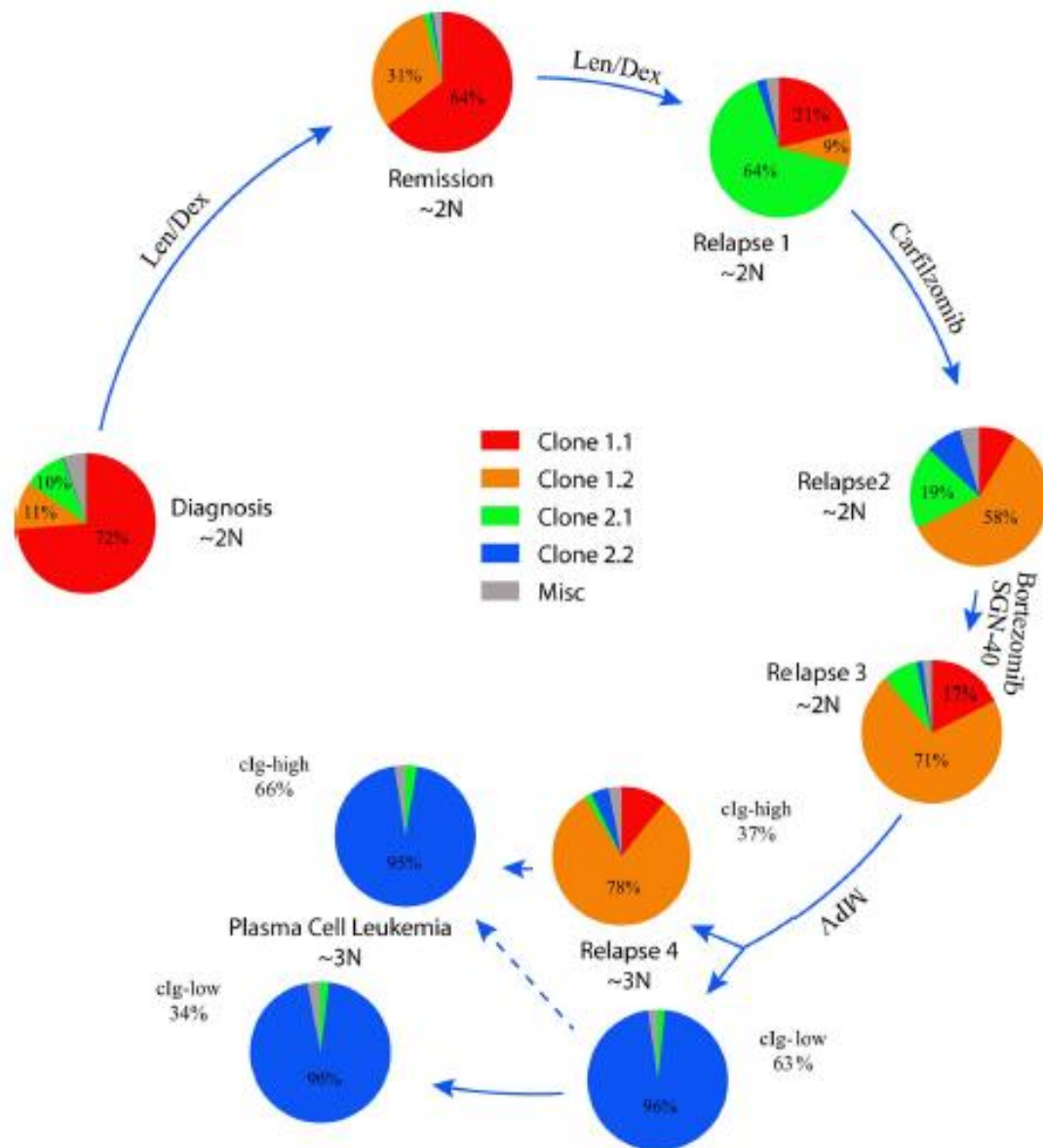
Darwinova teorie větvení

- Klonální diverzita
- Genetická heterogenita
- Terapeutický úspěch spočívá
- v zaměření se na časně klonální léze

Bahlis, 2012
Greaves, 2012







Keats et al, 2012

Hallmarks of cancer

Hanahan a Weinberg



Hallmarks of cancer

The screenshot shows a web browser window displaying a PubMed article. The browser's address bar shows the URL www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10647931. The page header includes the NCBI logo and navigation links. The article title is "The hallmarks of cancer" by Hanahan D, Weinberg RA, published in Cell in 2000. A large red text overlay "40666 citací" is positioned in the center of the page. The right sidebar contains sections for "Full text links" (with a Cell Press Open Access button), "Save items" (with an "Add to Favorites" button), and "Similar articles" (listing related research papers).

Avast SafeZone | Přihlášení | The hallmarks of cancer. - | +

www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10647931

Chcete-li mít vaše záložky stále po ruce, přidejte je na tuto lištu

NCBI Resources How To Sign in to NCBI

PubMed US National Library of Medicine National Institutes of Health

Format: Abstract

Cell. 2000 Jan 7;100(1):57-70.

The hallmarks of cancer.

Hanahan D¹, Weinberg RA.

Author information

1 Department of Biochemistry, Hormone Research Institute, University of California at San Francisco, 94143, USA.

PMID: 10647931

[Indexed for MEDLINE] Free full text

40666 citací

Publication types, MeSH terms

LinkOut - more resources

Send to

Full text links

Cell Press OPEN ACCESS

Save items

Add to Favorites

Similar articles

Cancer research. Obstacle for promising cancer therapy. [Science. 2002]

Is oncogene addiction angiogenesis-dependent? [Cold Spring Harb Symp Quant Bi...]

Angiogenesis. Successful growth of tumours. [Nature. 1989]

Review [Apoptosis or programmed cell death]. [Ann Pathol. 1995]

Review [Studies of growth, differentiation and neoplastic transformati [Postepy Biochem. 1988]

See reviews...

See all...

7:02 21. 4. 2018

Hallmarks of cancer the next generation (2011)

- **67703 citací**

Doug Hannahan

- MIT, UCSF
- Reditel École Polytechnique Fédérale de Lausanne
- 1983- SOB médium pro bakterie

Robert Weinberg

- 1982 – objevil Ras, první lidský onkogen
- Jeho laboratoř poprvé izolovala Rb
- MIT

Šest získaných vlastností maligního nádoru (Weinberg a Hannahan 2000)

získaná schopnost



Soběstačnost v produkci růstových signálů



Necitlivost k signálům zastavujícím CC



Poškození apoptózy



Neomezený replikační potenciál



Posílení angiogeneze



Tvorba metastáz

příklad

aktivace H-RAS

ztráta RB

produkce IGF

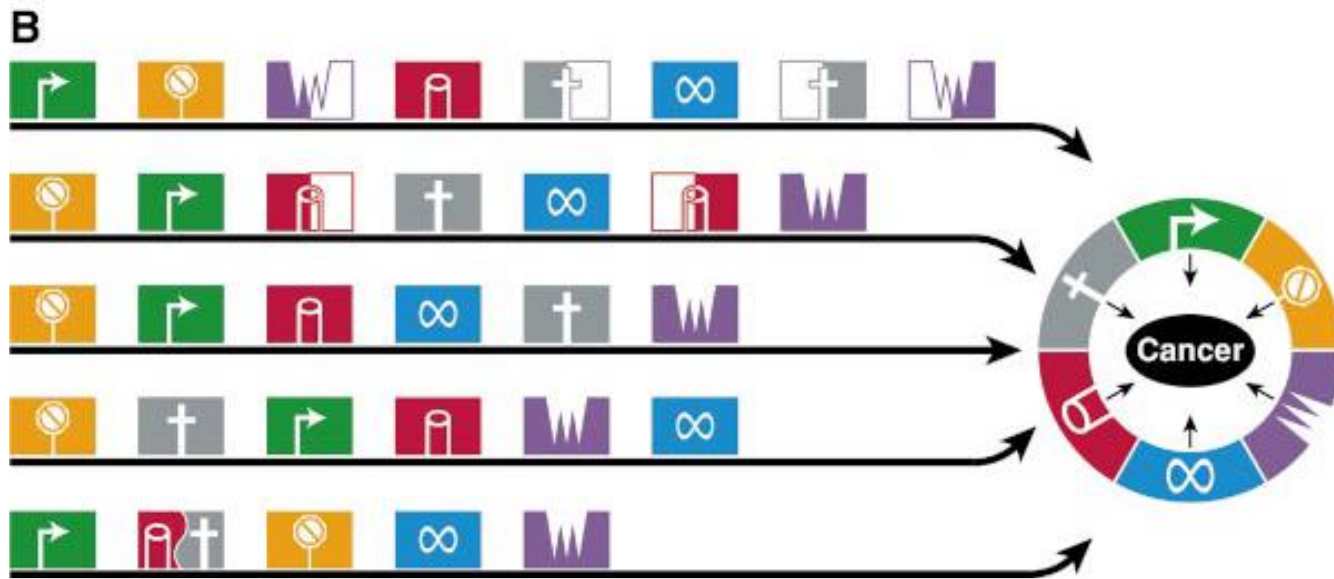
aktivace telomerázy

produkce VEGF

inaktivace E-cadherinu

Nestabilita genomu jako podmínka akumulace všech nutných změn?

Kancerogeneze má individuální průběh



Individuální je pořadí, počet zásahů a konkrétní geny

Sedm získaných vlastností maligního nádoru

získaná schopnost



Soběstačnost v produkci růstových signálů



Necitlivost k signálům zastavujícím CC



Poškození apoptózy



Neomezený replikační potenciál



Posílení angiogeneze



Tvorba metastáz

příklad

aktivace H-RAS

ztráta RB

produkce IGF

aktivace telomerázy

produkce VEGF

inaktivace E-cadherinu

Nestabilita genomu jako podmínka akumulace všech nutných změn?

Růstové faktory

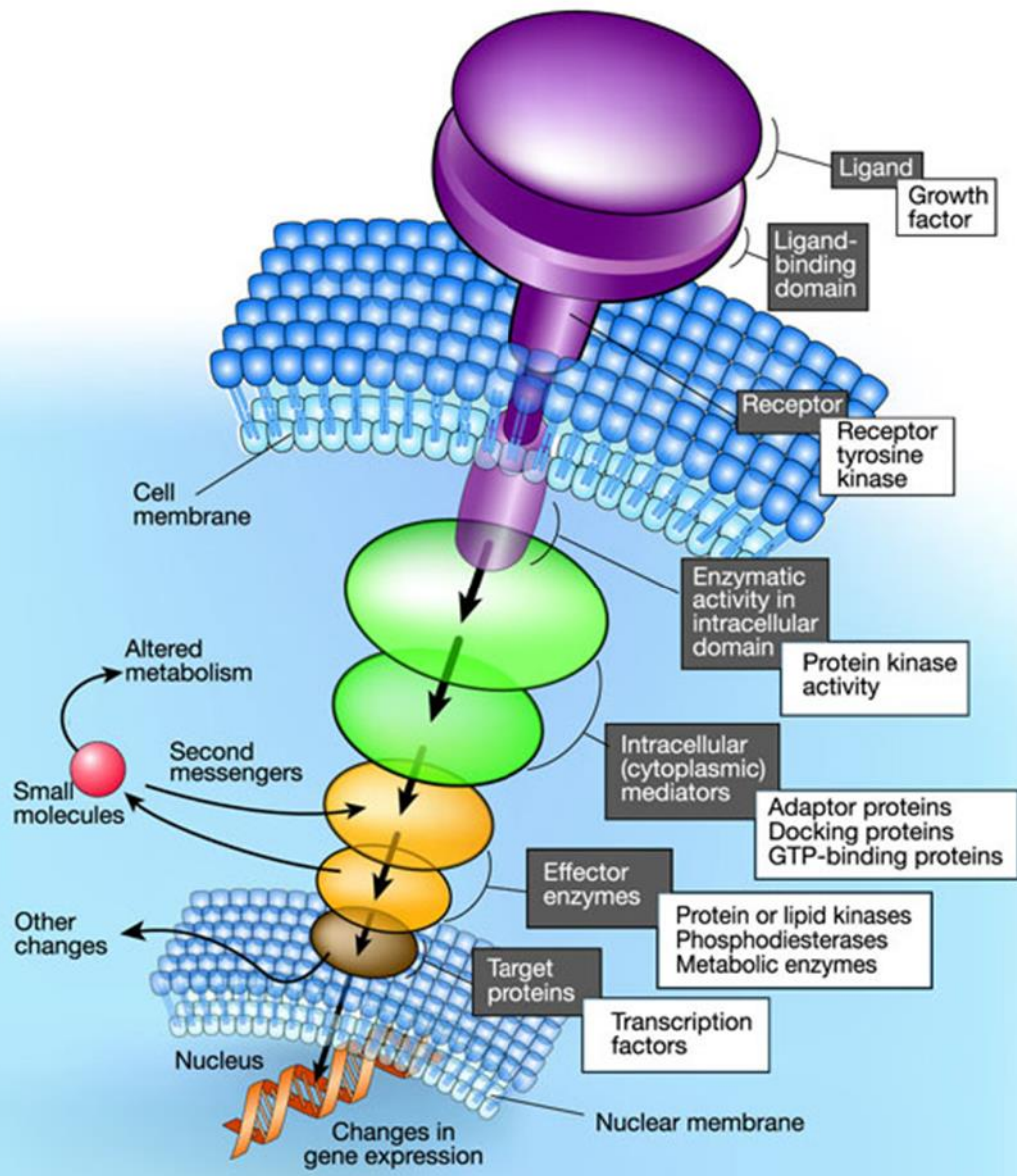
- Nádorové buňky nepotřebují stimulaci růstovými faktory k proliferaci
- Zdravé buňky – signál, vazba na receptor, spouštění signální dráhy
- Nádorové buňky mohou
 - produkovat své vlastní růstové faktory (PDGF – glioblastomy)
 - Overexprese receptorů - EGFR – nádory prsu a žaludku
 - Změna struktury receptoru – nepotřebuje ligand k aktivaci

Klasifikace protoonkogenů

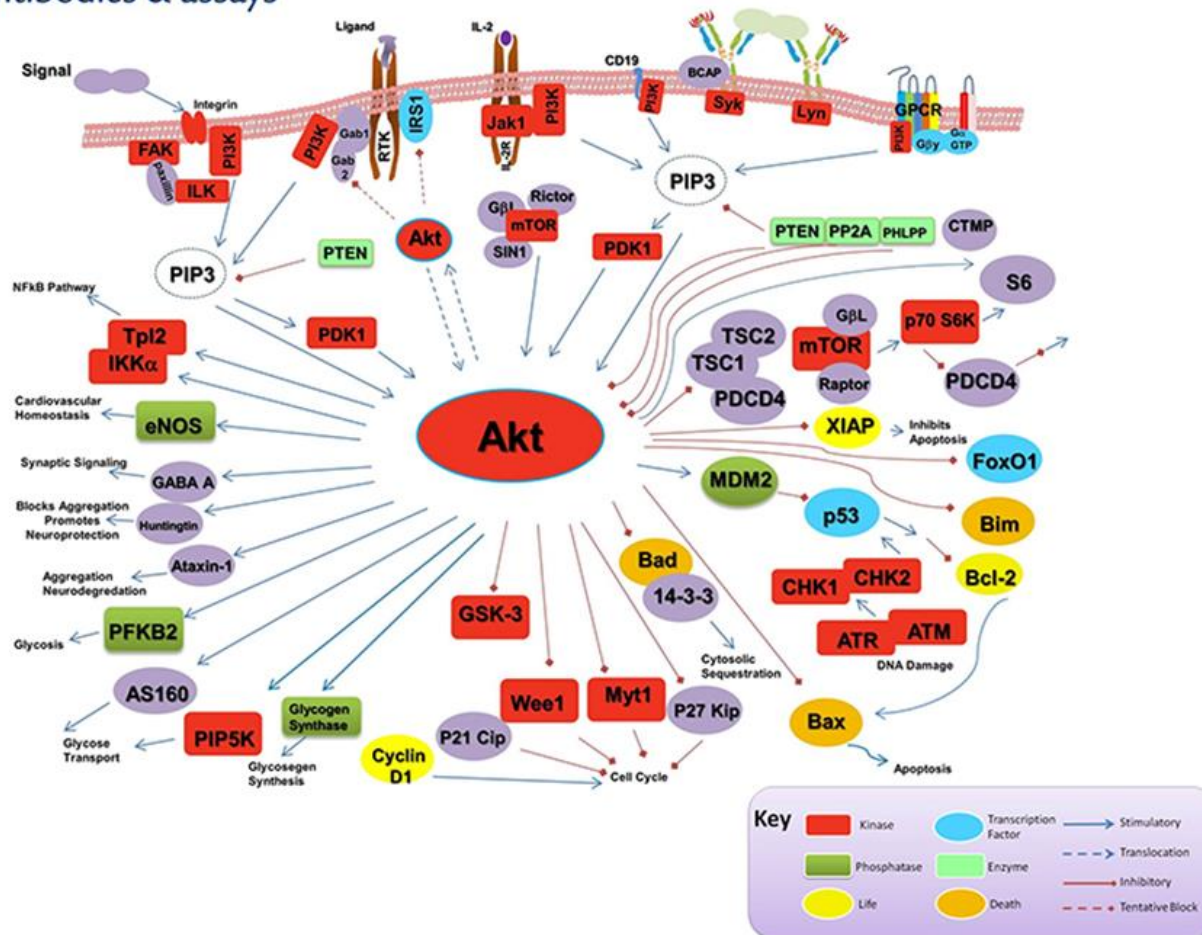
- I. Růstové faktory
- II. Receptory růstových faktorů
- III. Ras-proteiny
- IV. Nereceptorové tyrozin-proteinkinázy
- V. Transkripční faktory

Toto rozdělení souvisí se strukturou signální dráhy:

- Vazba růstového faktoru na receptor
- Aktivace receptorové proteinkinázy
- Přenos signálu do jádra kaskádou proteinkináz
- Aktivace transkripčního faktoru



Akt Signaling Pathway



Signalizace u nádorů

- Deregulované – kritické dráhy pro přežití buněk
- Mutace – dráha aktivní/inaktivní
- Vede k
 - Nekontrolovatelné proliferaci
 - Invazivitě
 - Resistenci k signálům
 - Angiogeneze
 - Metastáze
 - Resistance k apoptóze

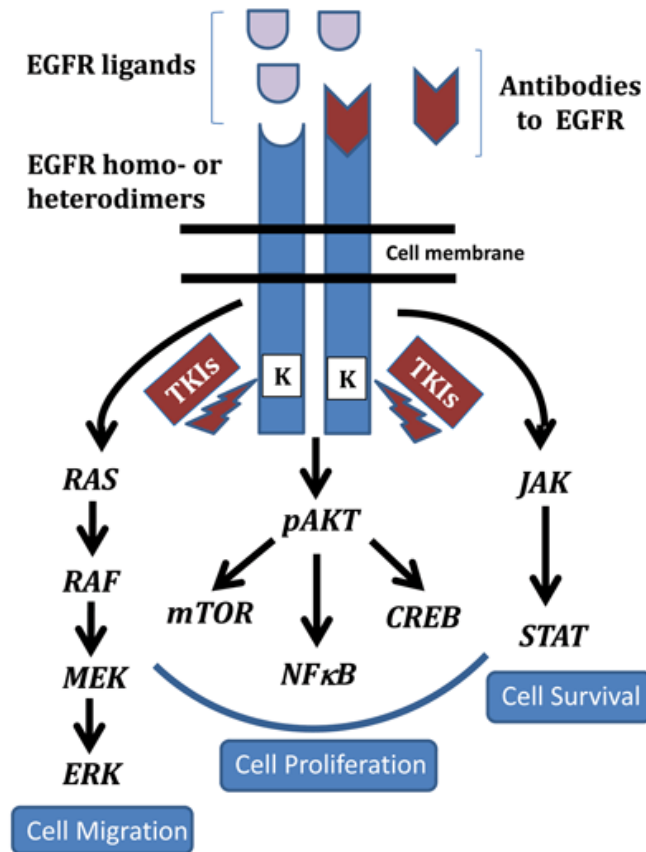
Růstové faktory a tyrozin-kinázové (RTK) receptory

Růstové faktory: Polypeptidy, které jsou produkovány buňkami a navozují signalizaci k zahájení nebo zastavení proliferace, diferenciaci, přežívání,... aktivací svých specifických receptorů na povrchu buněk

Stimulace:

- autokrinní - růstový faktor stimuluje produkující buňku
- parakrinní - stimulace sousední buňky
- endokrinní - stimulace vzdálených buněk

EGFR signální dráha



Sedm získaných vlastností maligního nádoru

získaná schopnost

příklad



Soběstačnost v produkci růstových signálů

aktivace H-RAS



Necitlivost k signálům zastavujícím CC

ztráta RB



Poškození apoptózy

produkce IGF



Neomezený replikační potenciál

aktivace telomerázy



Posílení angiogeneze

produkce VEGF



Tvorba metastáz

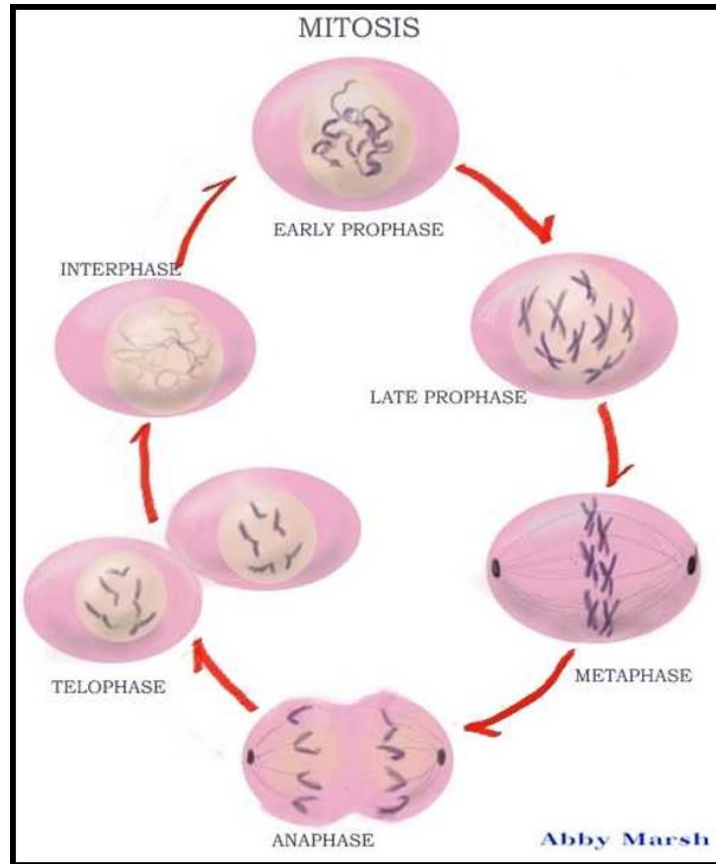
inaktivace E-cadherinu

Nestabilita genomu jako podmínka akumulace všech nutných změn?

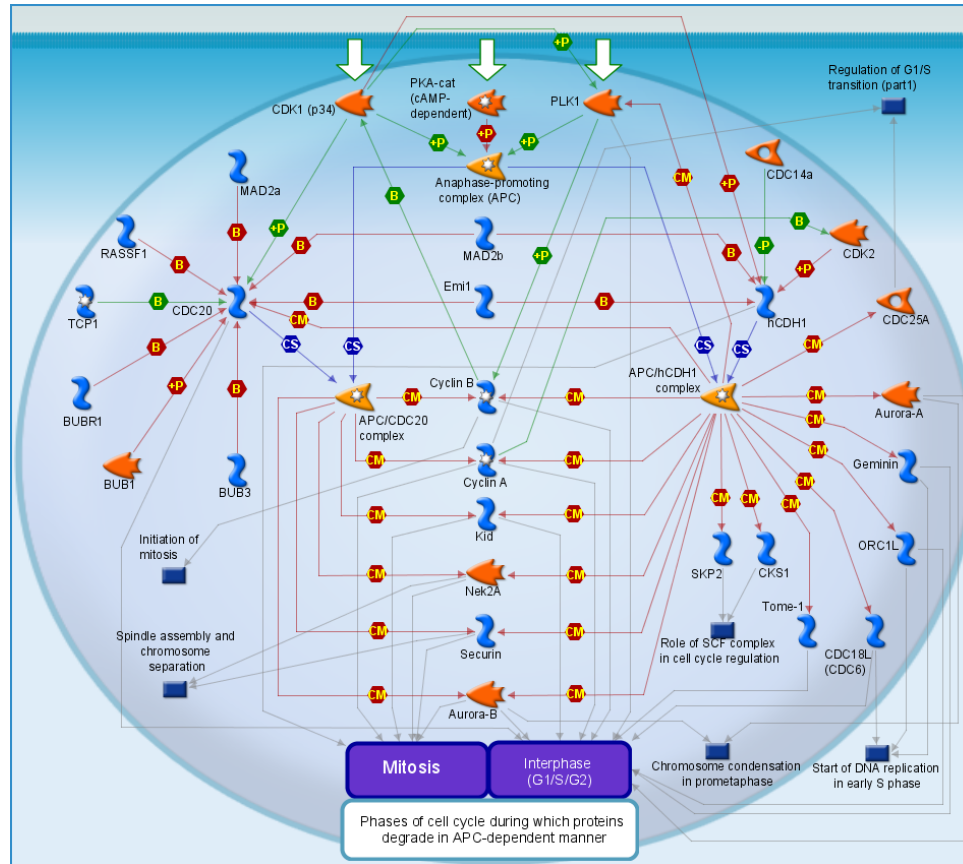
Nádor jako nemoc buněčného cyklu?

- Ztráta regulace buněčného cyklu je kritická součást buněčné transformace.
- Ztráta regulace buněčného cyklu není jedinou součástí kancerogeneze
- sama o sobě není plně transformující

Buněčný cyklus



Buněčný cyklus doopravdy



Klíčové molekuly buněčného cyklu

Každá fáze cyklu je katalyzovaná specifickými komplexy cyklin-dependentní kinázy a cyklinu.

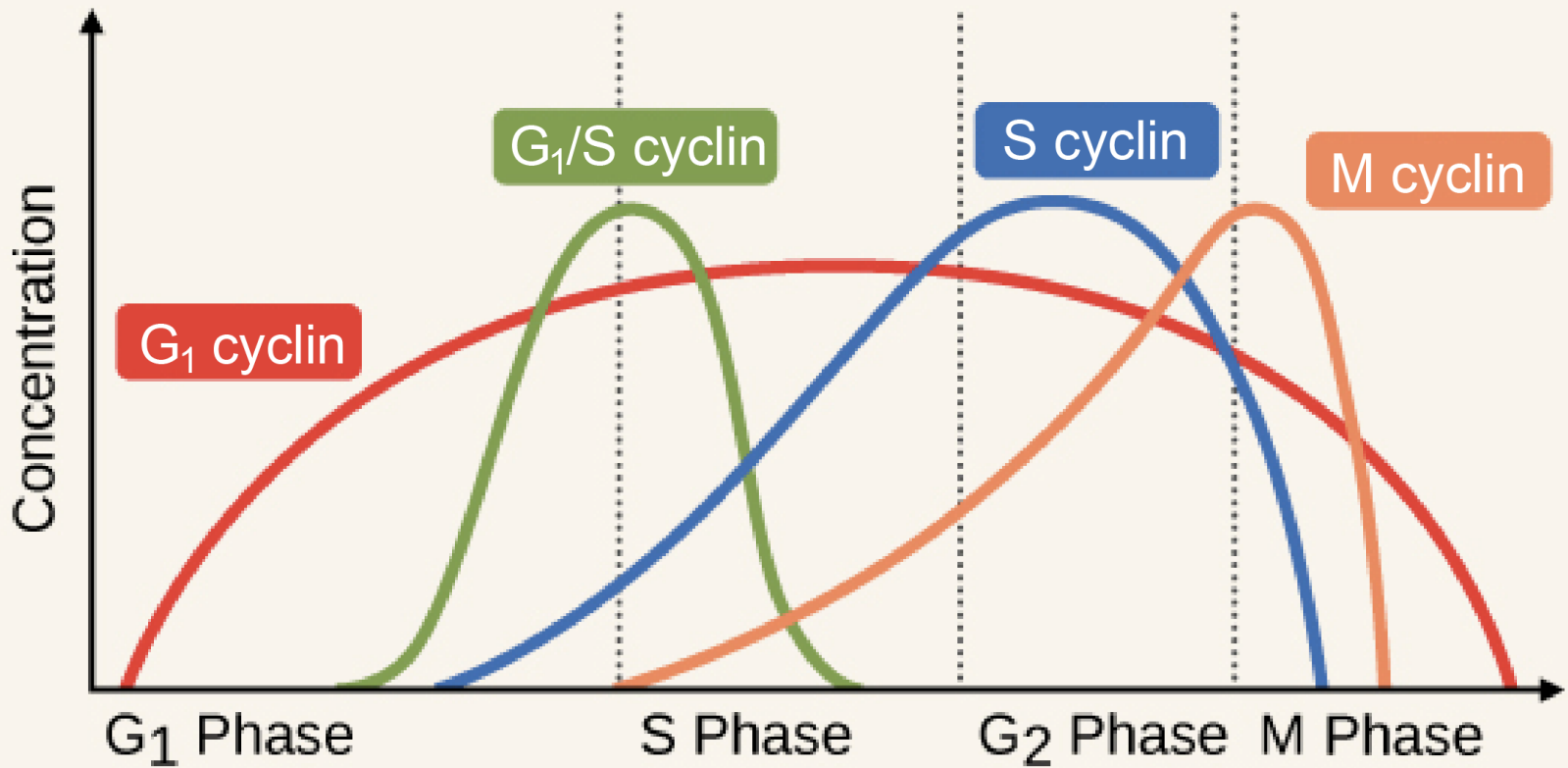
cyklin-dependentní kinázy (CDK)

- fosforylace svých substrátů
- mají katalytickou a regulační podjednotku, aktivita vždy závislá na vazbě cyklinu

cykliny

- jejich hladina kolísá v závislosti na fázi buněčného cyklu
- aktivují příslušnou CDK a směřují ji k jejím substrátům, pak jsou rychle odbourány

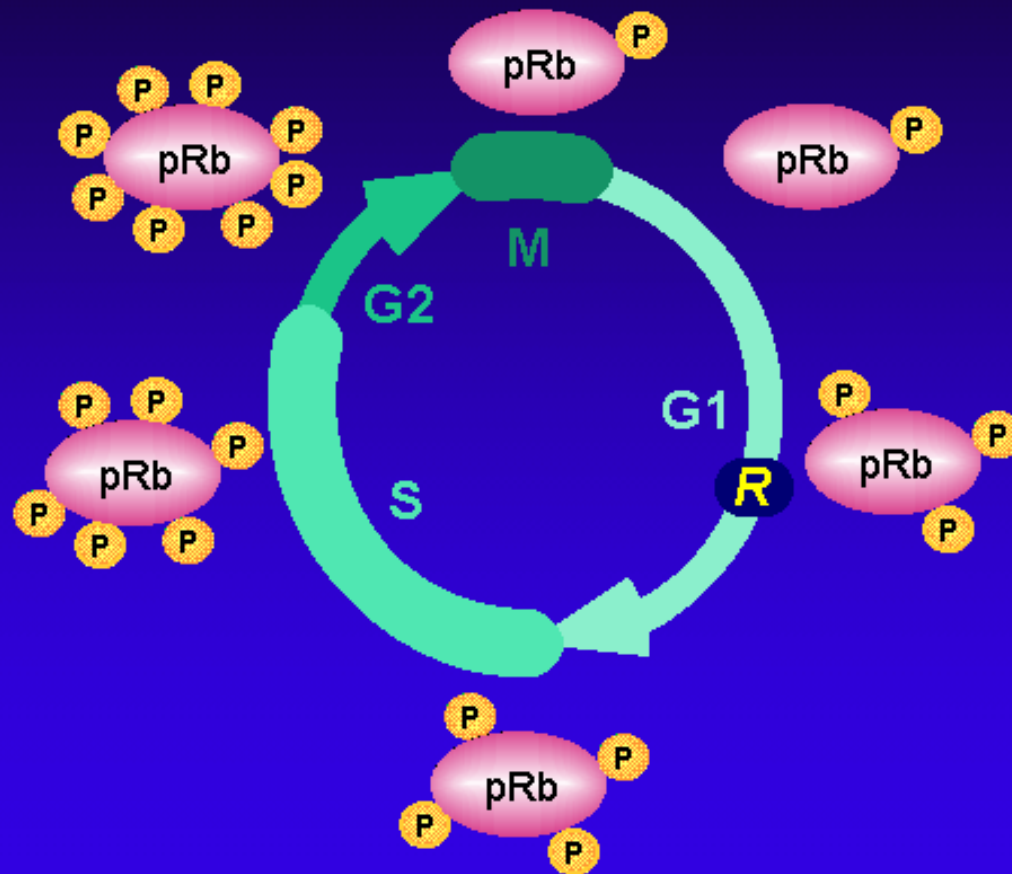
Cyclin Expression Cycle



pRB - spínač buněčného cyklu

- pRB v málo fosforylovaném/nefosforylovaném stavu blokuje průchod bodem restrikce:
 - interaguje s TF rodiny E2F
 - blokuje jejich schopnost transaktivovat jejich cílové geny - nutné pro S fázi
 - fosforylací ztrácí pRB schopnost vázat E2F a průchod bodem restrikce je tak možný
- ⇒ regulace průchodu bodem restrikce = regulace fosforylace pRB

Cell cycle regulated phosphorylation of the retinoblastoma protein



Regulace fosforylace pRB







- pozitivně ovlivněna:
 - komplexy cyklinů D (D1, D2 a D3) a CDK4/CDK6
 - komplexy cyklinu E a CDK2
- negativně ovlivněna:
 - inhibitory komplexů cyklin:CDK p21^{WAF1} a p27^{KIP1}
 - inhibitory CDK p15^{INK4B} a p16^{INK4A}

Mitogenní signalizace vede ke zvýšené expresi cyklinů D a snížení hladiny inhibitorů

Antimitogenní signalizace vede ke snížení hladiny cyklinů D, k navýšení hladiny některého inhibitoru

Mutace v Rb – nekontrolovatelné dělení

Šest získaných vlastností maligního nádoru

získaná schopnost	příklad
 Soběstačnost v produkci růstových signálů	aktivace H-RAS
 Necitlivost k signálům zastavujícím CC	ztráta RB
 Poškození apoptózy	produkce IGF
 Neomezený replikační potenciál	aktivace telomerázy
 Posílení angiogeneze	produkce VEGF
 Tvorba metastáz	inaktivace E-cadherinu

Nestabilita genomu jako podmínka akumulace všech nutných změn?

Buněčná smrt a vývoj nádoru

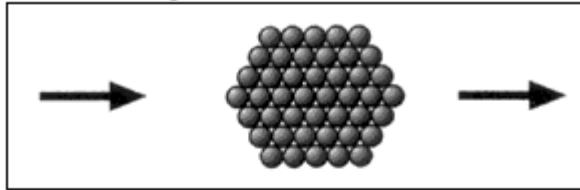
- Rychlost růstu tkání je určována rychlostí buněčného dělení a rychlostí buněčné smrti
- Při homeostáze jsou oba procesy v rovnováze
- U nádoru je rovnováha mezi buněčným dělením a buněčnou smrtí porušena

Apoptóza

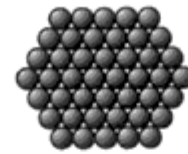
- Buňky žijí po omezenou dobu
- Potom apoptóza (programovaná buněčná smrt)
- Nádorové buňky jsou resistantní k signálům smrti

Nádory: buněčná smrt a homeostáze

A. Balanced proliferation and death

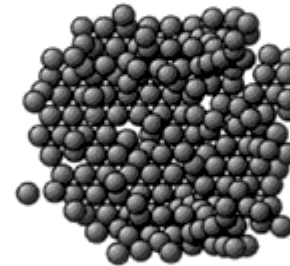
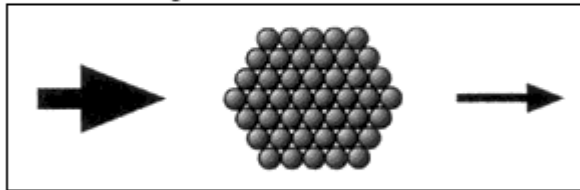


OUTCOME



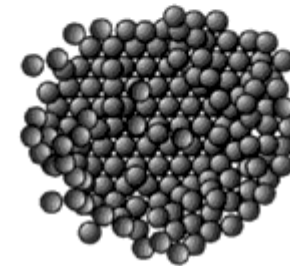
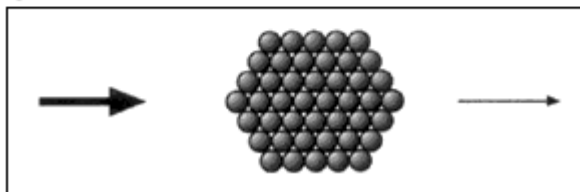
Homeostasis

B. Increased proliferation



Neoplasia

C. Decreased cell death



Neoplasia

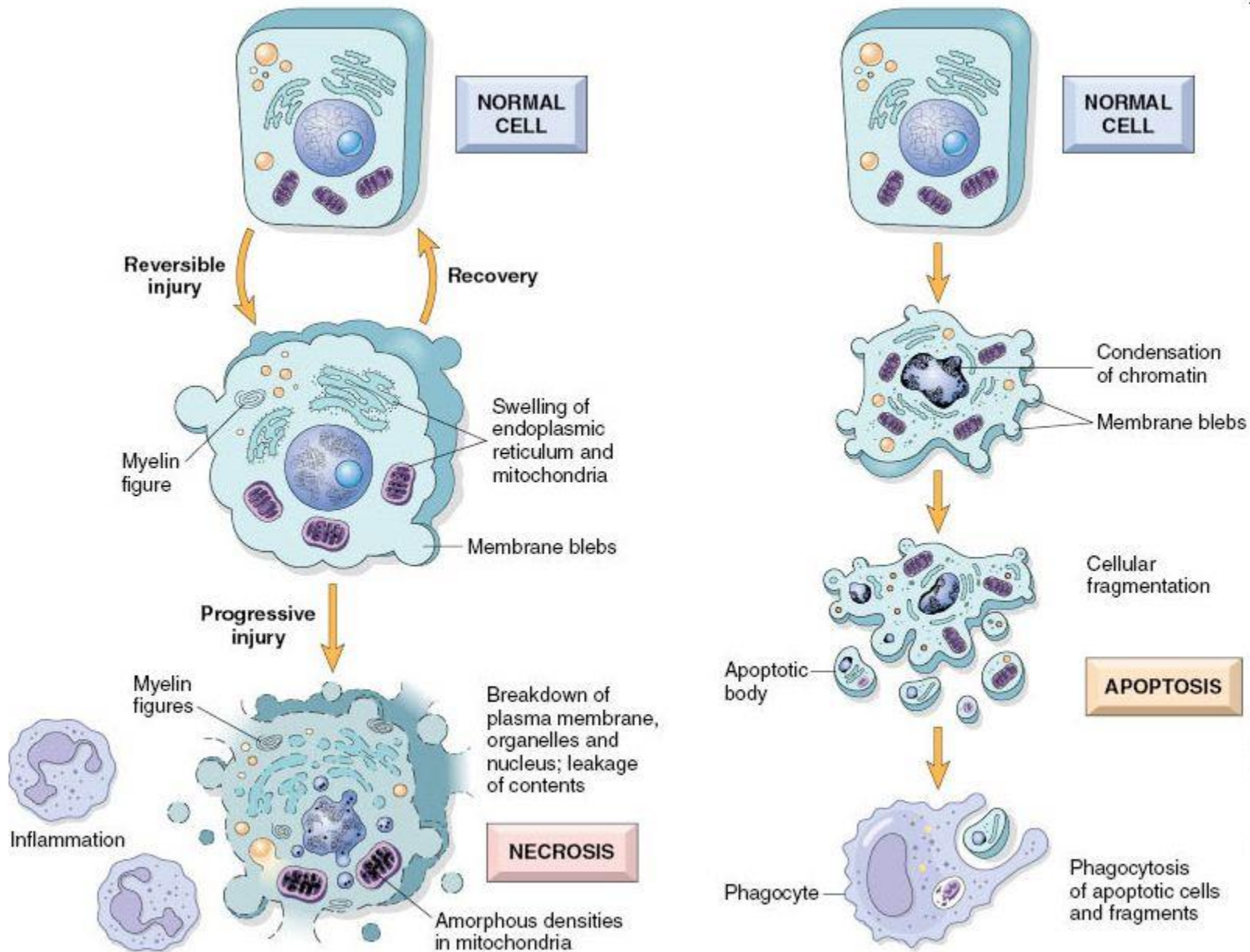
Nekróza a apoptóza

Nekróza:

- týká se skupiny postižených buněk
- vyvolána nefyziologickým poškozením (virová infekce, hypotermie..)
- významná zánětlivá reakce

Apoptóza - programovaná buněčná smrt:

- postihuje jednotlivé buňky
- indukována fyziologickými stimuly (nedostatek růstových faktorů)
- žádná zánětlivá reakce
- fyziologická



Nekróza

Morfologické znaky:

- začíná bobtnáním cytoplasmy a mitochondrií
- rozpadají se organely
- ztráta integrity buněčné membrány

Biochemické znaky:

ztráta regulace homeostáze

pasivní proces nevyžadující energii (běží i ve 4°C)

nahodilá degradace DNA

Apoptóza

Morfologické znaky:

- kondenzace buňky a jádra
- výchlípky membrány („blebs“)
- kondenzace chromatinu
- fragmentace jádra a rozpad buňky na apoptotická tělíška

Biochemické znaky:

- přísně regulovaný, aktivní proces

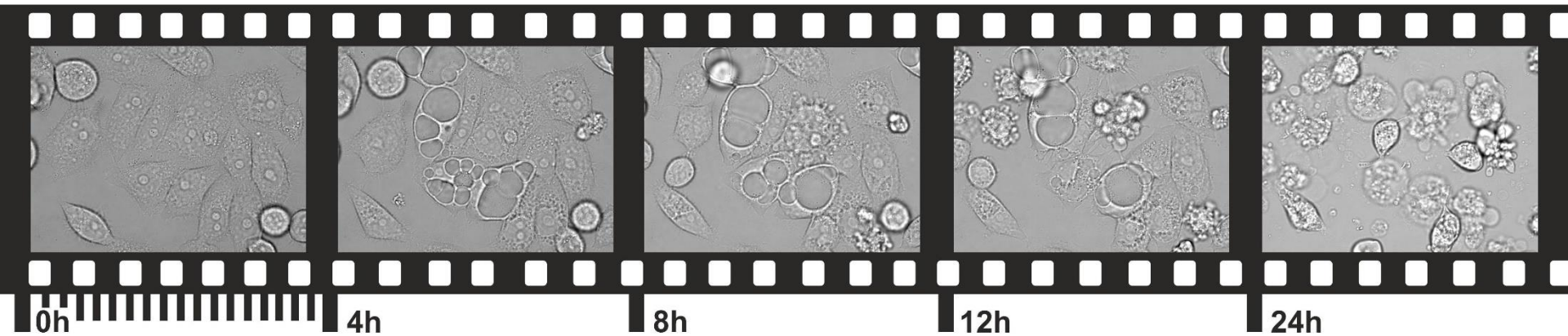
Apoptóza je fyziologický proces

Buněčná smrt se v mnohobuněčném organismu objevuje během celého vývoje. Je součástí embryogeneze a organogeneze:

- odumírání neuronů během vytváření CNS
- odumírání buněk během tvorby končetin,...

Apoptóza odstraňuje škodlivé buňky:

- negativní selekce autoreaktivních lymfocytů
- smrt buněk rozpoznaných jako buňky napadené virem
- buňky s mutací DNA



HeLa cancer cells after the treatment of novel compound isolated from cyanobacteria; the cells undergo apoptosis, typical apoptotic morphology (blebbing)

Změny v regulaci apoptózy jsou patologické

Zvýšená apoptóza

- Syndrom získané imunodeficience AIDS (CD4+ T-buňky)
- neurodegenerativní nemoci (Alzheimer, Parkinson)
- některé autoimunitní nemoci

Suprese apoptózy

- nádory
- některá autoimunitní onemocnění
- virové infekce

Regulace apoptózy

Signály přežití, které přicházejí z vnějšího prostředí,
vnitřní signály - monitorují buněčnou integritu.

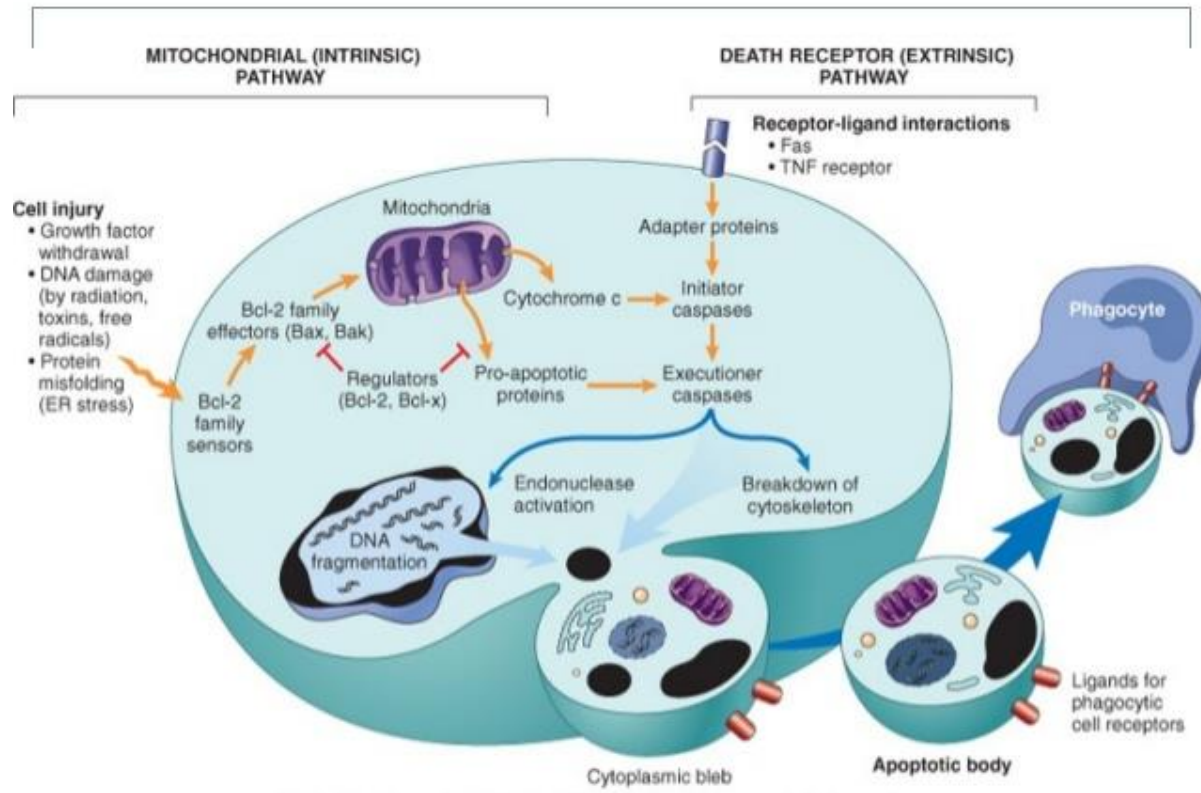
Apoptóza je spuštěna:

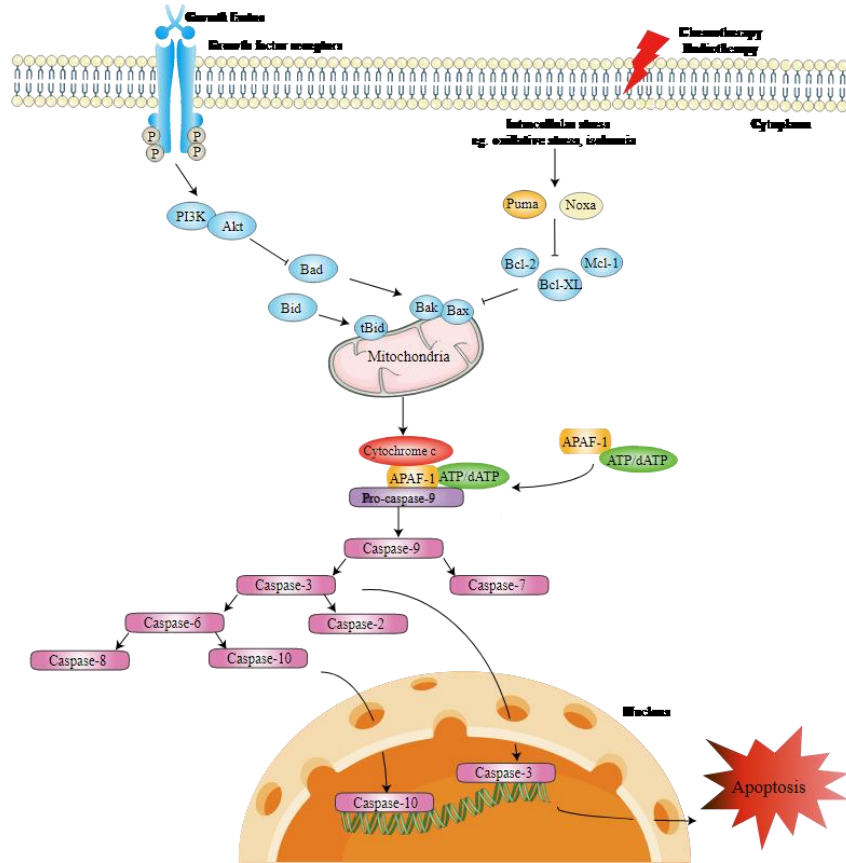
- jestliže buňka ztratí kontakt s vnějším prostředím (anoikis)
- jestliže je buňka neopravitelně poškozena
- jestliže buňka simultánně dostává signály indukující buněčné dělení a apoptózu
- jestliže buňka dostává signály smrti

Regulace a průběh apoptózy

Vnější cesta receptorová: vazbou ligandu na příslušný receptor smrti vzniká proapoptotický signál. Ten vede k aktivaci domény smrti za kooperace dalších proteinů. Cílem je aktivace prokaspázy 8.

Vnitřní cesta: signalizací např. přes p53 je zahájen apoptotický děj, jehož složkou je systém Bcl-2/Bax, signalizace přes mitochondrie, tvorba komplexu nazývaného apoptozóm a cílem je aktivace prokaspázy 9.





Receptory smrti

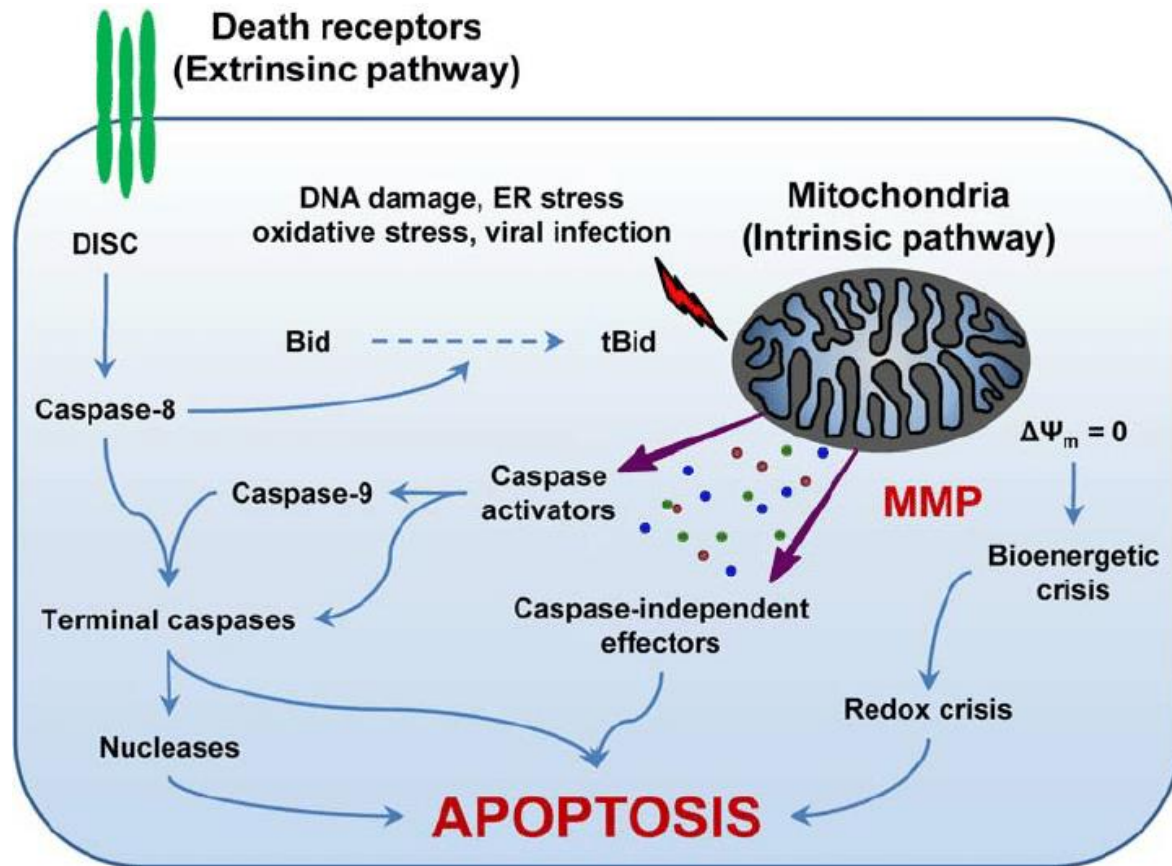
- povrchové receptory – přenos proapoptotických signálů indukovaných ligandy smrti
- Mohou aktivovat kaspázy během sekund po vazbě ligandů a způsobit odstranění buňky během několika hodin.
- Patří do superrodiny receptoru TNF („tumor necrosis factor“)

Receptory smrti a jejich ligandy

- **CD95 (Fas, Apo1) - CD95L**
- **TNFR1 (p55, CD120a) - TNF, lymphotoxin α**
- **CAR1**
- **DR3 (Apo3, WSL-1, TRAMP, LARD) - Apo3L (TWEAK)**
- **DR4 - Apo2L (TRAIL)**
- **DR5 (Apo2, TRAIL-R2, TRICK 2, KILLER) - Apo2L (TRAIL)**

Úloha mitochondrií v apoptóze







- klíčová úloha v regulaci buněčné smrti
- Pro průběh apoptózy je klíčové vytvoření apoptozómu
 - k aktivaci iniciační kaspázy
 - cytochromem C, Apaf-1 a prokaspázou-9
 - Kritické pro vytvoření apoptozómu je uvolnění cytochromu C z mitochondrií



Poškození apoptózy u nádorů

- up-regulace Bcl-2 (chromozomální translokací) v lymfomech
- up-regulace faktorů přežití IGF-1, IGF-2
- mutace a downregulace receptoru smrti Fas
- mutace bax
- inaktivace p53

Šest získaných vlastností maligního nádoru

získaná schopnost	příklad
 Soběstačnost v produkci růstových signálů	aktivace H-RAS
 Necitlivost k signálům zastavujícím CC	ztráta RB
 Poškození apoptózy	produkce IGF
 Neomezený replikační potenciál	aktivace telomerázy
 Posílení angiogeneze	produkce VEGF
 Tvorba metastáz	inaktivace E-cadherinu

Nestabilita genomu jako podmínka akumulace všech nutných změn?

Replikační potenciál

- Savčí buňky mají replikační potenciál 60-70 dělení (Hayflickův limit)
- Pak přejdou do stádia senescence – změni morfologii, metabolicky aktivní, nedělí se, blok CC – p53, Rb
- Mutace v p53 nebo Rb – dalších cca 30 dělení – krize, chromozomální aberace – apoptóza
- 10^{-7} – nesmrtelná buňka
- Většina nádorových buněk - nesmrtelných

Jak se počítá replikační potenciál?

- Telomery jsou repetitivní sekvence na koncích lineárních chromozómů, na které se váží proteinové komplexy. Jejich hlavní funkcí je ochrana konců lineárních chromozómů.
- Telomeráza je ribonukleoproteinový enzym, který je nutný pro kompletní replikaci konců DNA, tj. udržení stabilní délky telomer.
- Většina buněk neexprimuje telomerázu a telomery se proto progresivně zkracují při každém buněčném dělení. To souvisí s problémem neúplné replikace chromozómů
- Nádory – zvýšení exprese telomerázy (85-90 %)

Problém neúplné replikace chromozómů

- DNA polymeráza katalyzuje prodlužování řetězce jen ve směru $5' \rightarrow 3'$.
- Proto se jedno vlákno uvnitř replikační vidlice syntetizuje kontinuálně a jedno diskontinuálně po Okazakiho fragmentech z RNA primeru.
- RNA primery jsou potom odstraněny a nahrazeny sekvencí DNA.
- Jen na $5'$ -koncích dceřinného vlákna zůstává nedosyntetizovaná část vlákna \Rightarrow zkrácení při každé replikaci.

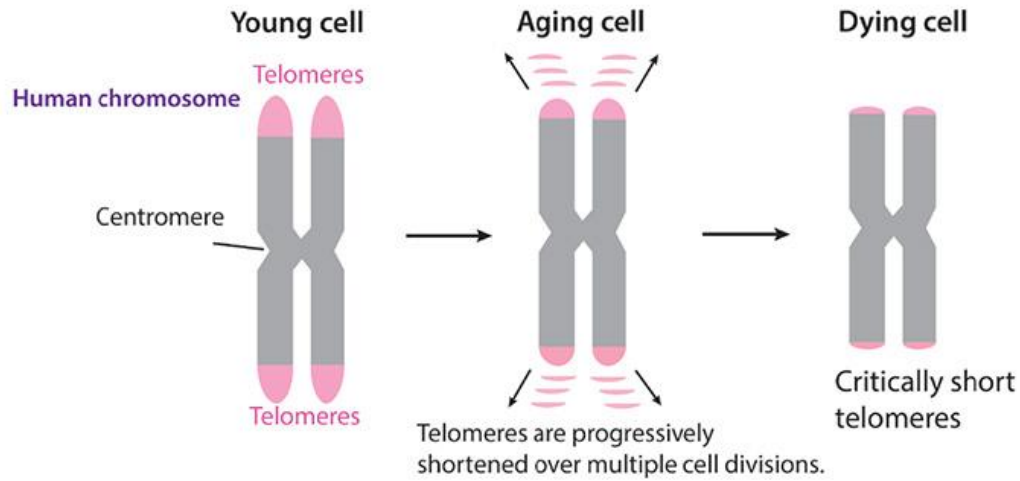
Telomerová hypotéza - 2

- Při dosažení kritické délky telomer jsou spuštěny signály, které navodí stav senescence. Při dalším dělení (inaktivace p53 a RB) se telomery dále zkracují a způsobují chromozomální nestabilitu, která vyvolá krizi.
- ⇒ Zkracování telomer funguje jako mitotické počítadlo, které určuje proliferativní kapacitu všech buněčných typů, které nemají telomerázovou aktivitu.

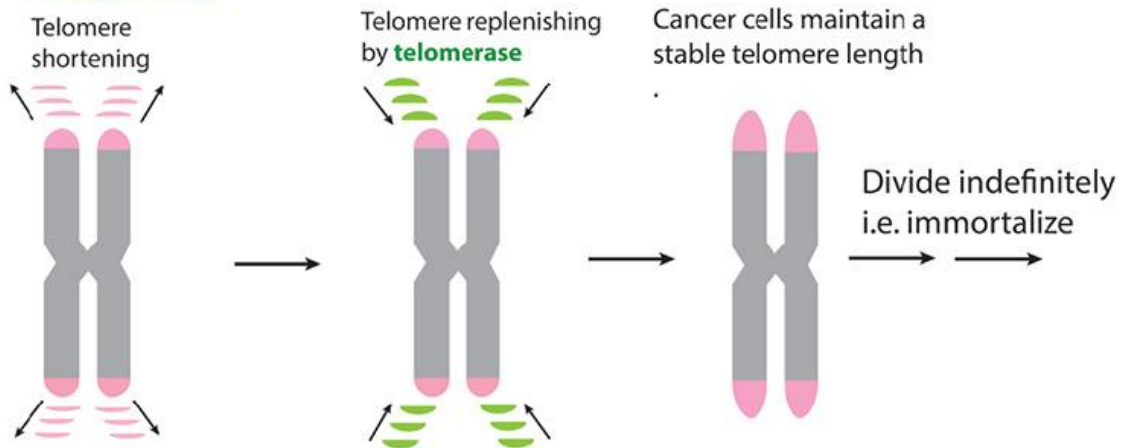
Buňky s aktivní telomerázou

- Zárodečné buňky
- Některé kmenové buňky
- Některé somatické buňky za specifických podmínek:
 - mitogenně stimulované lymfocyty
 - buňky v proliferativní zóně střevních krypt
 - buňky proliferativní bazální vrstvy kůže
 - buňky lobulárního endotelia prsu během těhotenství







In normal cells



In cancer cells



Sedm získaných vlastností maligního nádoru

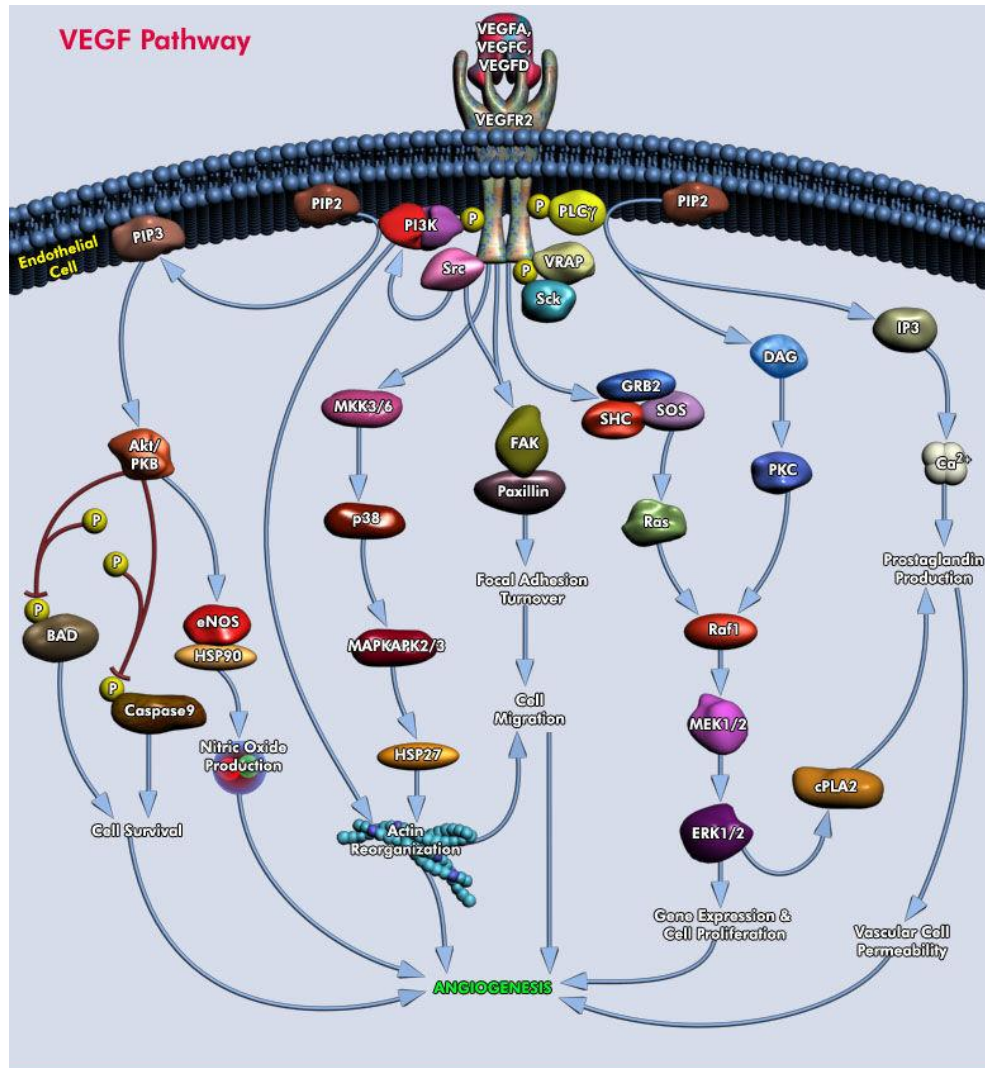
získaná schopnost	příklad
 Soběstačnost v produkci růstových signálů	aktivace H-RAS
 Necitlivost k signálům zastavujícím CC	ztráta RB
 Poškození apoptózy	produkce IGF
 Neomezený replikační potenciál	aktivace telomerázy
 Posílení angiogeneze	produkce VEGF
 Tvorba metastáz	inaktivace E-cadherinu

Nestabilita genomu jako podmínka akumulace všech nutných změn?

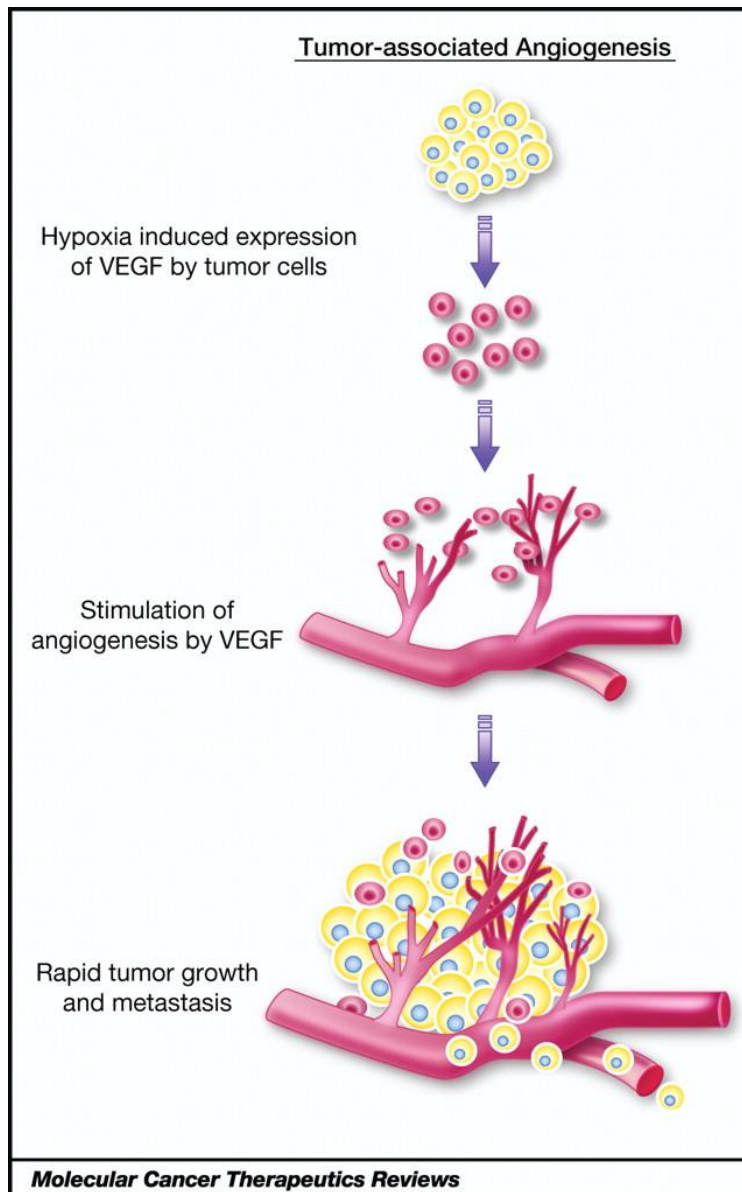
Angiogeneze

- Růst krevních vlásečnic ze stávající vaskulatury
- Důležitý krok - z dormantního stavu nádoru do maligního
- nádor – populace rychle a nekontrolovatelně rostoucích buněk
- Nádory nemohou růst více než 1-2 mm³ několik milionů buněk (nedostatek živin a kyslíku)
- HIF-1 aktivuje VEGF
- Bez angiogeneze roste nádor pomalu a lineárně, pak exponenciálně

VEGF Pathway



Model průběhu neovaskularizace



Které buňky se podílí na neovaskularizaci?

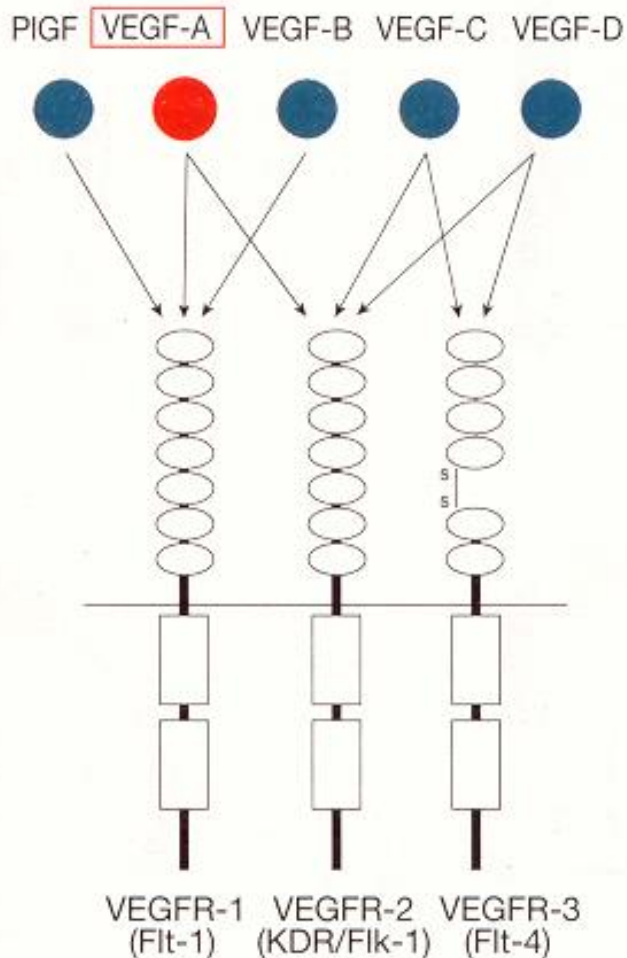
- Nádorové buňky
- Endoteliální buňky
- Stromální buňky
- Krevní buňky
- Extracelulární matrix

Jejich podíl je různý u různých typů nádorů a mění se i během vývoje nádoru.

Nádorová vaskulatura je funkčně i strukturně abnormální







- Nádorová vaskulatura je vysoce neorganizovaná
 - To může vznikat v důsledku nerovnoměrného uvolňování angiogenních regulátorů.
 - Tok krve je chaotický v různých částech systému.
 - Proto vznikají v nádoru místa s hypoxií a nadměrnou kyselostí.
- ⇒ Tato okolnost může ovlivňovat efekt terapie; vytváří se prostor, ve kterém může např. dojít k selekci a klonální expanzi buněk, které neodpovídají na hypoxii apoptózou, ..

VEGF a receptory



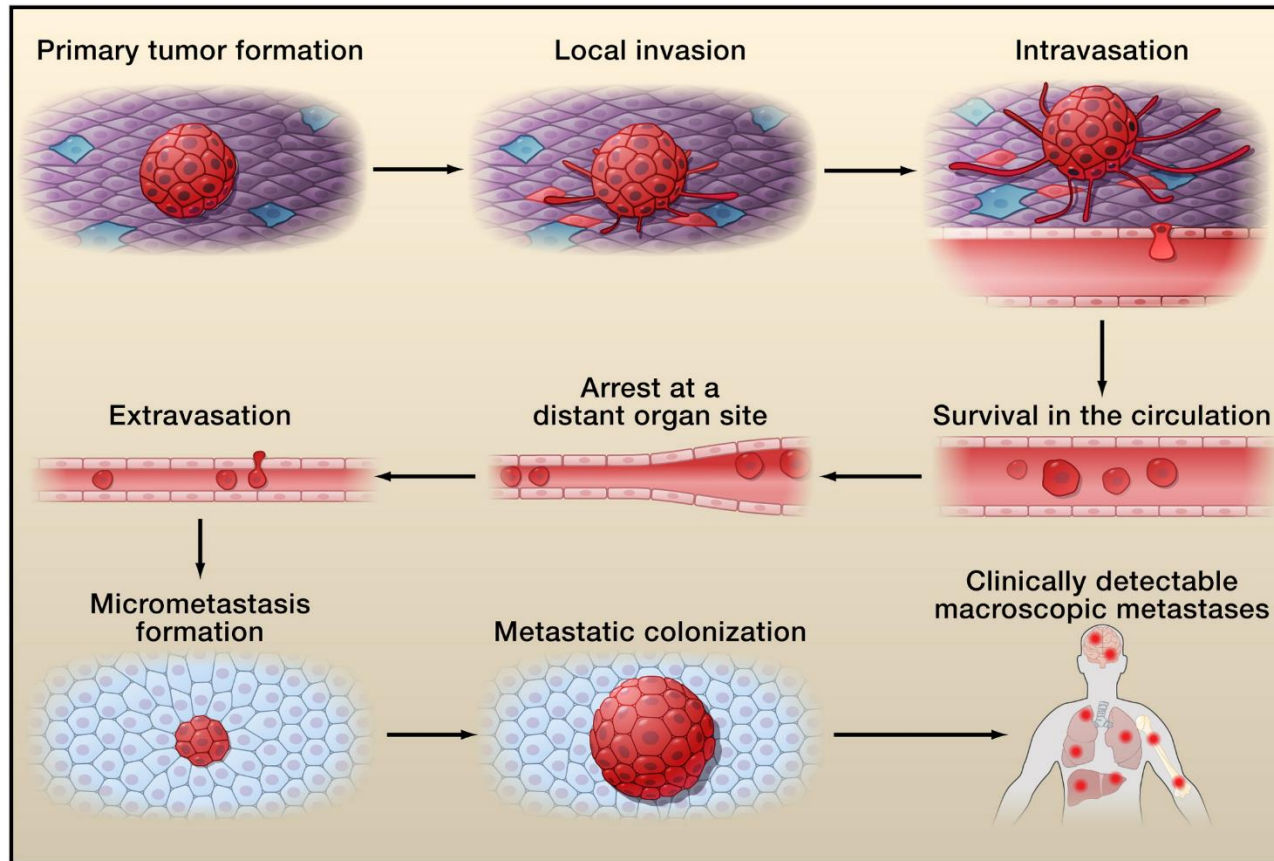
- VEGF byl první charakterizovaný faktor specifický pro vaskularizaci - vaskulární endoteliální růstový faktor (původní název - vaskulární permeabilní faktor).
- Je kritický pro iniciaci vaskulogeneze i pro angiogenní větvení.
- Dnes popsáno 5 různých VEGF faktorů a 3 různé receptory.

Sedm získaných vlastností maligního nádoru

získaná schopnost	příklad
 Soběstačnost v produkci růstových signálů	aktivace H-RAS
 Necitlivost k signálům zastavujícím CC	ztráta RB
 Poškození apoptózy	produkce IGF
 Neomezený replikační potenciál	aktivace telomerázy
 Posílení angiogeneze	produkce VEGF
 Tvorba metastáz	inaktivace E-cadherinu

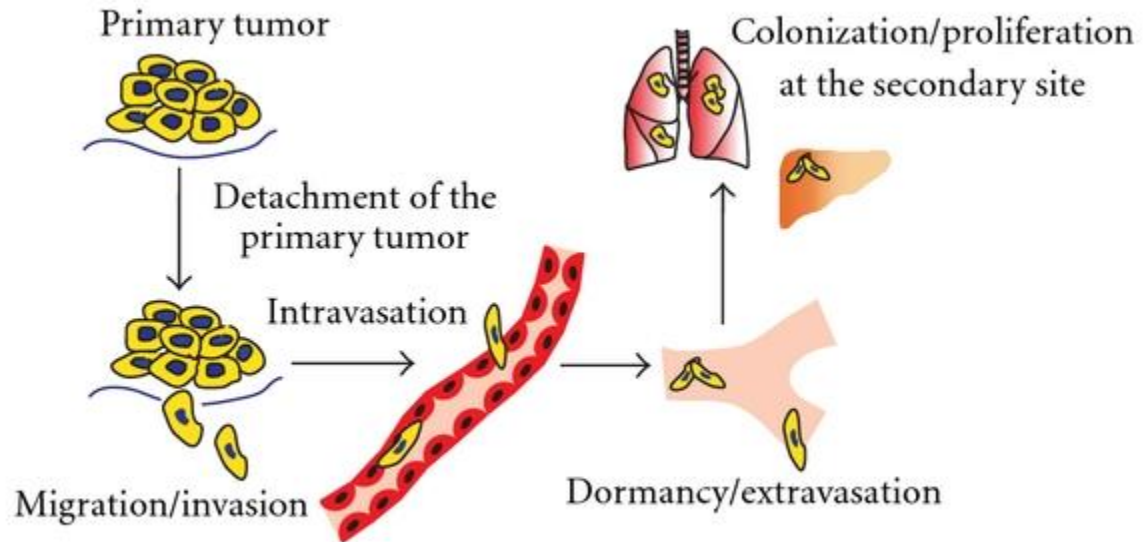
Nestabilita genomu jako podmínka akumulace všech nutných změn?

Vývoj nádoru

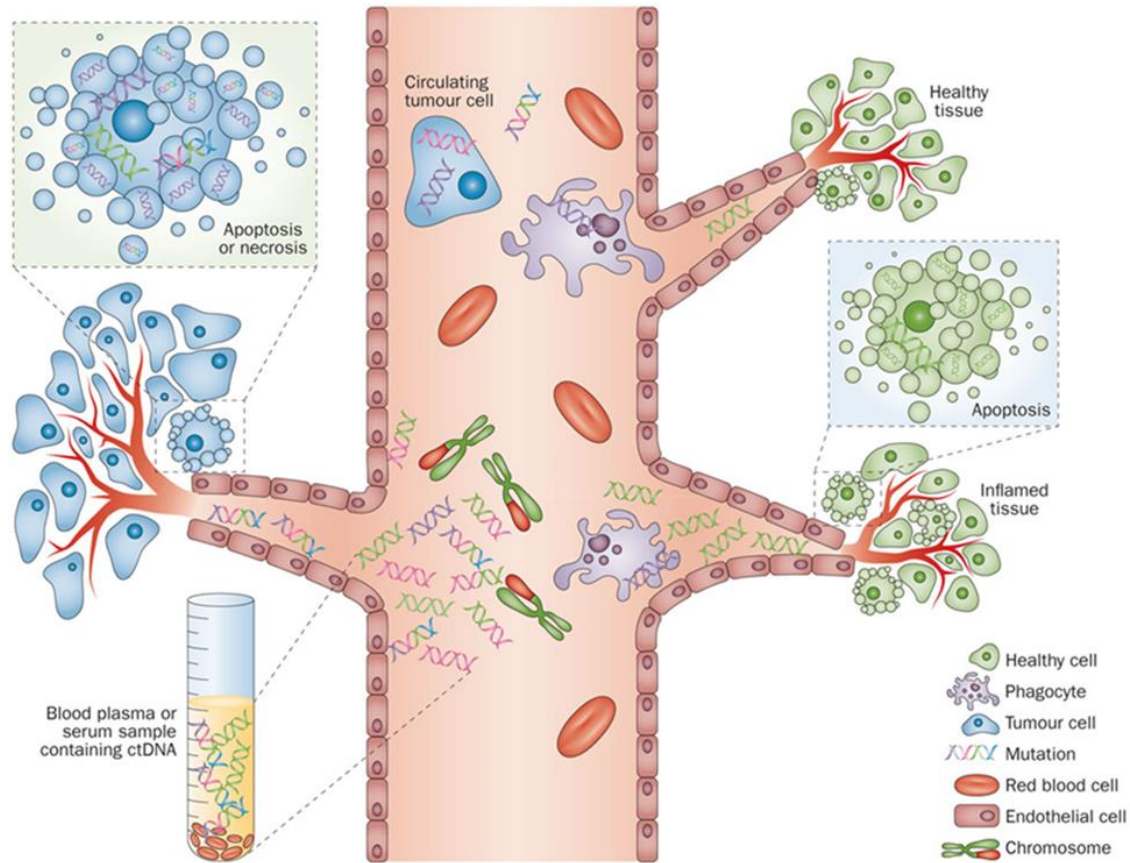


Metastatická kaskáda

1. Uvolnění nádorové buňky z primárního nádoru.
2. Prostoupení ECM a bazální membrány, vstup do cirkulačního systému.
3. Migrace cirkulačním systémem.
4. = 2.
5. Tvorba sekundárního nádoru.



Tekuté biopsie



Metastázy - nejčastější příčina smrti

- Nejzohoubnějším jevem při nádorech
- Příčina asi 90 % úmrtí pacientů s nádory
- Méně časté - bezprostřední působení primárního nádoru:
 - poloha nádoru narušuje některou životní funkci - např. nádory mozku
 - nádory žláznatých buněk způsobující nadprodukcí některých biologicky aktivních molekul - např. Langerhansovy ostrůvky - nadprodukce inzulínu - hypoglykemie – smrt
 - leukémie, lymfomy

Špatné zprávy o metastázách

- Více než 70 % pacientů s invazivním nádorem má zjevné nebo skryté metastázy v době stanovení diagnózy.
- Získání invazivního a metastatického charakteru je časná událost během progresu nádoru.
- Milióny nádorových buněk se denně dostávají do krevního řečiště.
- Angiogeneze je obecným znakem kancerogeneze, je také časnou událostí a potencuje metastatickou diseminaci nádoru.

Dobré zprávy o metastázách

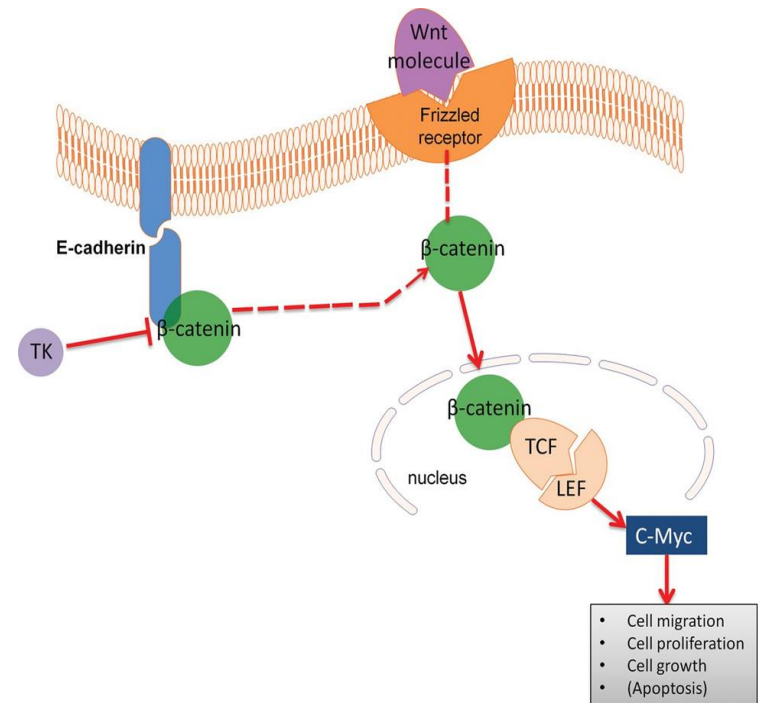
- málo efektivní: méně než 0.01 % cTC založí metastázu
- cTC zachytitelné dříve než zjevná metastáza
- chirurgické odstranění, radioterapie, chemoterapie, imunoterapie, hormonální terapie nebo jejich kombinace

Mechanismus invaze nádorových buněk

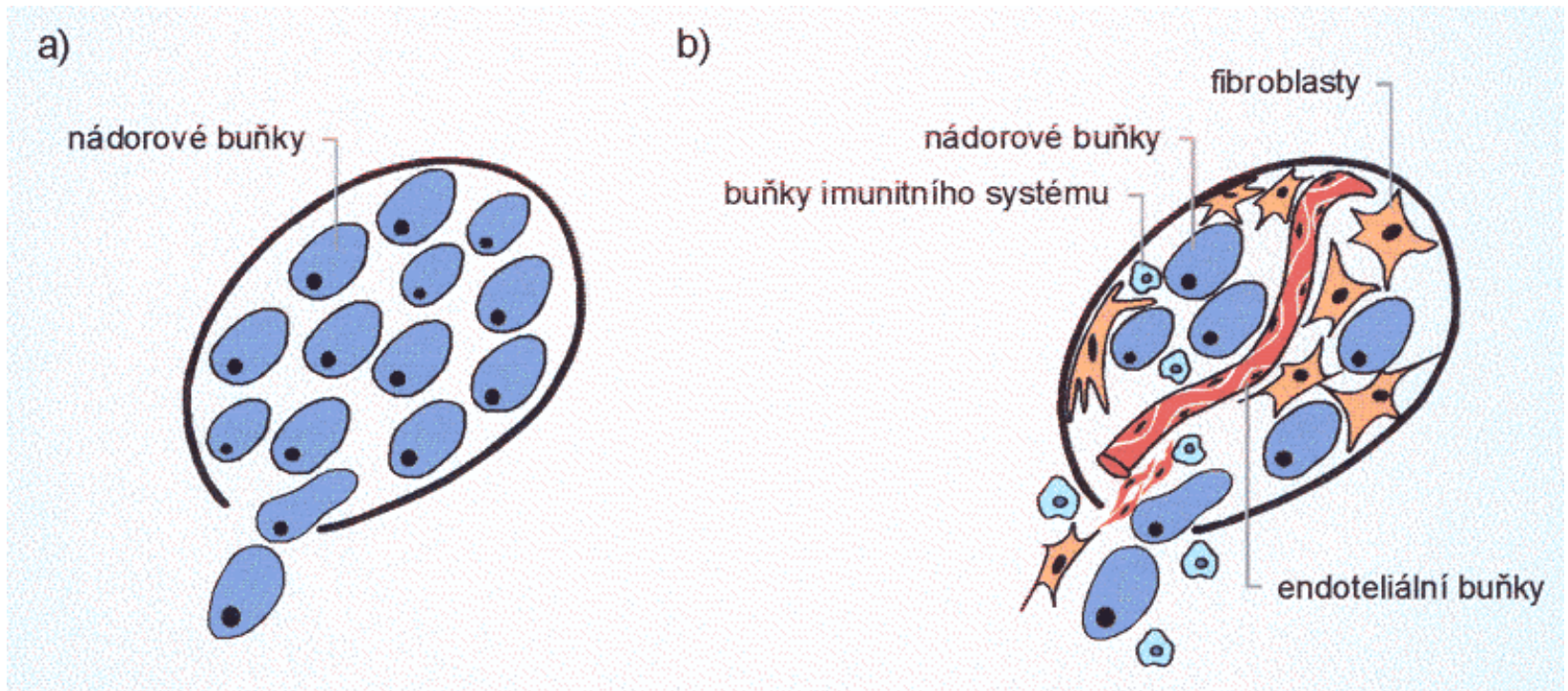
- Adhezivní molekuly – N-CAM – adhezivní molekula, zvýšená exprese u Wilmsova tumoru, neuroblastomu...
- E-cadherin – na epitelových buňkách, antiproliferační signály, nádory snižují expresi
- Integriny – změny v expresi na migrujících buňkách

E cadherin

- nádorový supresor
- Glykoprotein - adheze buněk
- Diferenciace epiteliálních buněk
- Ztráta exprese – epiteliálně-mezenchymová tranzice, důležitý krok v metastatické progresi lidských nádorů
- Snížená exprese u epiteliálních nádorů – invazivita a horší prognóza

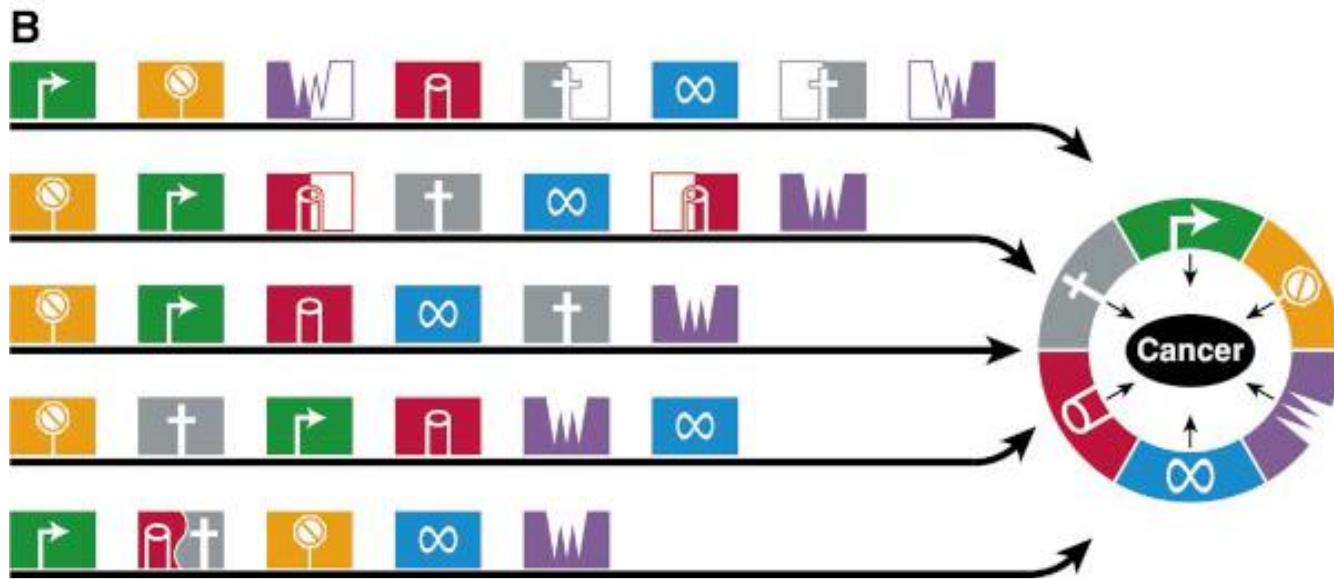


Nádor je komplexní tkáň



V nádorové tkáni se vyskytují nejenom transformované nádorové buňky (a), ale také normální „nepozměněné“ buňky, které „spolupracují“ při vývoji nádoru (b).

Kancerogeneze má individuální průběh

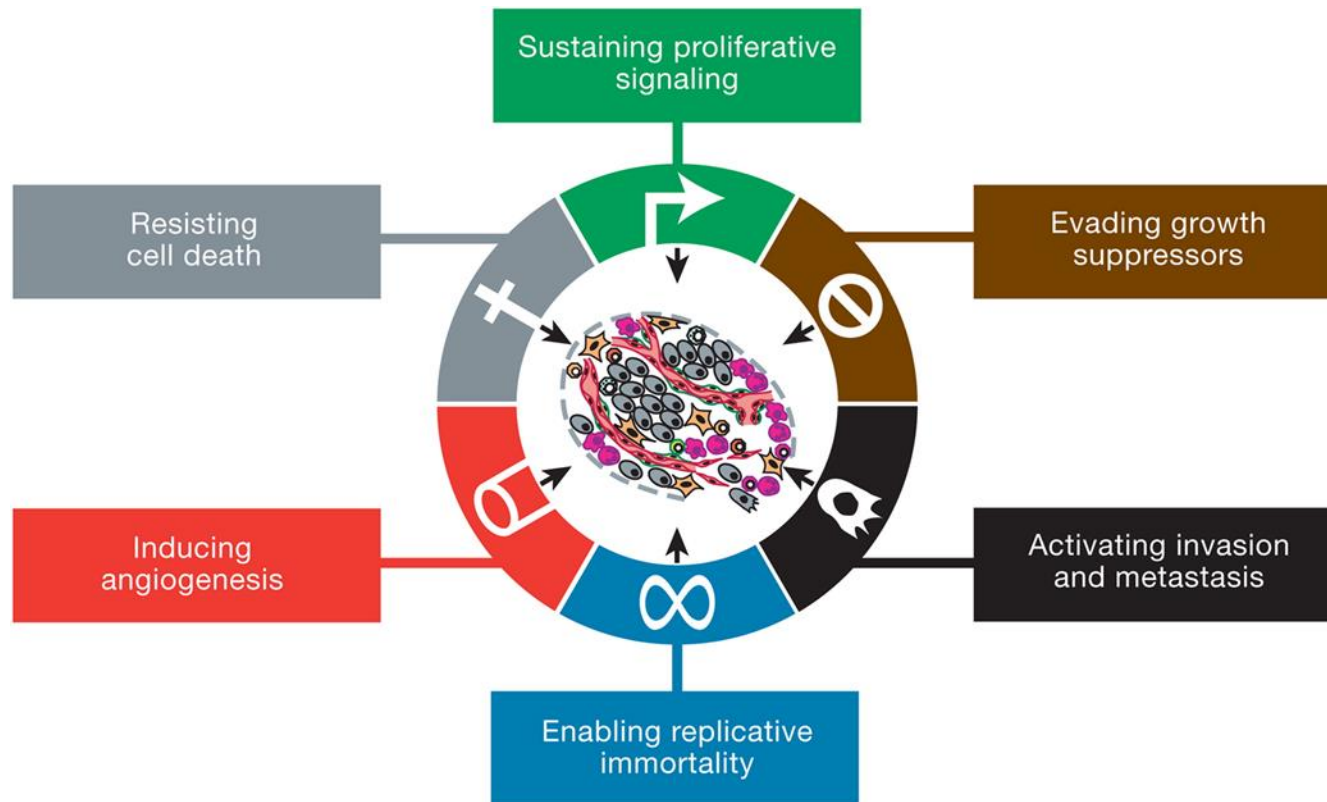


Individuální je pořadí a počet zásahů a konkrétní geny

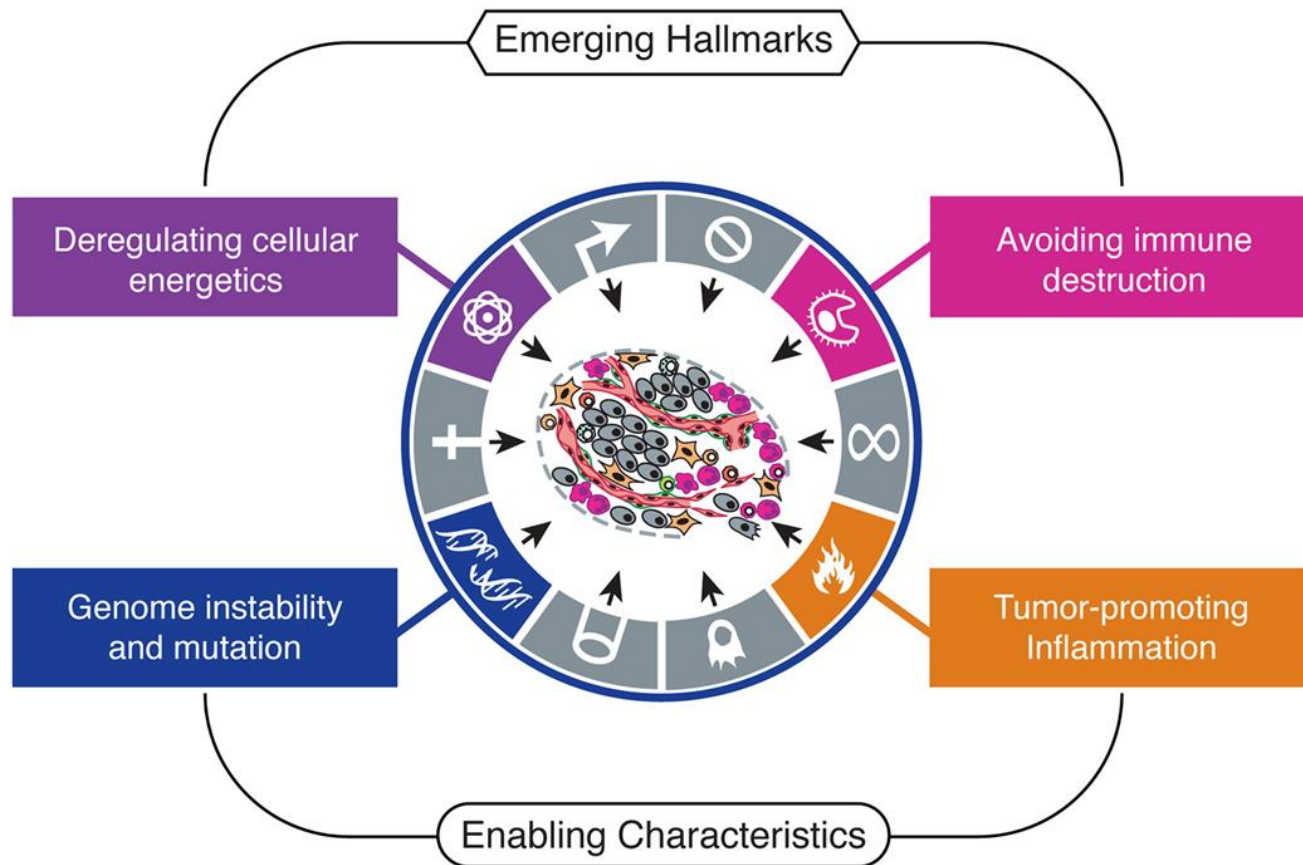
Hallmarks of cancer the next generation



Klasické hallmarks of cancer



Hallmarks of Cancer: The Next Generation



Hallmarks of Cancer: The Next Generation

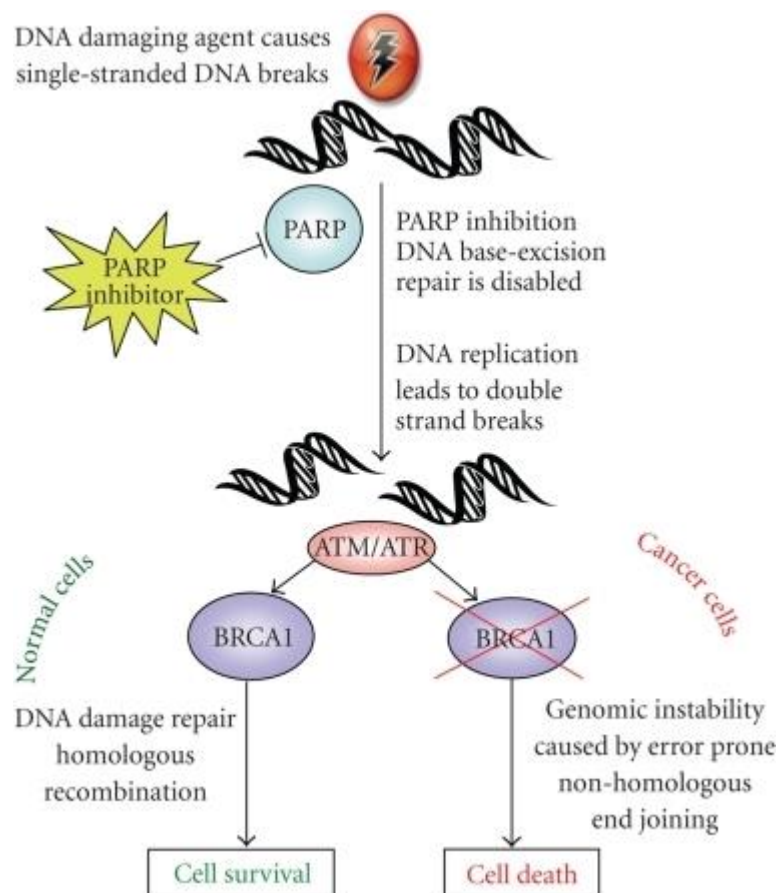
- deregulace buněčné energetiky
- ochrana před imunitním systémem
- záněty podporující nádor
- genomová nestabilita

Deregulace buněčné energetiky

- Změna v metabolismu 4 základních typů makromolekul (proteiny, lipidy, NK, karbohydráty)
- Geny pro glykolýzu jsou overexprimované v nádorech
- Dieta – snižuje hladiny glukózy – snižuje rychlost proliferace a progrese (nádory prsu, prostaty, plic, střeva..)
- Netoxická terapie?

Genomová nestabilita a mutace

- Nádorové buňky nestabilní genom – mutace, translokace, jednořetězcové zlomy, dvouřetězcové zlomy....
- S průběhem onemocnění se zvyšuje množství aberací
- BRCA1 a BRCA2- DNA oprava
- Zvýšený mutační potenciál – hromadění aberací



Ochrana před imunitním systémem

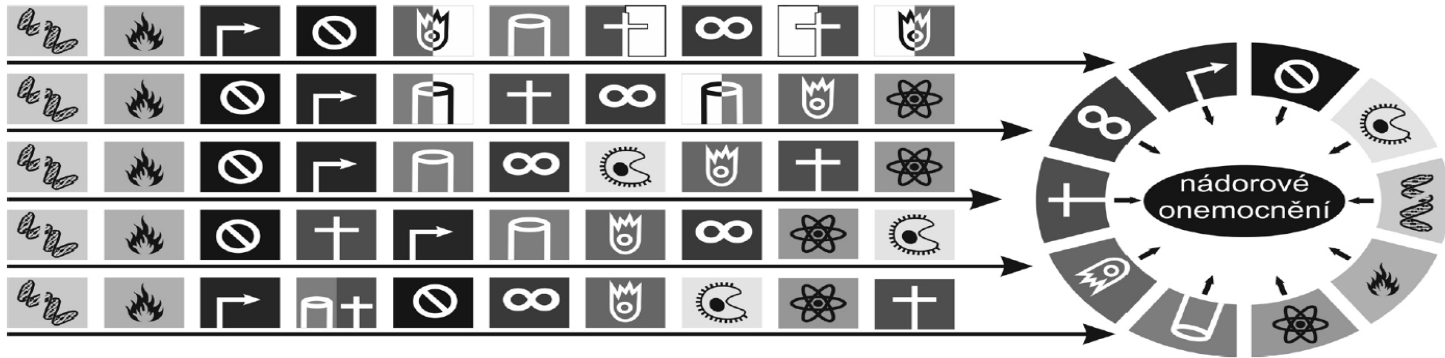
- Eradikace nádorů vs. Imunitní únik
- Imunitní systém schopen rozpoznat a zničit nádorové antigeny - INF- γ
- Vyhýbání se imunitní eliminaci
- Produkce cytokinů a chemokinů v mikroprostředí nádorů - TGF- β
- Imunitní suprese zprostředkovaná regulačními T buňkami (Tregs)

- Diagnostický a terapeutický cíl :
→ CTLA4

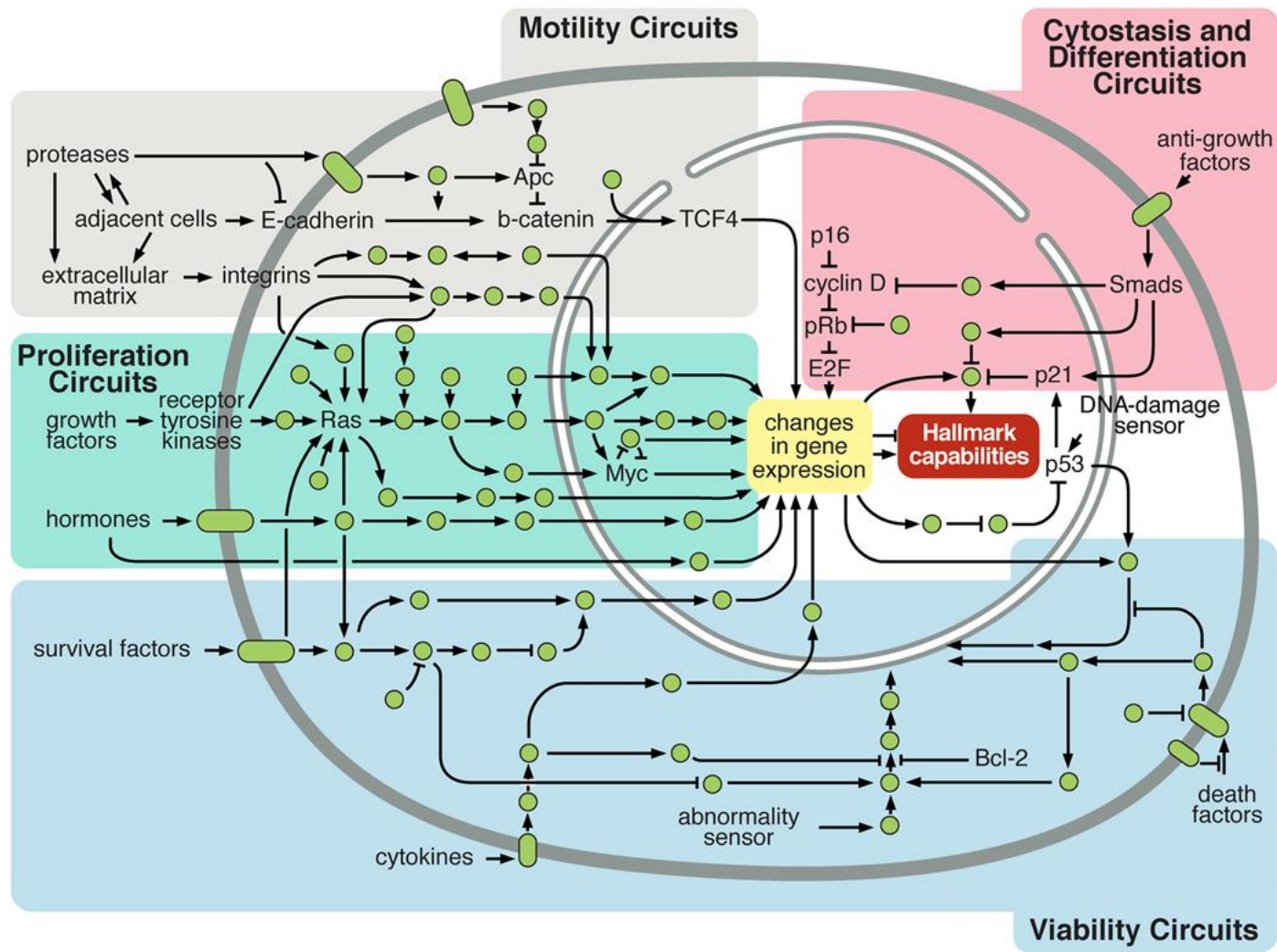
Záněty

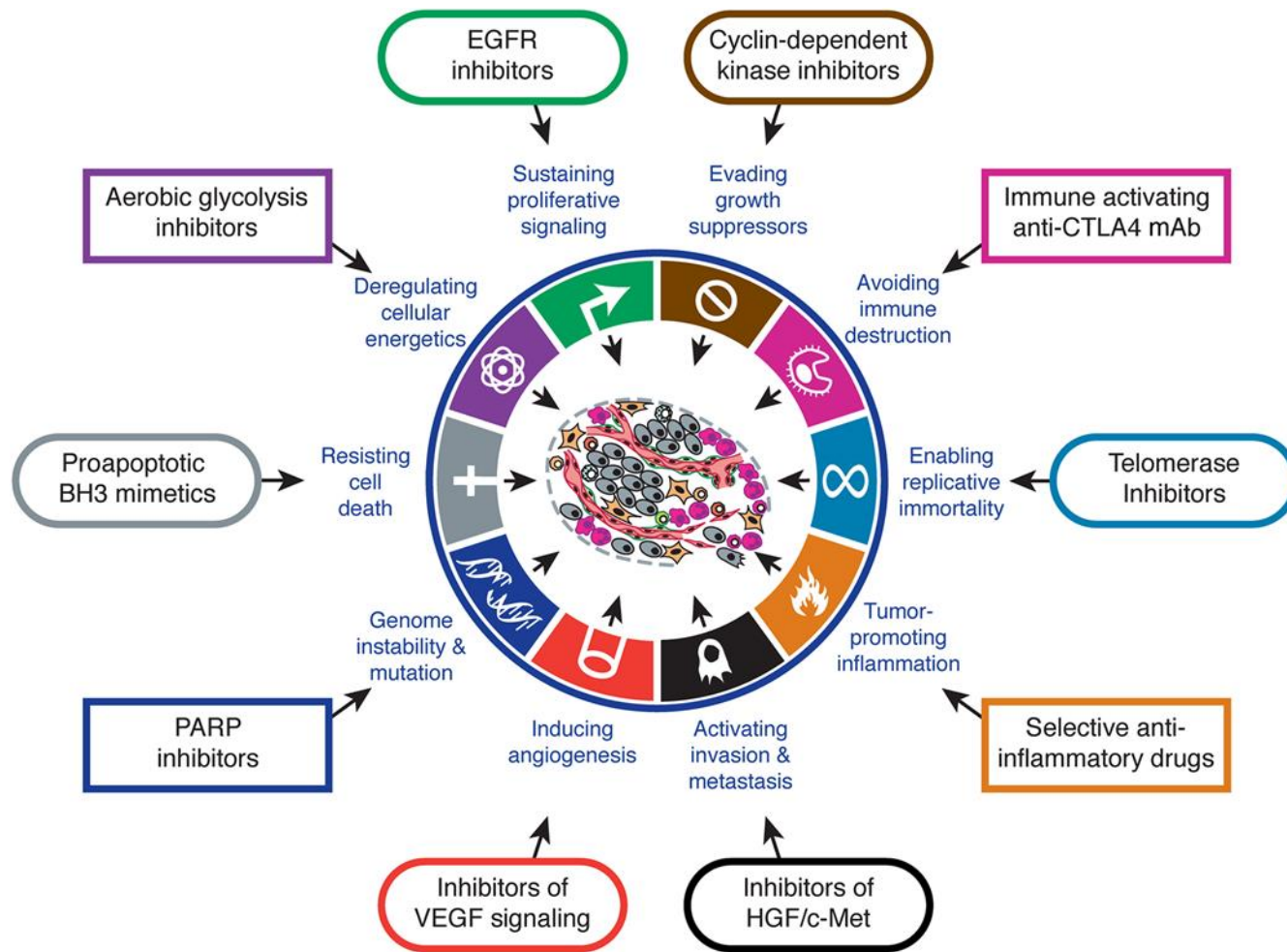
- Nádory -rány, které se nehojí
- Buňky které bojují se záněty mohou nechtě podporovat růst nádoru
 - látky do mikroprostředí nádoru, růstové faktory, proangiogenní faktory, látky pro angiogenezi, invazivitu etc
- Buňky zánětu mohou vyplavovat reaktivní molekuly kyslíku
 - mutagenní pro okolní buňky
- Chronické záněty ovlivněné dietou plnou tuků, kouřením, alkoholem

Kancerogeneze má individuální průběh



Obr. 9.3.44. Individuální průběh kancerogeneze (upraveno dle Hanahan, Weinberg, 2000).





Přečtěte si

- **Hallmarks of cancer**
- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10647931/>
- **Hallmarks of cancer the next generation**
- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21376230/>
- **Hallmarks of cancer the new dimension**
- <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35022204/>

Děkuji za pozornost