

NÁDORY A KANCEROGENEZE

ZL 24.11.09

Biologie nádorového bujení

Nádor je abnormální masa tkáně, která jejíž růst je **autonomní**, není koordinován s růstem ostatních tkání, a **nepřispívá** k zajištění jeho funkcí.

Nádorovým bujením (**kancerogeneze**) vzniká jeden nebo několik patologických **klonů** buněk.

Nádory vznikají ve tkáních, jejichž buňky se dělí.

Probíhající **buněčný cyklus** i vlastní dělení jsou základnou pro vznik spontánní somatické **mutace**, alterace-změna-poškození DNA.

Pravděpodobnost mutace narůstá urychlením proliferace buněk při zrychleném buněčném cyklu.

Zevní etiologické faktory TU bujení

Fyzikální mutagenní podněty

UV záření (sluneční) je málo pronikavé, proto působí vznik kožních nádorů (spinaliomy, basaliomy, melanogenní afekce, xeroderma pigmentosum)

Ionizující záření (částice α , β , záření γ) Vyšší hodnota ionizace (α částice) \rightarrow vyšší pravděpodobnost mutace. Vznik mutace, která způsobí nádorovou transformaci buňky, je děj náhodný – stochastický. Déledobá expozice ionizujícímu záření vyvolá odpověď nastávající pravidelně – děje deterministické (exprese p53)

Zevní etiologické faktory TU bujení

Chemické přímo působící kancerogeny

Alkylační látky: dimetylsulfát, diepoxybutan, b-propiolakton, **cytostatika** Acetylační látky: 1-acetyl-imid,

Prokancerogeny vyžadující metabolickou aktivaci

Polycyklické a heterocyklické aromatické uhlovodíky: **benzantracen, benzpyren**. Aromatické aminy, amidy, azobarviva: benzidin, **dimethyl-aminoazobenzen**

Bakteriální a rostlinné produkty: **aflatoxin B1, griseo-fulvin**, dále: PCB, nitrosamin, insekticidy, **fungicidy**

Zevní etiologické faktory - viry

Viry schopné způsobit nádorovou transformaci

V případě infekce onkogenními RNA viry (retrov.) jsou tyto viry přepsány reversní transkriptázou v molekulu DNA a začleněny do genomu infikované buňky.

DNA viry začlení virovou DNA přímo do genomu

Příklady :

- * Kožní veruky – verruca vulgaris (papovavirus), molluscum contagiosum (poxvirus)
- * T leukemie (RNA retrovirus HTLV1)
- * Burkittův ML a nasofaryngeální karcinom (EBV)

Protoonkogeny a supresory

Virové onkogeny byly zmíněny v předchozím textu

Mutace, které souvisejí s kancerogenezí, nastávají především ve dvou typech genů: v tzv. protoonkogenech a nádorových supresorech. Protoonkogeny kódují proteiny, které regulují - urychlují buněčný cyklus a tak podporují aktivní dělení buněk, tedy jejich **proliferaci**. Aktivace protoonkogenu – přeměna v onkogen. Mutace proto-onkogenů mají **dominantní povahu**, pro kterou platí, že **jediná mutovaná kopie genu je dostatečná pro neregulovanou aktivaci daného procesu.**

Nádorové supresory (antionkogeny) kódují proteiny, jejichž úloha spočívá ve zpomalování rychlosti proliferace buněk. Pro vznik maligního nádoru přispívají mutace supresorových genů, které vedou k inaktivaci jejich proteinů

Onkogeny

Typy onkogenů: (jejich sekvence na následujícím obr)

Růstové faktory (RF) produkované v nadměrném množství:
protoonkogen SIS → koduje β řetězec destičkového
růstového fakt. PDGF; produkty onkogenu RAS \Rightarrow over-
exprese dalších RF, např. TGF- α (který je blízký
epidermálnímu RF - EGF), který indukuje proliferaci
vazbou na EGF receptor

Receptory RF: rodina EGF receptorů, PDGF receptory, apod.

Přenašeče signálů jako RAS (další obr), ABL, β -catenin

Jaderné regulační proteiny - MYC

Regulátory buněčného cyklu: cykliny, cyklin-dependentní
kinázy (CDK4)

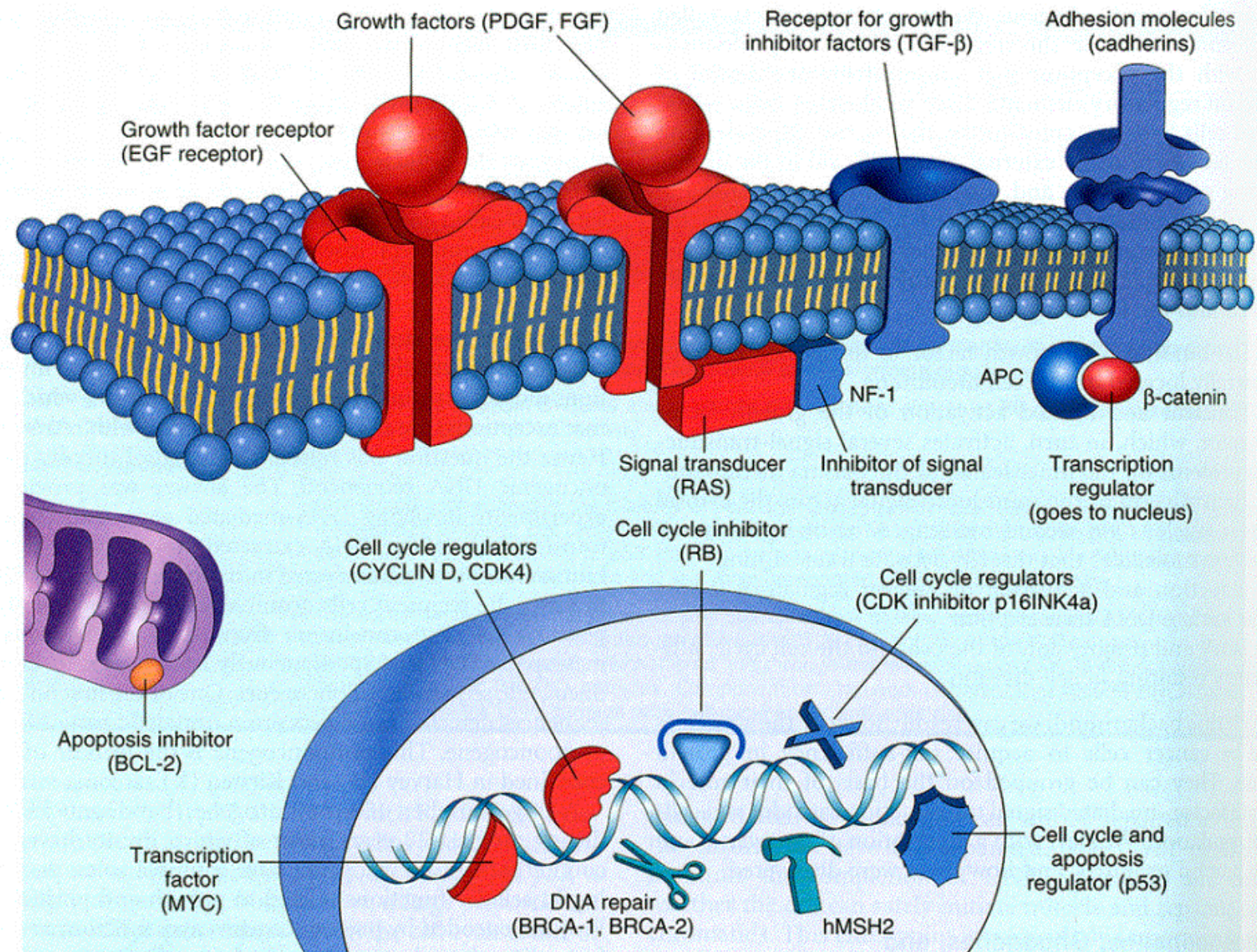
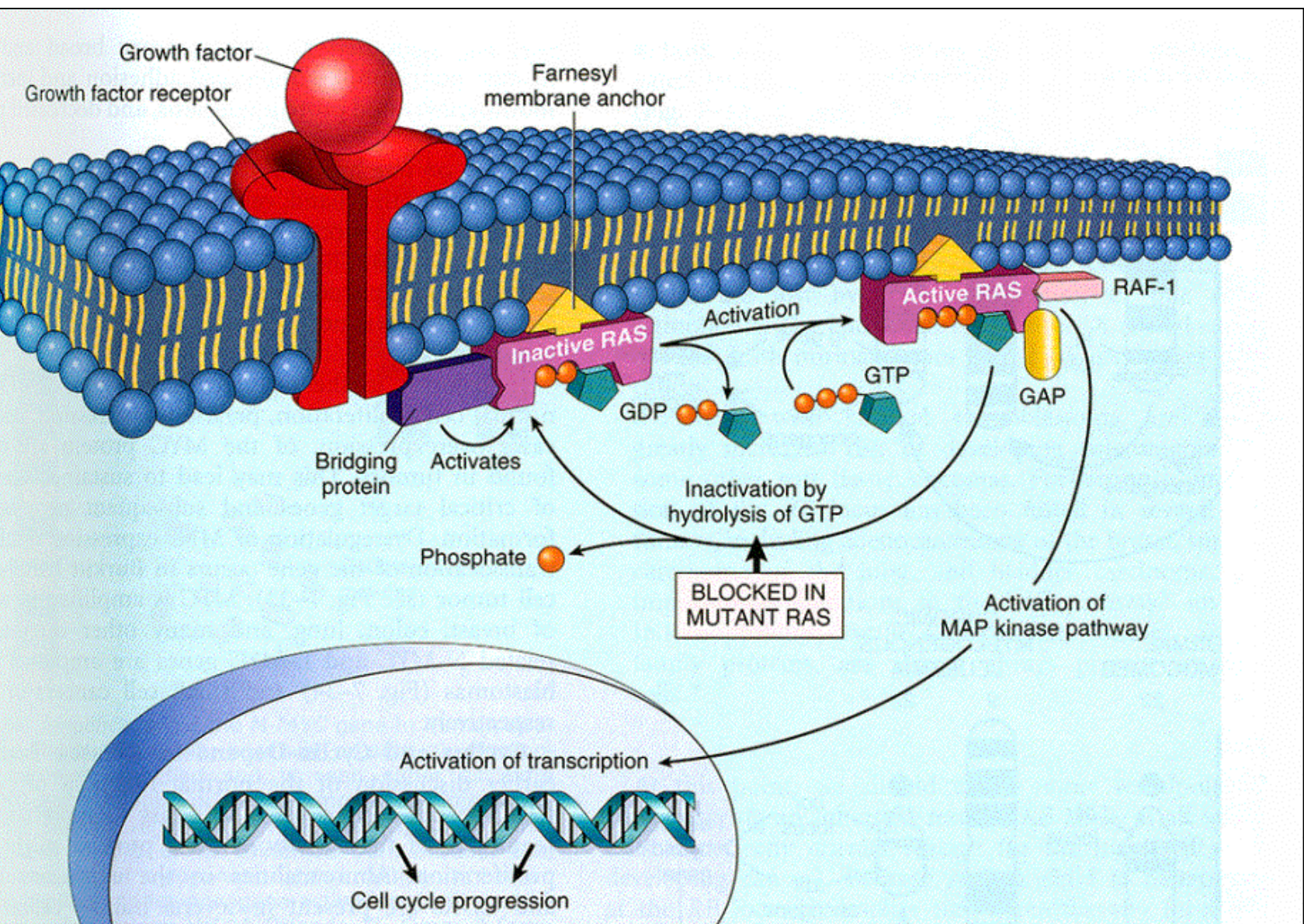


FIGURE 7-31 Subcellular localization and functions of major classes of cancer-associated genes. The protooncogenes are colored red, cancer suppressor genes blue, DNA repair genes green, and genes that regulate apoptosis purple.



32 Model for action of *RAS* genes. When a normal cell is stimulated through a growth factor receptor, inactive (GDP-bound) RAS is activated to a GTP-bound state. Activated RAS recruits RAF and stimulates the MAP-kinase pathway to transmit growth-factor signals to the nucleus. The mutant RAS protein is permanently activated because of inability to hydrolyze GTP, leading to constitutive stimulation of cells without any external trigger. The anchoring of RAS to the cell membrane by the farnesyl moiety is essential for its action.

Antionkogeny

Antionkogeny jsou **recesivní**, a aby se mutace nádorového supresoru uplatnila v kancerogenezi, musí proběhnout inaktivace **obou jeho alel**.

Na rozdíl od onkogenů mohou být **mutantní formy nádorových supresorových genů dědičné** a predisponují postiženého jedince ke vzniku určitého druhu rakoviny.

Tento jedinec obvykle zdědí zárodečnou mutaci jedné alely daného nádorového supresoru, a dokud nedojde k somatické mutaci druhé alely, k tvorbě nádoru nedochází. Pokud je však vyřazena funkce zbývající „zdravé“ alely nádorového supresoru, je pravděpodobnost vzniku nádoru velmi vysoká.

Nádorové supresorové geny

GEN	Somatická mutace	Vrozená mutace
Rb	Sporadický retinoblastom Ca prostaty, mléčné žlázy, močového měchýře, plic	Hereditární retinoblastom osteosarkom
p53	Většina maligních nádorů	Li-Fraumentiho syndrom
WT-1	Wilmsův nádor	Wilmsův nádor
NF-1	Schwannom	Neurofibromatóza 1. typu
NF-2	Schwannom, meningeomy	Neurofibromatóza 2. typu
APC	Ca žaludku, tlustého střeva pankreatu	Familiární adenomatózní polypóza tlustého střeva

Působení supresorových genů

Produkty supresorových genů působí:

- 1) Snižují proliferační aktivitu buňky, udržují v G_0 stavu nebo zabrání přestupu z G1 do S fáze (pRb)
- 2) Dohlíží na správnost genetického kodu (p53)
- 3) Zpomalují (zastavují) buněčný cyklus – umožní reparaci DNA – p53, p15, p16, p21, p27
- 4) Kodují reparační enzymy DNA

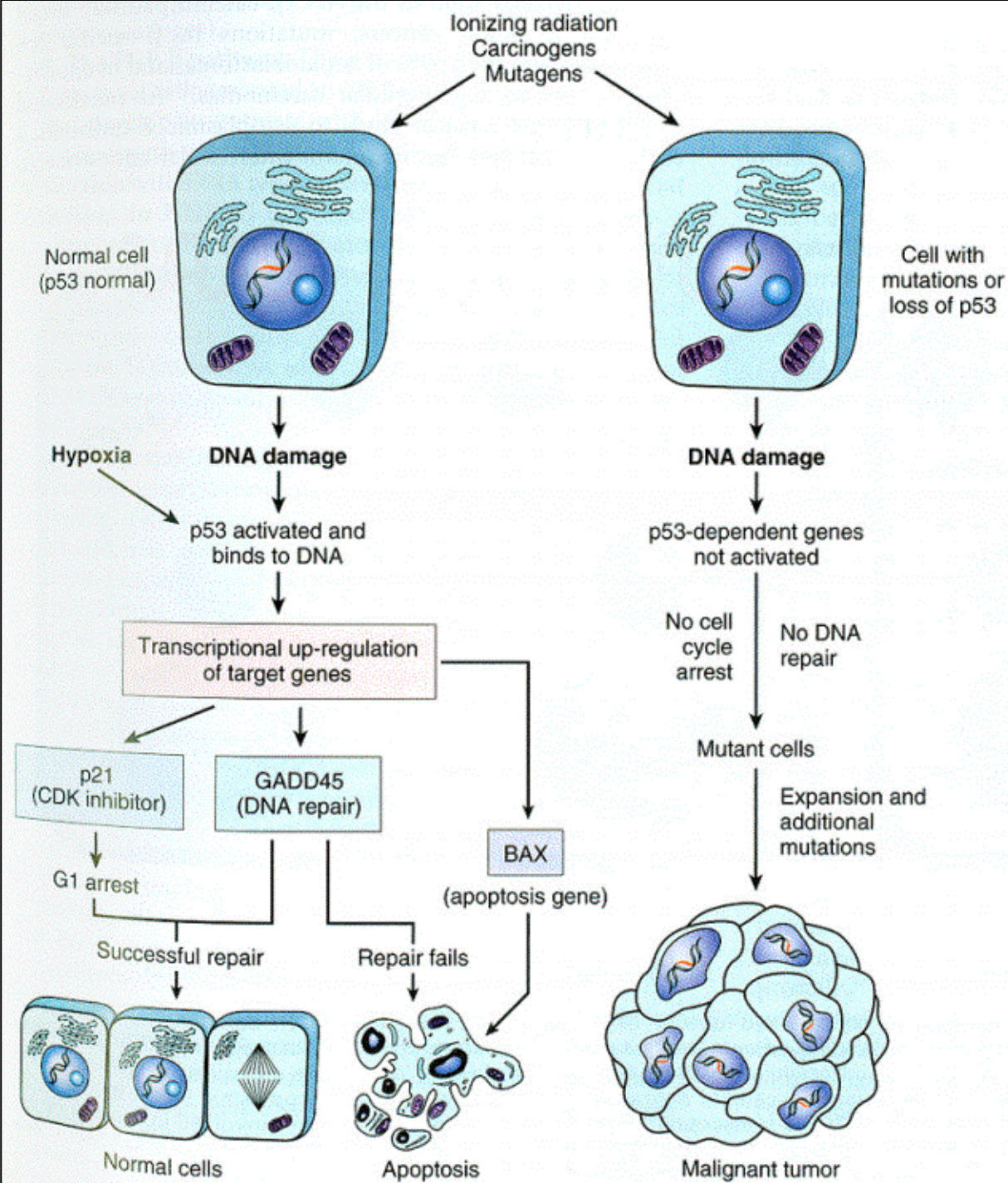


FIGURE 7-37 The role of *p53* in maintaining the integrity of the genome. Activation of normal *p53* by DNA-damaging agents or by hypoxia leads to cell-cycle arrest in G₁ and induction of DNA repair, by transcriptional up-regulation of the cyclin-dependent kinase inhibitor *p21*, and the *GADD45* genes, respectively. Successful repair of DNA allows cells to proceed with the cell cycle; if DNA repair fails, *p53*-induced activation of the *BAX* gene promotes apoptosis. In cells with loss or mutations of *p53*, DNA damage does not induce cell-cycle arrest or DNA repair, and hence genetically damaged cells proliferate, giving rise eventually to malignant neoplasms.

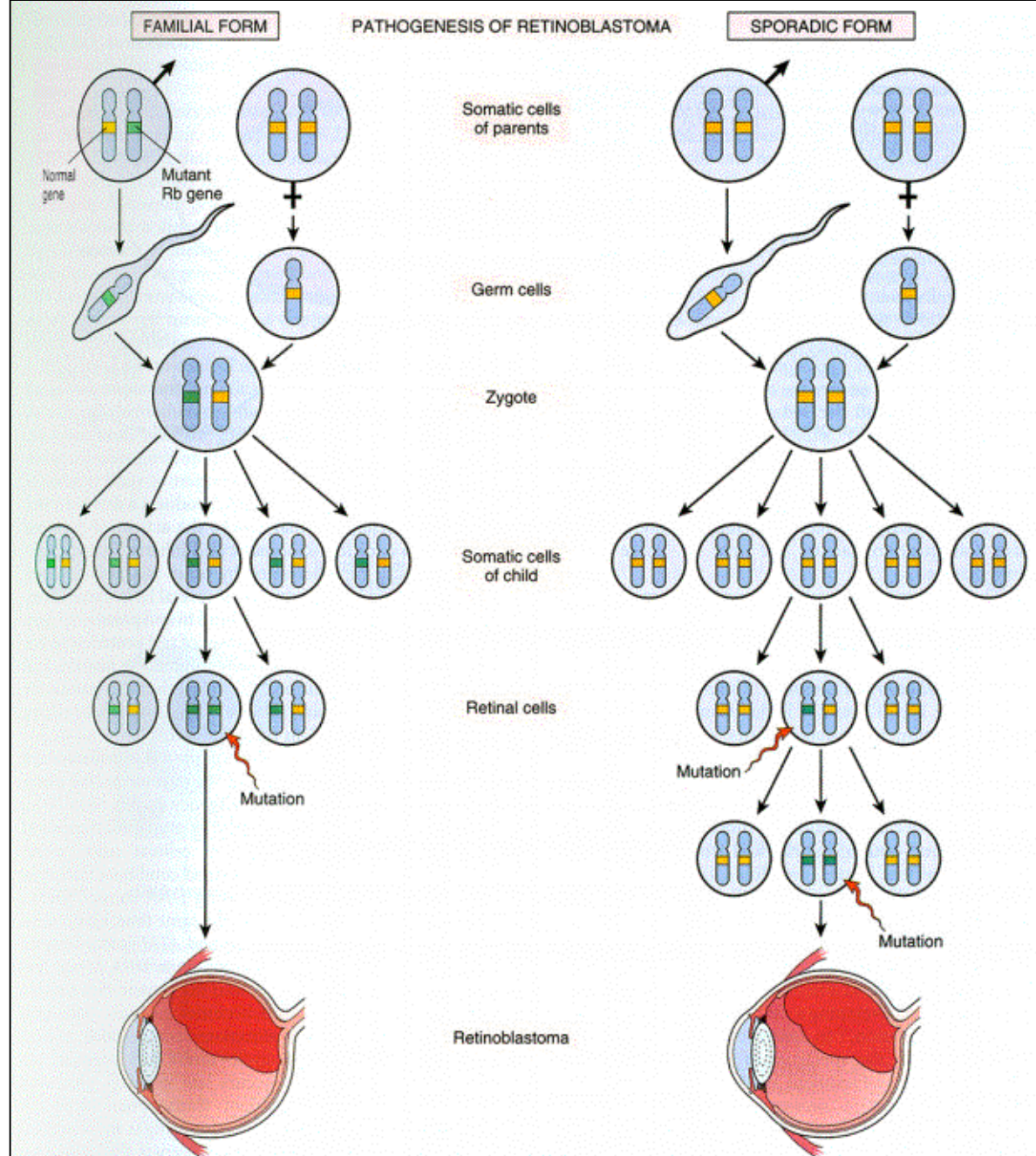
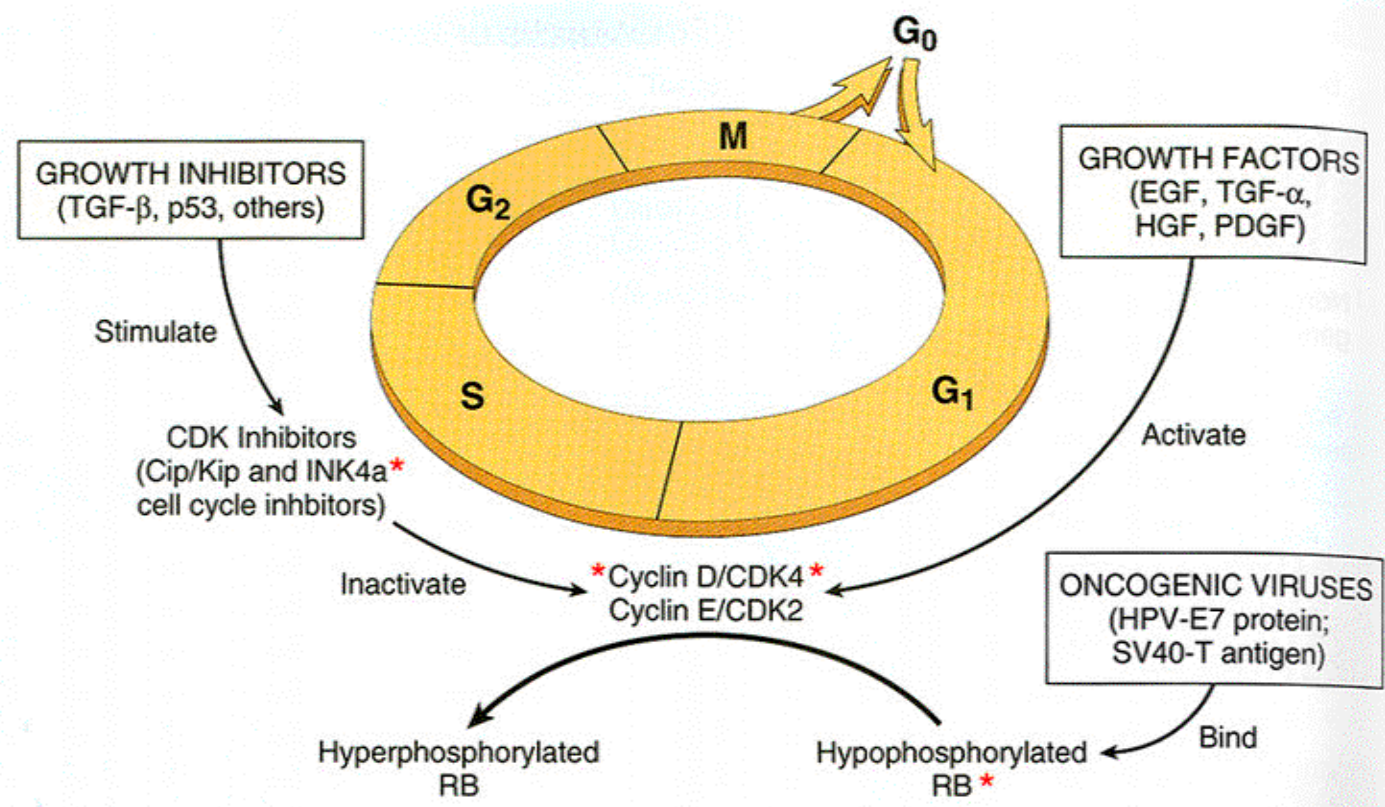


FIGURE 7-35 Pathogenesis of retinoblastoma. Two mutations of the *RB* locus on chromosome 13q14 lead to neoplastic proliferation of the retinal cells. In the familial form, all somatic cells inherit one mutant *RB* gene from a carrier parent. The second mutation affects the *Rb* locus in one of the retinal cells after birth. In the sporadic form, on the other hand, both mutations at the *RB* locus are acquired by the retinal cells after birth.

FIGURE 7-36 Role of RB as a cell-cycle regulator. Various growth factors promote the formation of the cyclin D-CDK4 complex. This complex (and to some extent cyclin E-CDK2) phosphorylates RB, changing it from an active (hypophosphorylated) to an inactive state (hyperphosphorylation). RB inactivation allows the cell to pass the G₁/S restriction point. Growth inhibitors such as TGF-β and p53 and the Cip/Kip (e.g., p21, p57) and INK4a (p16INK4a and p19ARF) cell-cycle inhibitors prevent RB activation. Transforming proteins of oncogenic viruses bind hypophosphorylated RB and cause its functional inactivation. Virtually all cancers show dysregulation of the cell cycle by affecting the four genes marked by an asterisk.



Supresor RB

Fosforylace RB je kritická pro průběh buněčného cyklu. RB v aktivním hypofosforylovaném stavu tvoří RB pevný komplex s transkripčním faktorem E2F. Mutace obou alel inaktivuje RB \Rightarrow Fosforylace uvolní komplex s transkripčními ff. a aktivuje transkripci genů cílových pro E2F, které jsou potřebné pro přechod do a skrze S fázi (cyklinu E apod)

Základní typy mutací

- Bodové mutace: substituce (tranzice, transverze), nemá vliv na čtecí rámeček, označuje se missense; delece nebo inserce může posunout čtecí rámeček - nonsense
- Amplifikace
- Translokace

TABLE 7-10 Selected Examples of Oncogenes Activated by Translocation

Malignancy	Translocation	Affected Genes
Chronic myeloid leukemia	(9;22)(q34;q11)	<u>Ab1</u> 9q34 <u>bcr</u> 22q11
Acute leukemias (AML and ALL)	(4;11)(q21;q23)	<u>AF4</u> 4q21 <u>MLL</u> 11q23
	(6;11)(q27;q23)	<u>AF6</u> 6q27 <u>MLL</u> 11q23
Burkitt lymphoma	(8;14)(q24;q32)	<u>c-myc</u> 8q24 <u>IgH</u> 14q32
Mantle cell lymphoma	(11;14)(q13;q32)	<u>Cyclin D</u> 11q13 <u>IgH</u> 14q32
Follicular lymphoma	(14;18)(q32;q21)	<u>IgH</u> 14q32 <u>bcl-2</u> 18q21
T-cell acute lymphoblastic leukemia	(8;14)(q24;q11)	<u>c-myc</u> 8q24 <u>TCR-α</u> 14q11
	(10;14)(q24;q11)	<u>Hox</u> 11 10q24 <u>TCR-α</u> 14q11
Ewing sarcoma	(11;22)(q24;q12)	<u>Fl-1</u> 11q24 <u>EWS</u> 22q12

Underlined genes are involved in multiple translocations.

AML, acute myeloid leukemia; ALL, acute lymphoblastic leukemia.

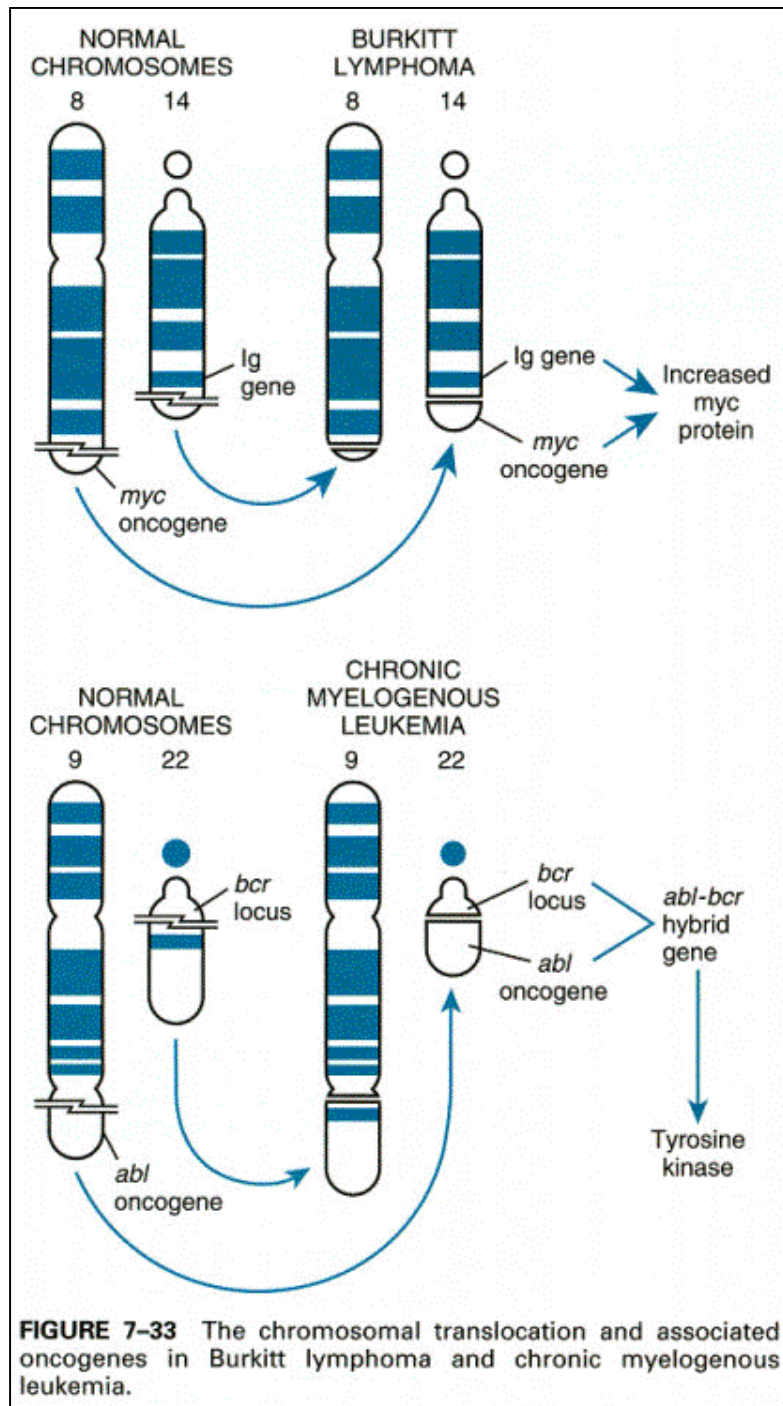


FIGURE 7-33 The chromosomal translocation and associated oncogenes in Burkitt lymphoma and chronic myelogenous leukemia.

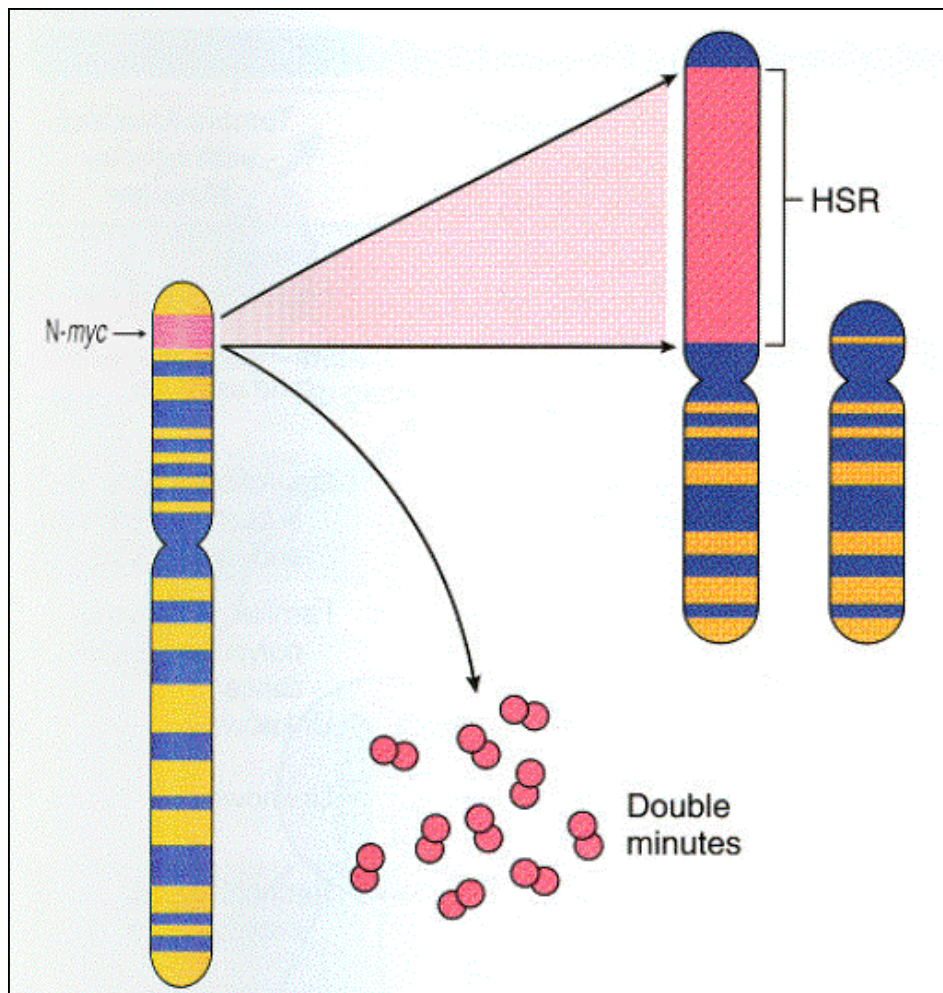


FIGURE 7-34 Amplification of the N-MYC gene in human neuroblastomas. The N-MYC gene, normally present on chromosome 2p, becomes amplified and is seen either as extra chromosomal double minutes or as a chromosomally integrated, homogeneous staining region. The integration involves other autosomes, such as 4, 9, or 13. (Modified from Brodeur GM: Molecular correlates of cytogenetic abnormalities in human cancer cells: implications for oncogene activation. In Brown EB (ed): Progress in Hematology, Vol 14. Orlando, FL, Grune & Stratton, 1986, pp. 229-256.)

Mutace - kancerogeneze

- Nádory jsou onemocnění genomu, protože základem jejich vzniku jsou především **genetické změny, mutace**. K přeměně normální zdravé buňky v buňku plně maligní nestačí mutace jediná, je to **vícetupňový proces** postupného hromadění několika mutací.
- Během vývoje nádoru se uplatňuje **přírodní selekce**, která umožňuje přežívání aktivně se množících mutantních buněk bez ohledu na buňky sousední. Původní **populace mutovaných buněk roste** a v některých buňkách této populace se nahodile objevují **další mutace** v buňkách, které jsou přírodní selekcí preferovány.

Důsledky mutací, kancerogeneze

(1) **Deregulace buněčného cyklu** často představuje první fáze procesu kancerogeneze. Jak lze přimět buňku k dělení bez ohledu na skutečné potřeby organismu? Např určitá mutace může vyvolat neadekvátní **tvorbu růstového faktoru**, na který pak již buňka „adekvátně“ reaguje tím, že se rozdělí. Jiná mutace může **pozměnit strukturu a funkci některého z proteinů**, který se podílí na přenosu signálů v buňce, takovým způsobem, že začne příliš **citlivě** reagovat na původně **podprahový signál**

Procesy související s kancerogenezou

(2) **Poškození** mechanismů vedoucích k **apoptóze** nádorových buněk. Klon nádorových buněk neadekvátně odpovídá na signály vyvolávající apoptózu.

(3) **Získání neomezeného replikačního potenciálu** způsobem, který dovoluje kompletní syntézu konců DNA během buněčného dělení.

Při každém dělení nenádorových buněk jsou dceřiné řetězce DNA na svém konci postupně zkracovány (viz buněčné stárnutí).

Procesy související s kancerogenezou

(4). **Indukce angiogeneze.** Proliferující premaligní léze jsou zpočátku neangiogenní, což limituje jejich schopnost expanze. Angiogenní charakter získávají až během dalšího vývoje. Přejít do angiogenního stavu, se odehraje „skokem“. Nejvýznamnějším **stimulátorem** nádorové angiogeneze je patrně nedostatek kyslíku, tzv. **hypoxie**

Procesy související s kancerogenezou

(5) Tvorba metastáz: **maligní nádor** tvoří **metastázy**, tedy invaduje do okolní tkáně. V první fázi se nádorová buňka musí **uvolnit** z primárního nádoru. Dále prostupuje **extracelulární matrix (ECM)** a **endoteliální** membránou se dostává do **krvního systému**. **Migruje** tímto systémem a opět prostupuje **cévní stěnou**, posléze i **ECM** a zakládá **ohnisko sekundárního** nádoru. Klíčovou roli při invazi nádorových buněk a remodelaci extracelulární matrix hrají proteázy, především **metaloproteinázy**, a několik typů **adhezních molekul**

Procesy související s kancerogenezou

(6) Pravděpodobnost vývoje maligního nádoru zvyšuje ještě **genetická nestabilita** nádorových buněk. Ta způsobuje významné **zvýšení mutační rychlosti**, která potom zvyšuje pravděpodobnost **akumulace** všech mutací souvisejících s kancerogenezí.

Genetická nestabilita bývá navozena mutacemi, které (1) snižují přesnost replikace genomu, (2) snižují účinnost mechanismů opravujících DNA nebo (3) zvyšují výskyt chromosomálních přestaveb, což navozuje nestabilitu karyotypu,

Buněčné stárnutí

Buněčné stárnutí znamená postupné hromadění subletálních lézí, které mohou vést k **zániku** buňky nebo aspoň k její **omezené adaptační** kapacitě. Stáří buňky je výsledkem progresivního útlumu proliferativní kapacity a životnosti buněk, i výsledkem neustálého vystavení vlivu exogenních faktorů.

Buněčné stárnutí

- Důvodem tohoto stavu je neúplná replikace konců chromosomů – **zkrácení telomer** při normální replikaci somatických buněk. Telomery jsou krátké sekvence DNA (TTAGGG) přítomné na koncích chromosomů; zajišťují úplnou replikaci chromosomálních konců a **chrání je** před degradací a fuzí. Při replikaci somatických buněk nedojde k duplikaci malého úseku telomery, která se tak postupně zkracuje.

Buněčné stárnutí

Aby ke zkracování telomer nedocházelo, je v buňkách aktivní enzym telomeráza. Ta zajišťuje, aby replikace konců chromozomů proběhla úplně. U většiny somatických buněk se telomeráza postupně inaktivuje. Schopnost udržovat délku telomer je vlastní germinálním bb, kmenovým bb a téměř všem maligním nádorovým buňkám. U velké většiny nádorů (85 až 90%) souvisí tato schopnost právě s aktivací telomerázy.

