

# **Molekulární podstata nádorového bujení klíč k porozumění procesů v základech lidské rakoviny.**

Nádor vzniká ze společné buňky, ve které byl - většinou desítky let před vznikem viditelného nádoru - zahájen program neregulovaného dělení.

**Maligní transformace buňky probíhá přes akumulaci mutací ve specifických třídách genů.**

Existují **dvě třídy genů**, které dohromady tvoří jen malou část celé genetické výbavy, ale hrají hlavní úlohu v zahájení procesu tvorby nádoru.

Ve své normální konfiguraci **řídí životní cyklus buňky, tj. sled dějů, při kterých se buňka zvětšuje a dělí.**

## PROTOONKOGENY

jsou normální buněčné geny mající základní význam ve fyziologii buňky.

Hrají úlohu především v regulaci životního cyklu buněk:

- ▶ Buněčného cyklu
- ▶ Buněčné proliferace
- ▶ Diferenciace
- ▶ Apoptózy

V průběhu evoluce dobře konzervovány a jejich přítomnost v normálních buňkách všech vyšších organismů předpokládá, že mají základní význam v buněčné fyziologii.

Kódují proteiny, které hrají klíčovou na různých úrovních **integrace mitogenních signálů nesených růst. faktory a hormony**. Jsou-li modifikovány, ať na strukturální nebo kontrolní úrovni, začnou se chovat jako onkogeny a podporují vývoj nádoru.

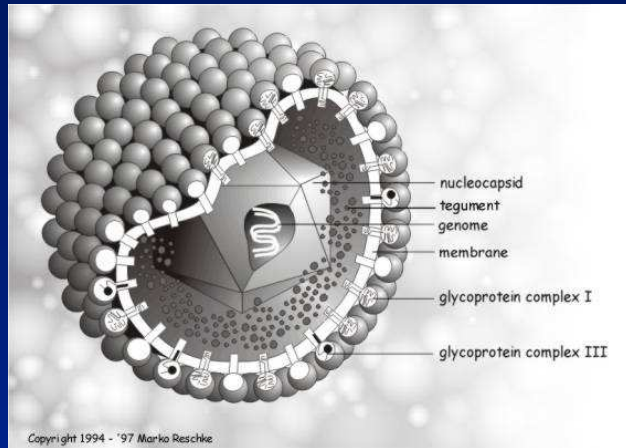
## ONKOGENY

**mutované nebo aktivované protoonkogeny**

Proces karcinogeneze zahrnuje změněné exprese nebo funkce protoonkogenů na různých stupních transdukce signálů.

## NÁDOROVĚ SUPRESOROVÉ GENY (ANTI-ONKOGENY)

zabraňují abnormální buněčné proliferaci



V posledních 30 letech byla objevena **řada genů odpovědných za vývoj nádorů**. Na porozumění maligní transformaci má zásluhu zejména široká škála dřívějších prací s **onkogenními virusy**.

**První tzv. ONKOGEN** *s r c* (sarcoma) byl izolován v roce 1970 z viru Rousova sarkomu u kuřat. Virus Rousova sarkomu má dvě rozdílné části: část **kódující proteiny** odpovědné za replikaci viru a část **kódující *s r c* gen** umožňující vznik nádorů *in vivo* u kuřat. Normální kuřecí genom obsahuje příbuzný gen *c-src*. Později se ukázalo, že **řada retrovirů je onkogenních**. Bylo též prokázáno, že *src* není jednoznačně retrovirový gen, ale spíše téměř přesná kopie genu nalezeného ve všech kuřecích buňkách.

Tento **normální gen, tzv. proto-onkogen** je v retroviru modifikován (aktivován) tak, že působí po přenesení do buněk nádor.

Objev s onkogeny příbuzných sekvencí v eukaryotickém genomu stimuloval úsilí **transformovat normální buňky DNA** stejným způsobem jaký užívají retrovirusy.

Mnoho **protoonkogenů kóduje proteiny mající vztah k růstově stimulačním signálům přecházejících z vnějšího prostředí do nitra buňky.**

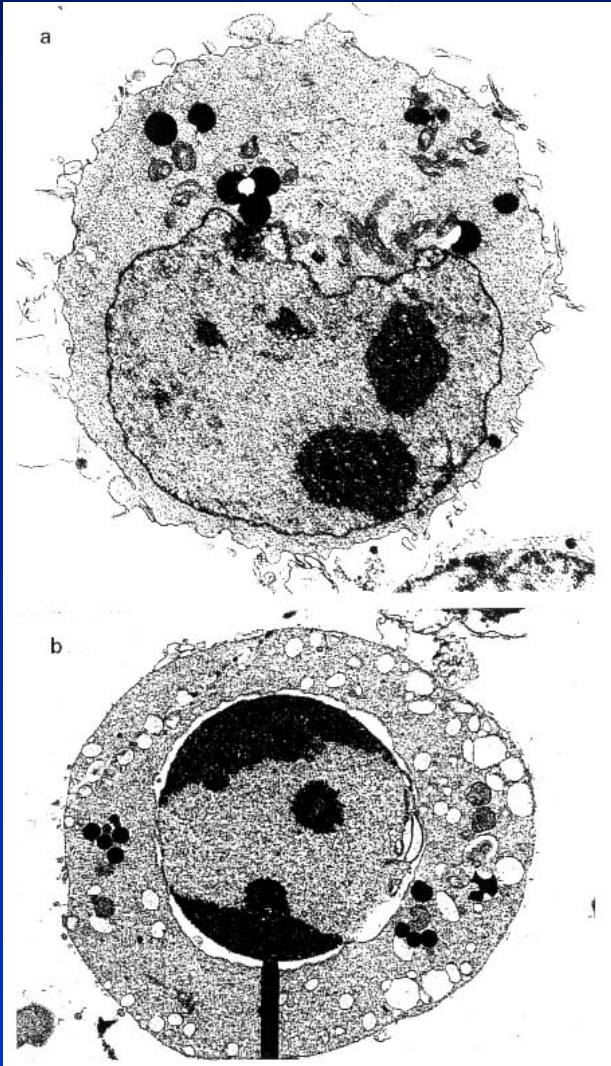
Růst buňky je deregulovaný, jestliže mutace v protoonkogenu způsobí **trvalou aktivaci růstově stimulační dráhy.**

Toto souvisí se signály, které si navzájem předávají buňky v tkáních. Jedny buňky uvolňují růstové faktory, proteiny (glyko), které se pohybují mezi buňkami a po vazbě na vhodný receptor na povrchu jiných buněk vyvolávají kaskádu dějů, které přenáší tento signál přes cytoplasmu až do jádra.

V jádře pak proteiny nazývané **transkripční faktory** odpovídají tím, že aktivují řadu genů, které pomáhají buňce procházet buněčným cyklem. Podobně funguje i **přenos růstově inhibičního signálu.**

V normální buňce je **rovnováha stimulačních a inhibičních signálů pečlivě regulována, protože to souvisí s regulací buněčného cyklu,** který je rozhodující pro buněčnou proliferaci a diferenciaci.

V nádorové buňce je v důsledku změn v signálních drahách organizace buněčného cyklu narušena.



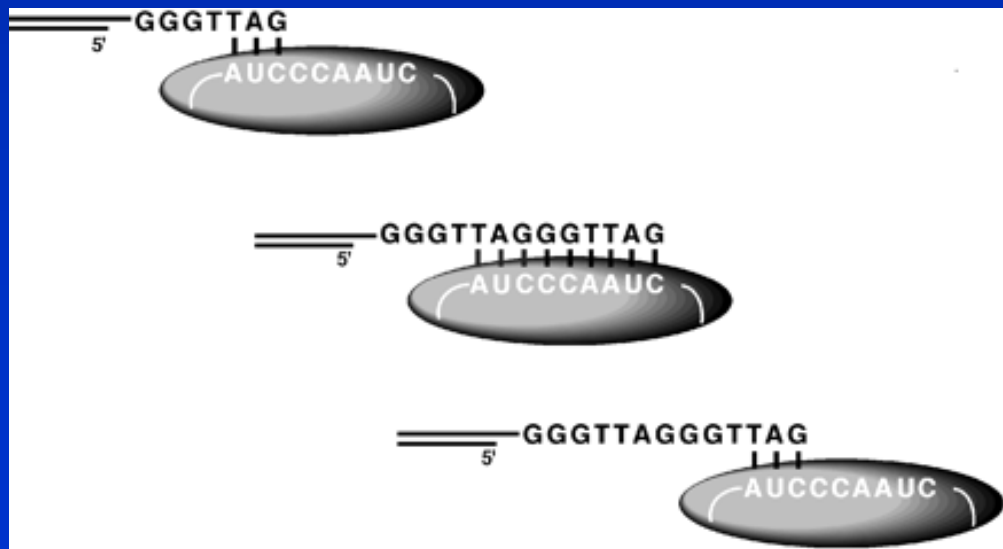
Buňka je vybavena také **zpětnovazebnými mechanismy**, které mohou působit proti neobvyklým změnám v procesu bun. dělení.

**Apoptóza** - schopnost buňky spáchat za určitých podmínek „sebevraždu“, tj. jestliže její základní komponenty jsou porušeny nebo jestliže je její kontrolní systém deregulován. Tak působí např. poškození chromozomální DNA.

V tomto procesu se účastní také **specifické geny** např. **p53** nebo **bcl-2**. Mutace těchto genů pak způsobují **poruchy apoptózy**. Bylo zjištěno, že neschopnost apoptózy přispívá ke vzniku nádorů a k jejich rezistenci k terapii.

Druhým obranným mechanismem proti neustálé proliferaci je **vestavěný buněčný mechanismus, který sčítá a limituje celkový počet dělení buňky, buňka stárne a hyne.**

Molekulárním nástrojem tohoto sčítání jsou segmenty DNA na koncích chromosomů tzv. **telomery**. Ty se při každém dělení zkracují a když dosáhnou kritické délky dochází k stárnutí a krizi. Jestliže tento sčítací systém funguje v nádorové buňce řádně, její nadměrná proliferace je přerušena předtím, než je nádor příliš velký. Aktivací genu, který kóduje enzym **telomerázu**, který není v normálních buňkách, ale byl nalezen v nádorových buňkách, však dochází k obnově telomerických segmentů a to umožňuje buňce se nekonečně množit, tj. stát se nesmrtelnou.



Většinou trvá desítky let než se v prekarcinogenní populaci nasbírání dostatek mutací k malignímu růstu.

U některých jedinců je však tato doba silně zkrácena. To je vysvětlováno

**dědičností některých genů způsobujících rakovinu.**

Jestliže rodičovská zárodečná buňka obsahuje mutaci tak u potomka je tato mutace přítomna ve všech buňkách těla a pravděpodobnost vzniku nádoru je vysoká.

## Protoonkogeny lze dělit

► Podle lokalizace jejich produktu na ty, které kódují

- 1) sekreční proteiny
- 2) proteiny buněčného povrchu
- 3) cytoplasmatické proteiny
- 4) jaderné proteiny

► Podle funkce jejich produktů na

- 1) růstové faktory (např. sis, hst),
- 2) receptory pro růst. faktory (např. fms, kit, erb B),
- 3) cytoplasmatické proteiny - protein kinázy (např. raf) a G-proteiny (např. ras),
- 4) jaderné proteiny (např. myc, myb, fos, jun)

Jaderné protoonkogeny jako jsou c-myc, c-fos, c-jun, c-myb - tzv. geny rané odpovědi (immediate early genes) a jejich produkty jsou proteiny vážící se na DNA a fungující jako tzv. **transkripční faktory**, které regulují transkripci pozdních genů.

Jsou většinou aktivovány **overexpresí**, která může být indukována různými způsoby: translokací (Burkitt lymphoma), insercí retroviru (spíše v experimentálních systémech), amplifikace genů - to je obecný mechanismus aktivace jader. protoonkogenů a byla pozorována u řady nádorů.

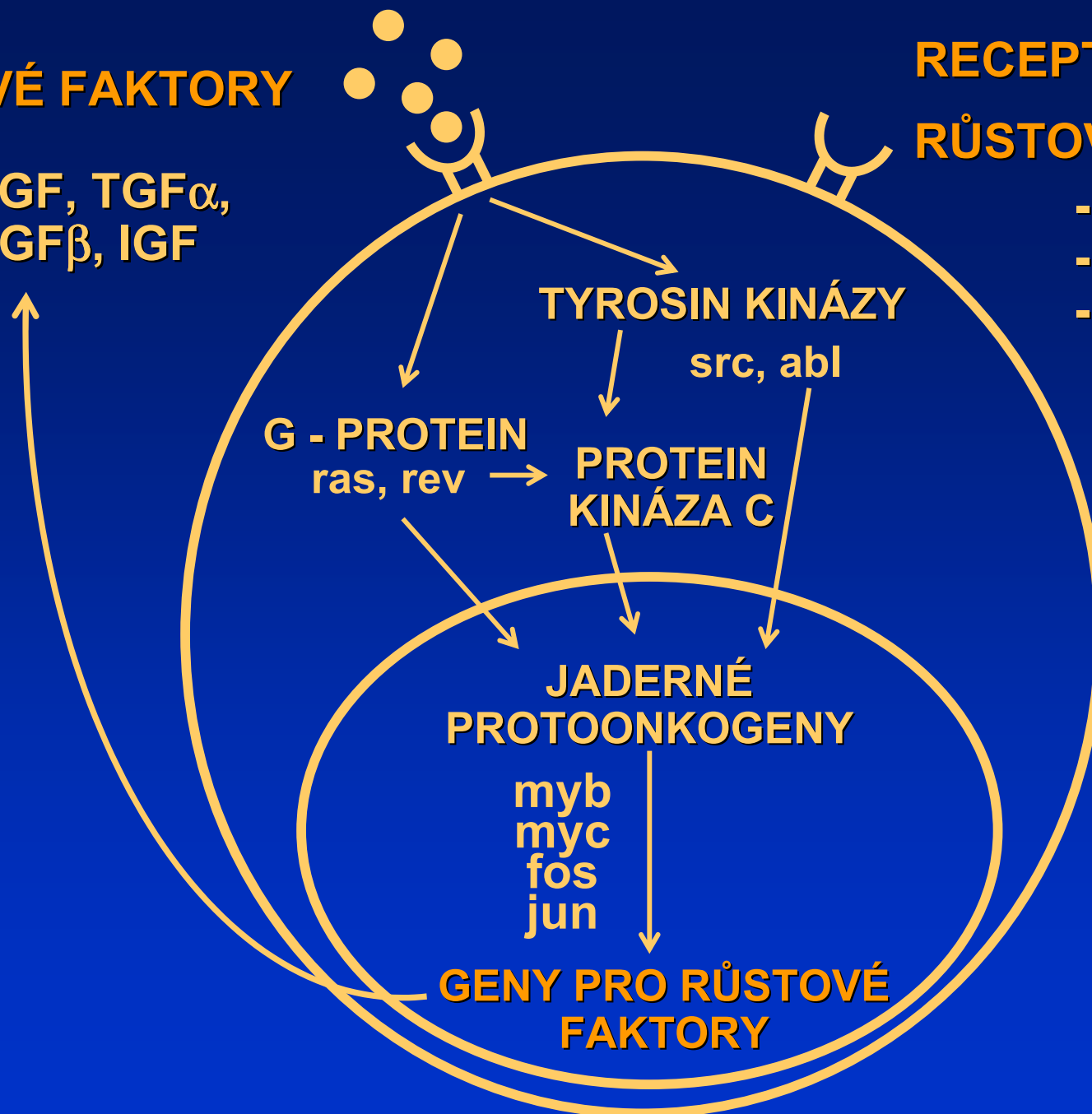


## RŮSTOVÉ FAKTORY

- EGF, TGF $\alpha$ ,  
TGF $\beta$ , IGF

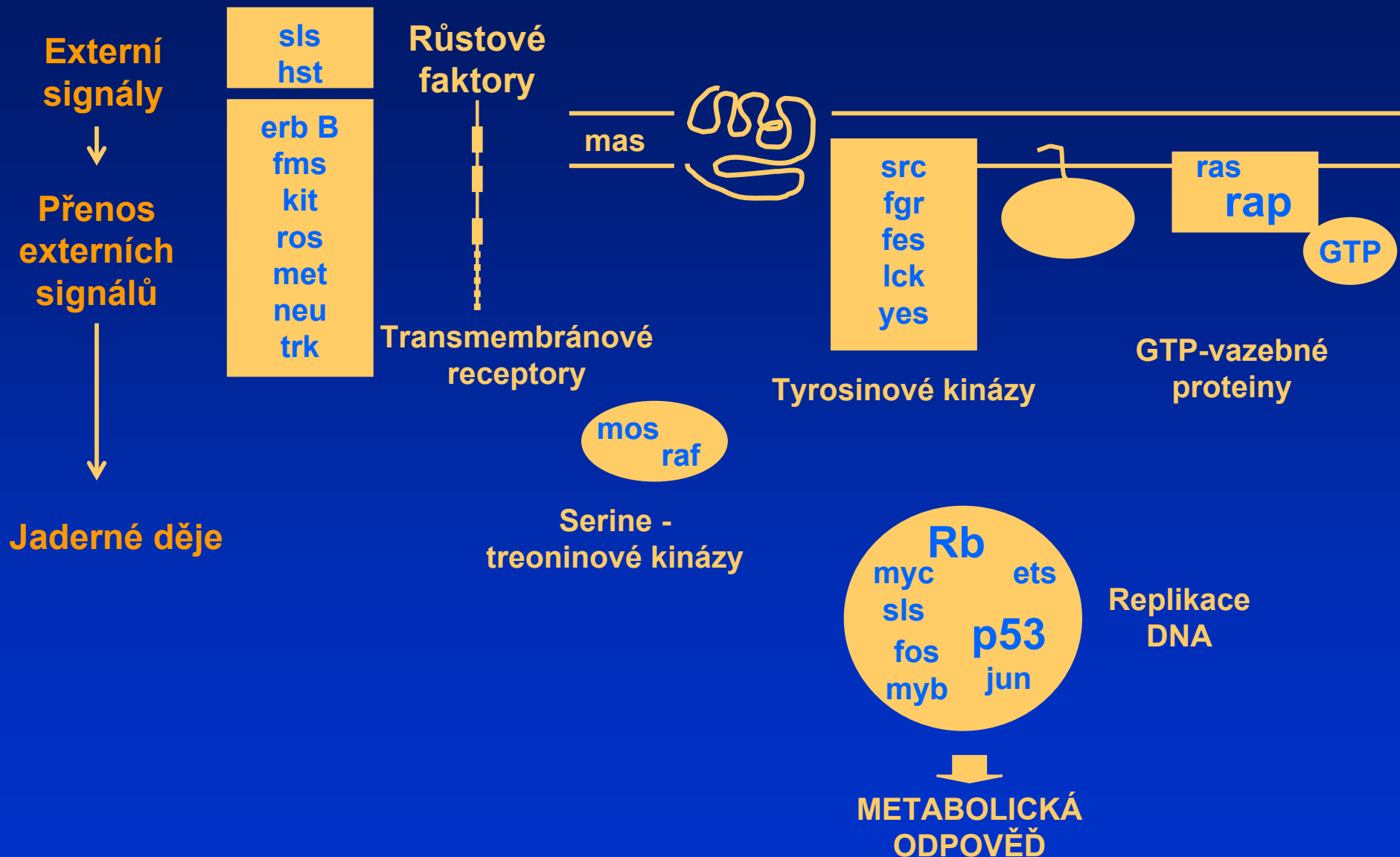
## RECEPTORY PRO RŮSTOVÉ FAKTORY

- EGF-R  
- NEU  
- PDGF-R



Přenos signálů a růstová regulace v eukaryotických buňkách. Jsou znázorněny reprezentativní protoonkogeny v signálních dráhách.

# ONKOGENY a ANTI-ONKOGENY



Onkogeny a anti-onkogeny: hlavní funkční skupiny onkogenních proteinů a jejich pravděpodobná vnitrobuněčná lokalizace. Anti-onkogeny jsou označeny větším písmem.

Mutace protoonkogenu vedoucí k transformaci můžeme funkčně rozdělit do dvou tříd:

získání funkce (gain-of-function), kde aktivita protoonkogenu vzrůstá a má za následek abnormální nebo nadměrnou růstovou stimulaci

ztráta funkce (loss-of-function), která vede k inaktivaci represorové složky, která normálně negativně ovlivňuje buněčnou proliferaci (nádorově supresorové geny - p53, RB, geny pro antiproliferační molekuly -TGF  $\beta$ , TNF $\alpha$ , interferon  $\gamma$ )

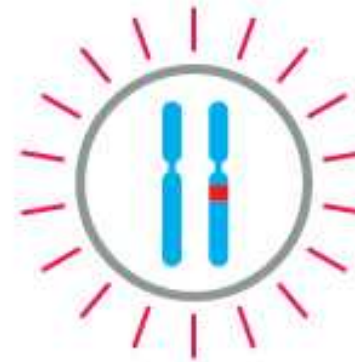
V obou případech je výsledkem nadměrná stimulace růstu.

# Geny kritické pro vývoj nádorů spadají do dvou jasně rozlišitelných kategorií: dominantní a recesivní

(A) **overactivity mutation** (gain of function)



single mutation event  
creates oncogene



activating mutation  
enables oncogene to  
stimulate cell  
proliferation

cells that  
proliferate  
abnormally

(B) **underactivity mutation** (loss of function)

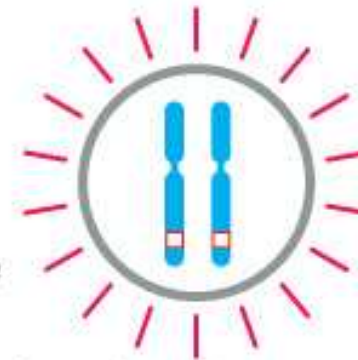


mutation  
event  
inactivates  
tumor  
suppressor  
gene



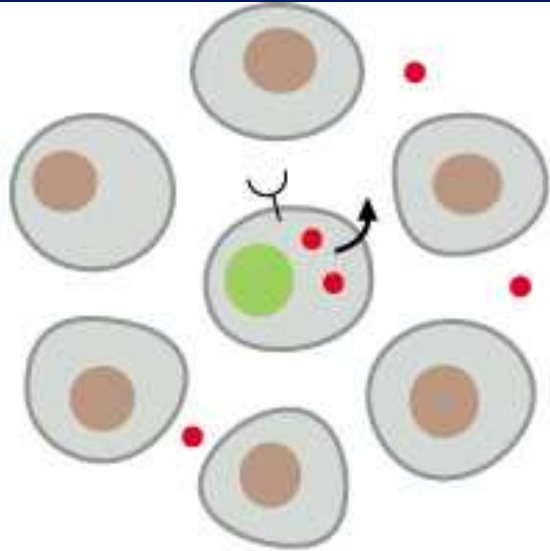
no effect of  
mutation in one  
gene copy

second  
mutation  
event  
inactivates  
second gene  
copy

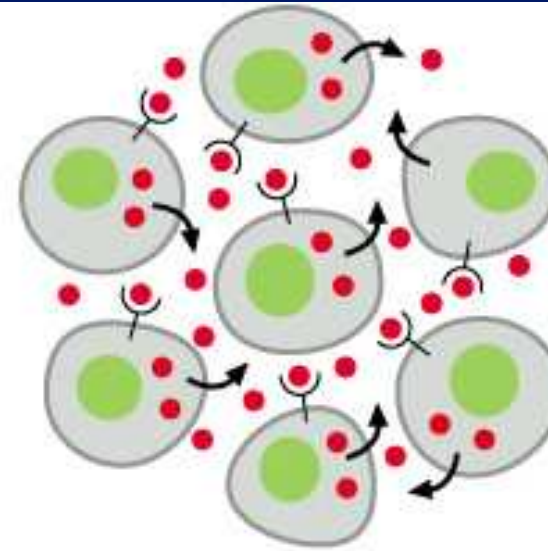


two inactivating mutations  
functionally eliminate the  
tumor suppressor gene,  
stimulating cell proliferation

## Autokrinní signál



A SINGLE SIGNALING CELL  
RECEIVES A WEAK AUTOCRINE  
SIGNAL



IN A GROUP OF IDENTICAL SIGNALING  
CELLS, EACH CELL RECEIVES A STRONG  
AUTOCRINE SIGNAL

Figure 15–6. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Při buněčné transformaci a karcinogenezi se uplatňují autokrinní mechanismy (vznik autokrinní smyčky) - neplánovaná produkce růstových faktorů buňkami nesoucími odpovídající receptory nebo aberantní exprese receptorů.

# Tři způsoby aktivace a změny protoonkogenu v onkogen

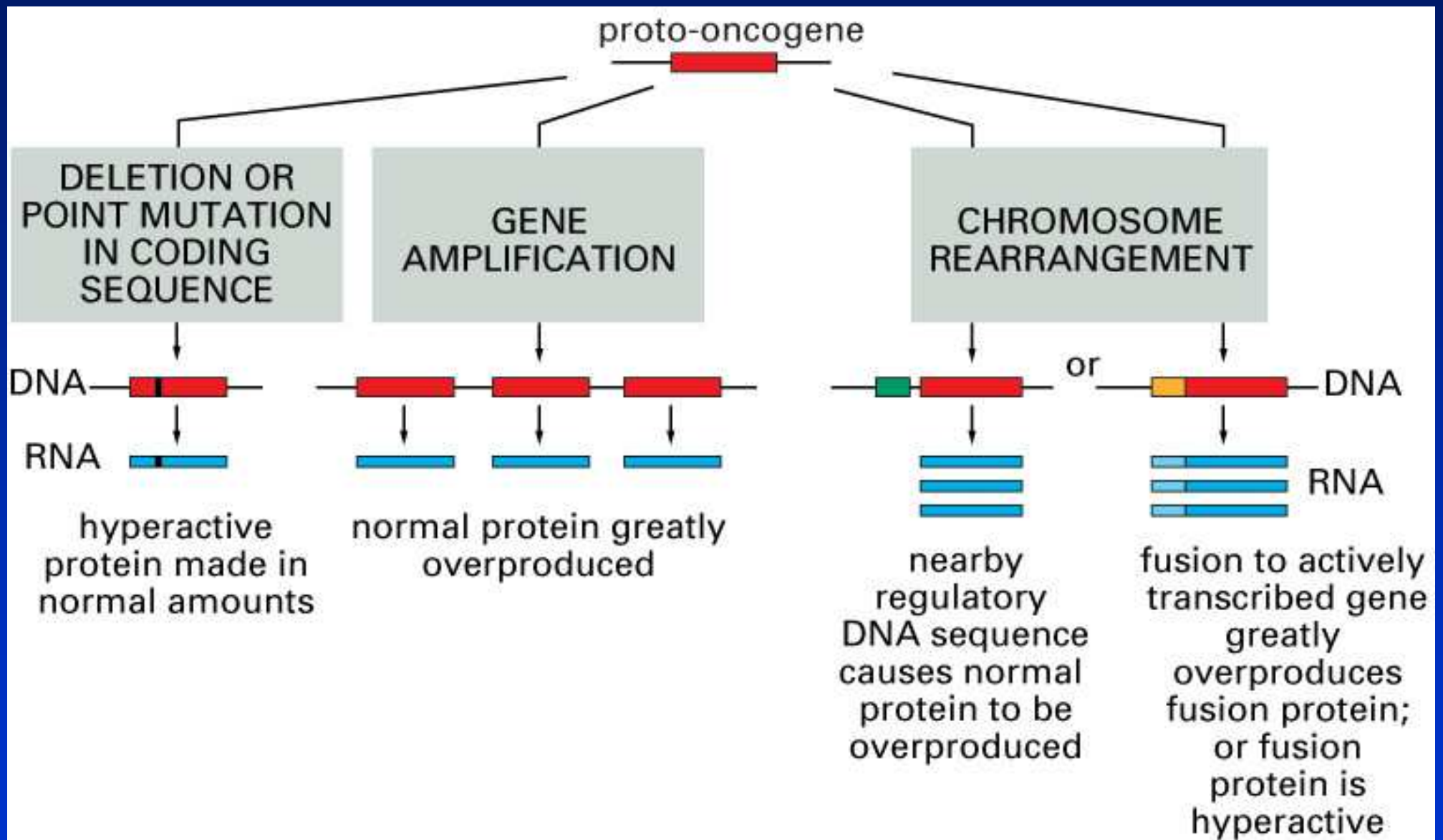
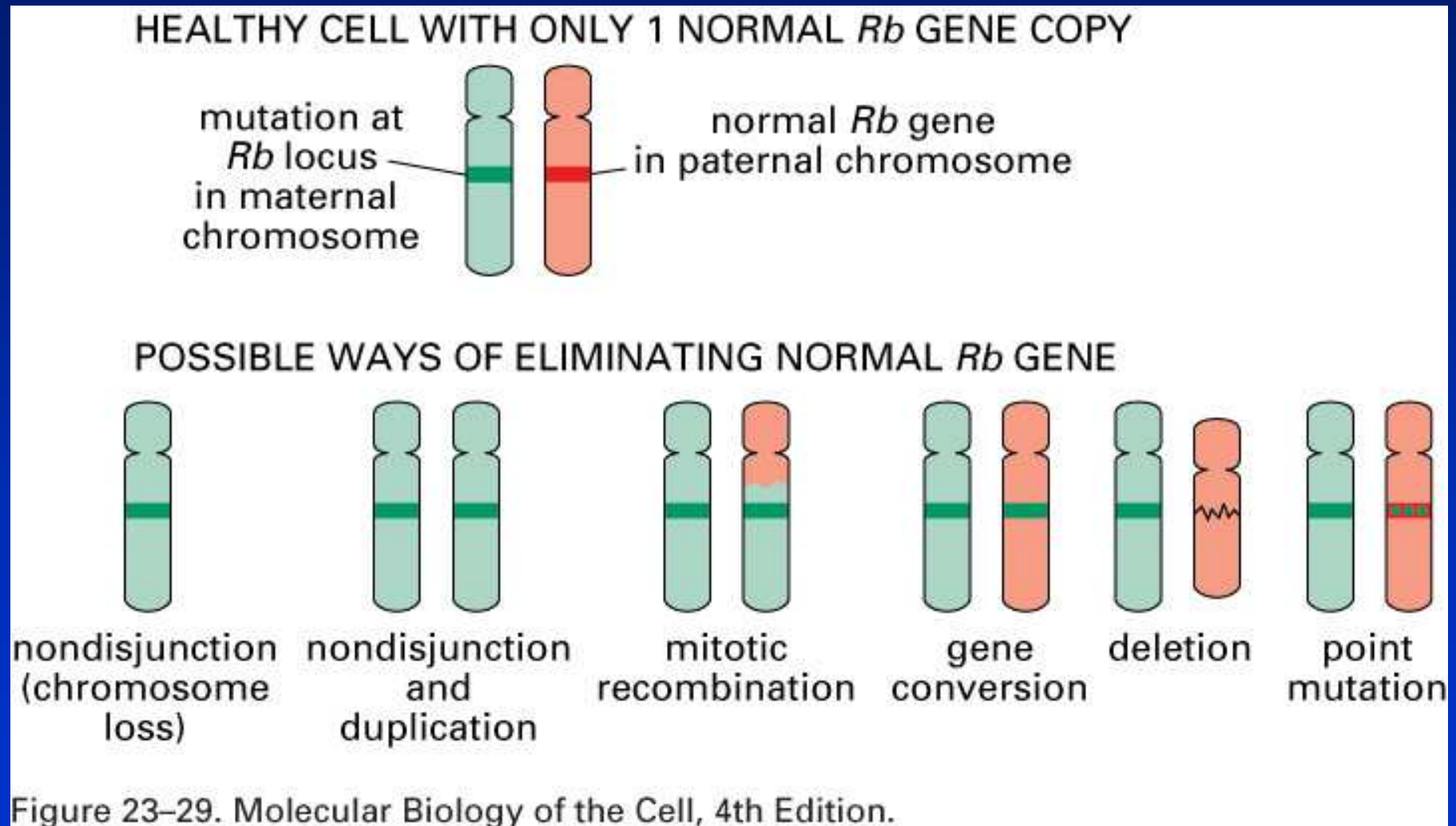


Figure 23–27. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

# Šest způsobů ztráty zbývající dobré kopie nádorově supresorového genu



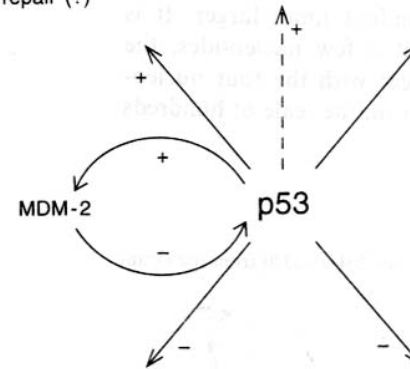
# Spektrum účinků p53 v modulaci přežívání a frekvence změn genu p53 u lidských nádorů

**Fig. 1** The spectrum of survival-modulation effects of p53

p21: promotes growth arrest  
 bcl-x: blocks apoptosis  
 gadd-45: DNA repair (?)

CD95 (?)  
 Cyclin G (?)

p21: promotes growth arrest  
 bax: promotes apoptosis  
 IGF-BP3: inhibition of IGF signalling



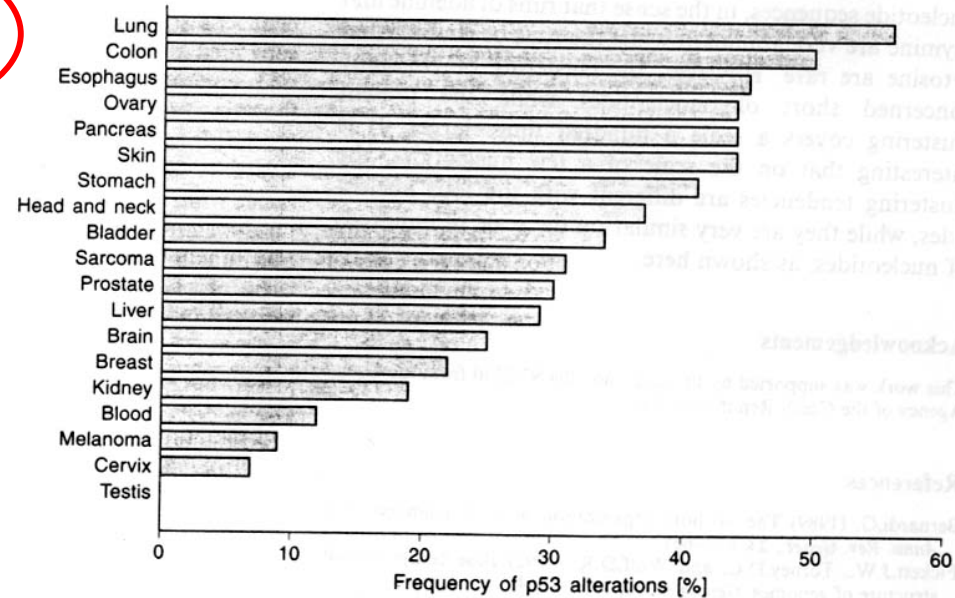
?

bcl-2: blocks apoptosis  
 MDR: increases drug resistance

**Survival**

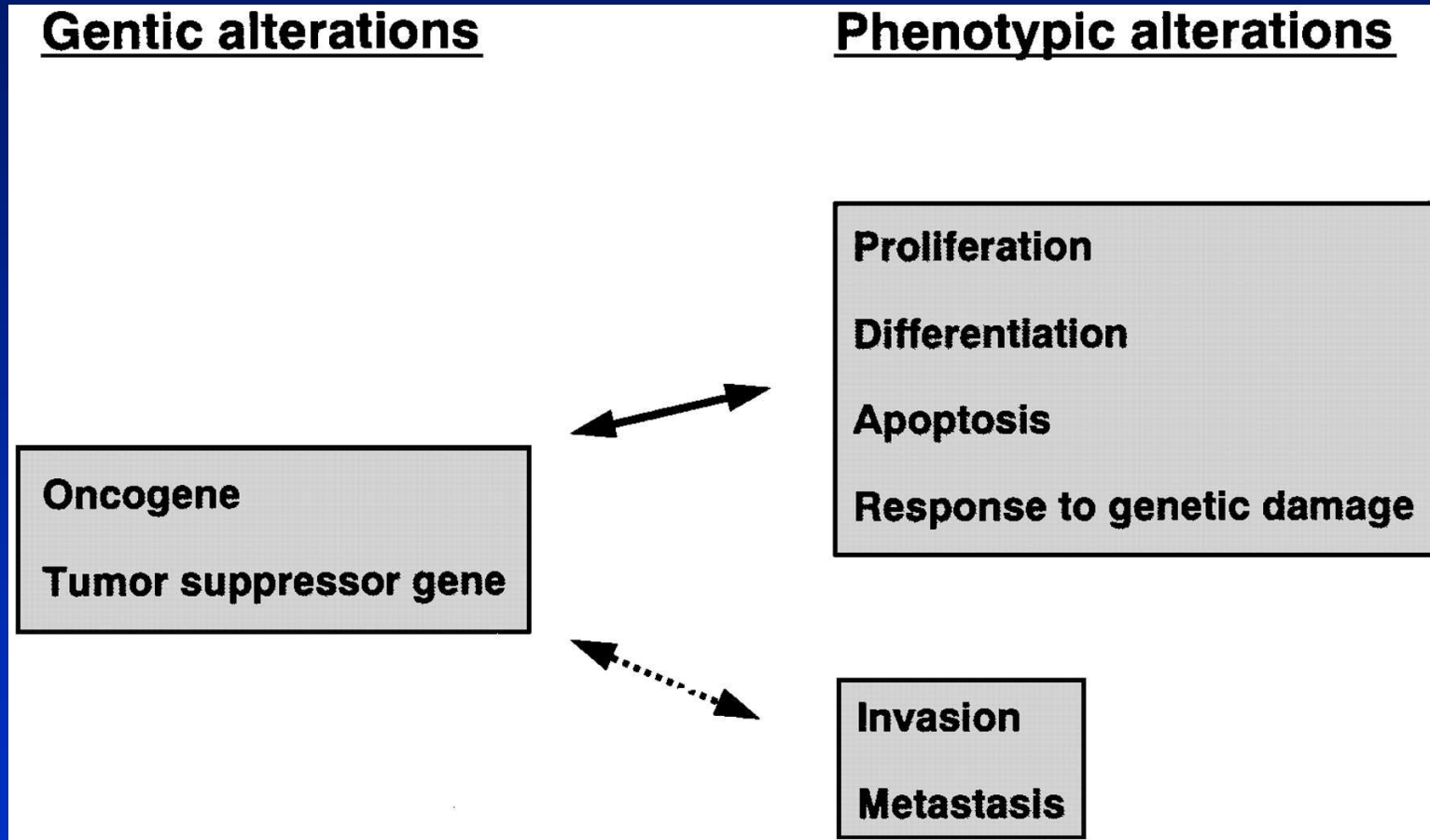
**Death**

**Fig. 2** Frequency of p53 gene alterations in human cancer (Greenblatt et al. 1994)

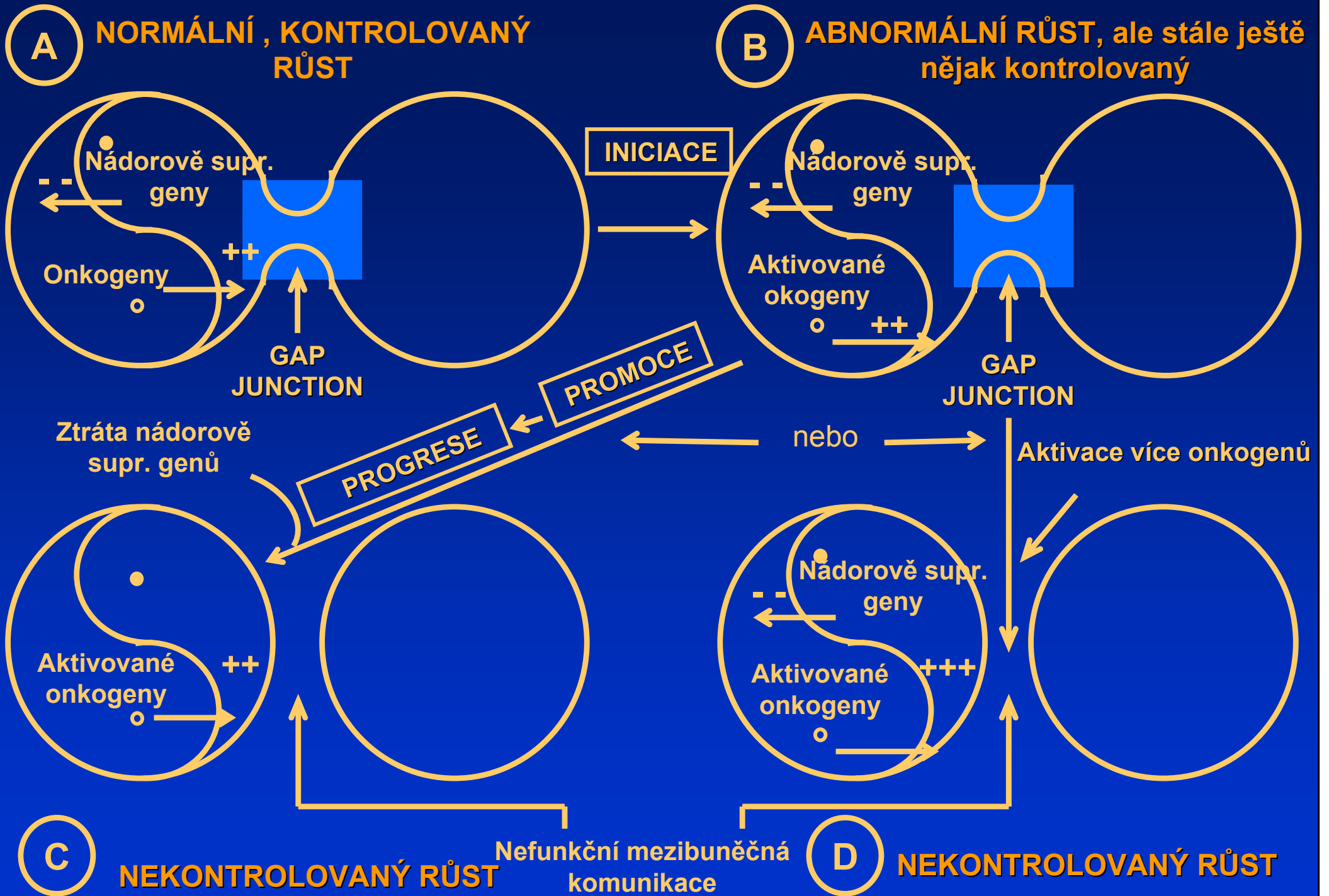




## Vztahy mezi genetickými a fenotypovými změnami u nádorů



Onkogeny a nádorově supresorové geny mají funkce v regulaci proliferace, diferenciaci, apoptózy a odpovědi na genetické poškození. Jejich úloha v invazi a vzniku metastáz je však nejasná.



## **Poznatky o molekulárně genetické podstatě nádorového onemocnění lze shrnout takto:**

- ▶ primární pro vznik nádoru jsou změny vyvolané jak genetickými (mutace v DNA) tak negenetickými příčinami (ovlivnění exprese genů)**
- ▶ karcinogeneze je několikastupňový proces založený na poruše genetické homeostázy a pouze dílčí změna v kterémkoliv článku ke vzniku nádoru nevede**
- ▶ ke vzniku nádoru může vést jen kombinace poruchy několika různých mechanismů, přičemž cesty, kterými se tak děje mohou být velmi rozdílné**
- ▶ byly nalezeny velké individuální a mezidruhové rozdíly i tkáňová a orgánová specifita ve spojitosti se vznikem nádorů**
- ▶ na vzniku nádoru se mohou významně podílet látky z vnějšího prostředí**

# ZMĚNY METYLACE DNA A ACETYLACE HISTONŮ

## NÁDOROVÁ EPIGENETIKA

### **EPIGENEIKA – dědičné změny v genové expresi beze změn v sekvenci DNA**

Epigenetické změny hrají významnou úlohu v karcinogenezi.

Savčí buňky mají schopnost epigeneticky modifikovat svůj genom prostřednictvím

► **METYLACE DNA**, tj. kovalentního přidávání metylových skupin do 5 pozice na cytosinovém kruhu v CpG dinukleotidu s účastí enzymu metyltransferázy. Přibližně 70% CpG zbytků v savčím genomu je metylováno, distribuce je nerovnoměrná, většina genomu je chudá na CpG.

Metylace DNA hraje zásadní úlohu v normálním vývoji, v inaktivaci chromozómu X a supresi tzv. parazitických sekvencí DNA.

Umožňuje „zapínat a vypínat“ geny na správném místě a ve správné době.

**Aberantní metylace DNA v promotorové oblasti** je však také **klíčovým mechanismem inaktivace nádorově supresorových genů**. Může způsobit zvýšení mutací a dědičně tlumí geny, jejichž promotory jsou asociovány s tzv. CpG „islands“ a které kontrolují buněčnou proliferaci. Zatím neznámé mechanismy zabraňují de novo metylaci těchto promotorů u normálních buněk. Důkazy spojitosti mezi metylací DNA a genovou expresí s využitím inhibitoru metylace - 5-azacytidinu (5-AZA)- mnoho genů může být reaktivováno.

Hypo- nebo hypermetylace DNA (obsah 5-metylcytosinu) patří mezi negenotoxické mechanismy karcinogeneze. Metylační struktura v nádorových buňkách se liší od normálních buněk. Globální hypometylace genomu je doprovázena místně specifickou hypermetylací. Hypermetylace promotorů pro nádorově supresorové geny v CpG islands je doprovázena jejich utlumením a růstovou výhodou pro tyto buňky. Hypometylace DNA je spojena se zvýšenou genovou expresí.

Metylace DNA může též usnadňovat mutagenezi (5MeC může spontánně deaminovat na thymin - hypermutabilita).

## ► ACETYLACE HISTONŮ

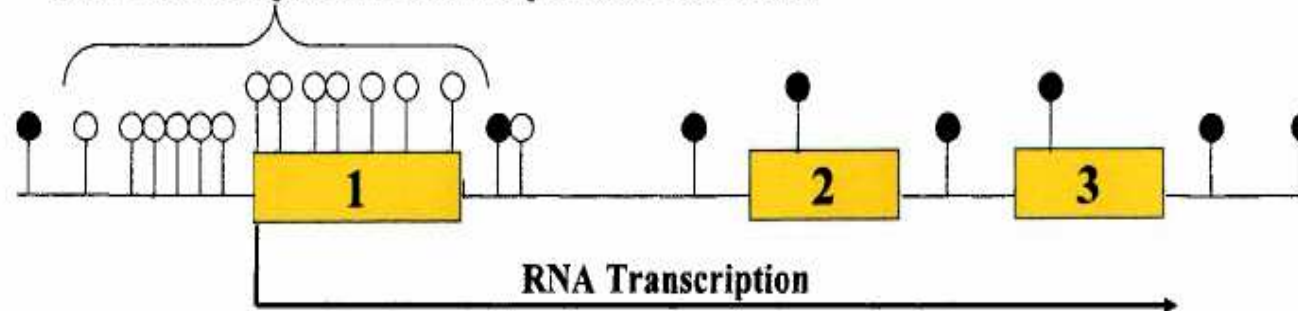
Genová exprese je regulována i strukturou chromatinu. Chromatin obsahující hypoacetylované lysiny v histonech má kompaktní strukturu represivní pro transkripci. Inhibitory histonových deacetyláz (HDAC) mohou vytvářet otevřené struktury chromatinu a aktivovat určité geny inhibující nádorový růst využití v terapii (butyrát, trichostatin).

Existuje „crosstalk“ mezi metylací DNA a acetylací histonů při tlumení (silencing) genové exprese.

5AZA a HDAC inhibitory v kombinaci způsobují reaktivaci nádorově supresorových genů

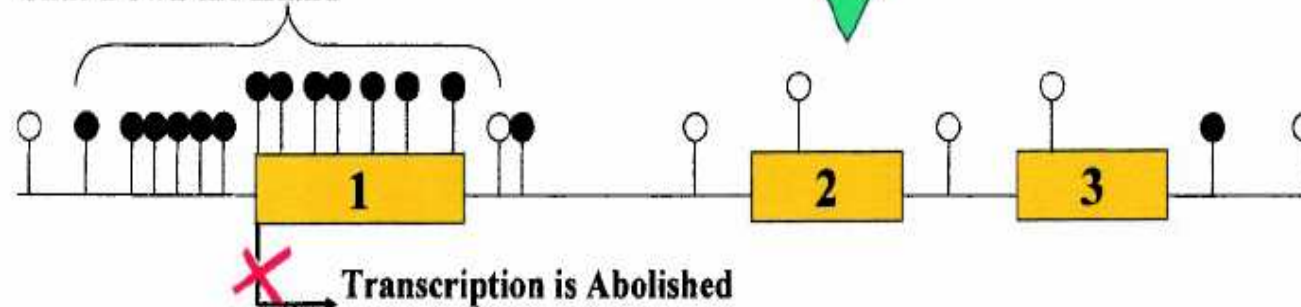
## Unmethylated CpG Island

Activators, Histone Acetyltransferases,  
Basal Transcriptional Machinery Protect the Island



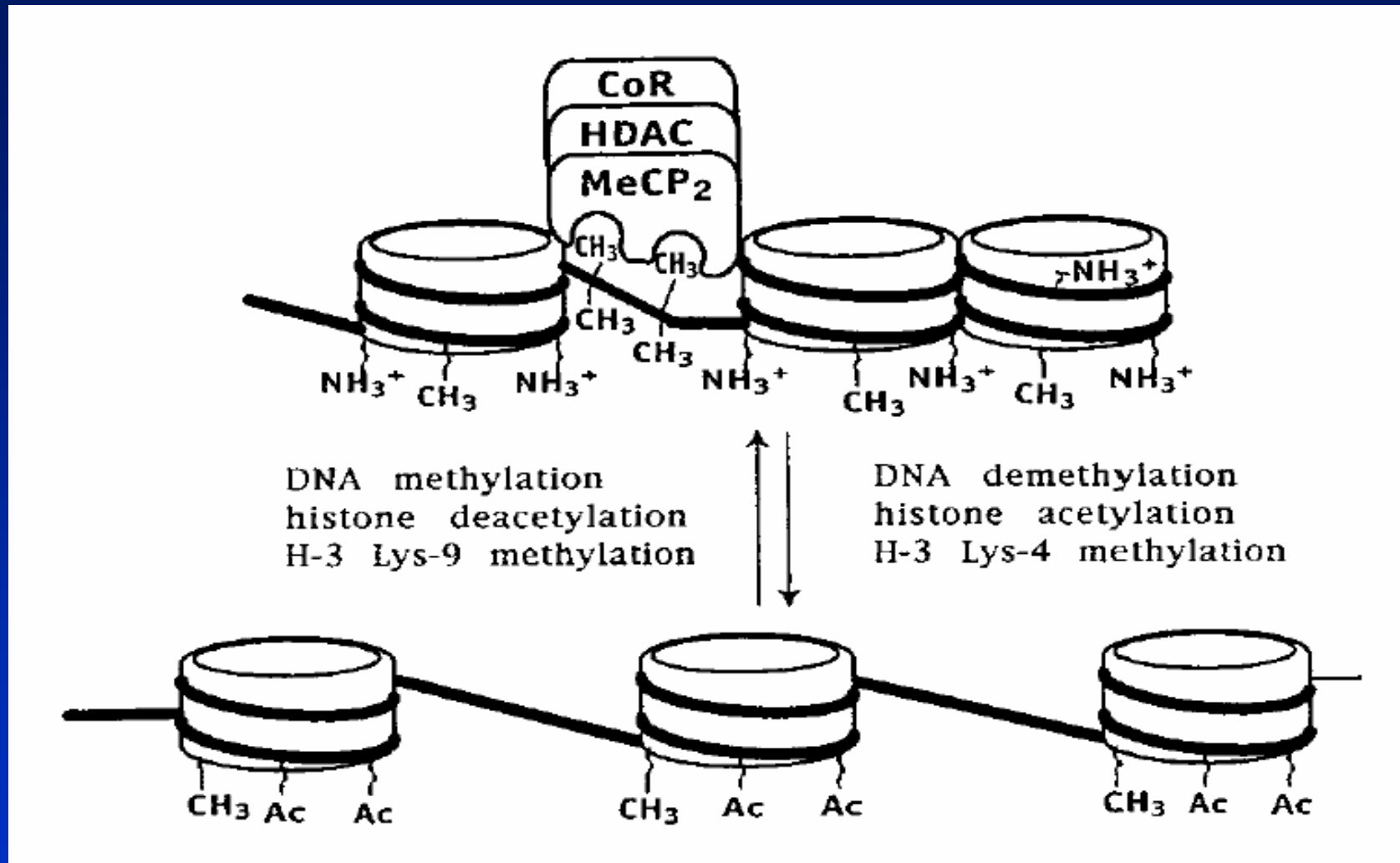
## Hypermethylated CpG Island

Transcriptional Repressors, Histone Deacetylases,  
DNA Methyltransferases and Methyl-binding Proteins  
Shut-Down the Island

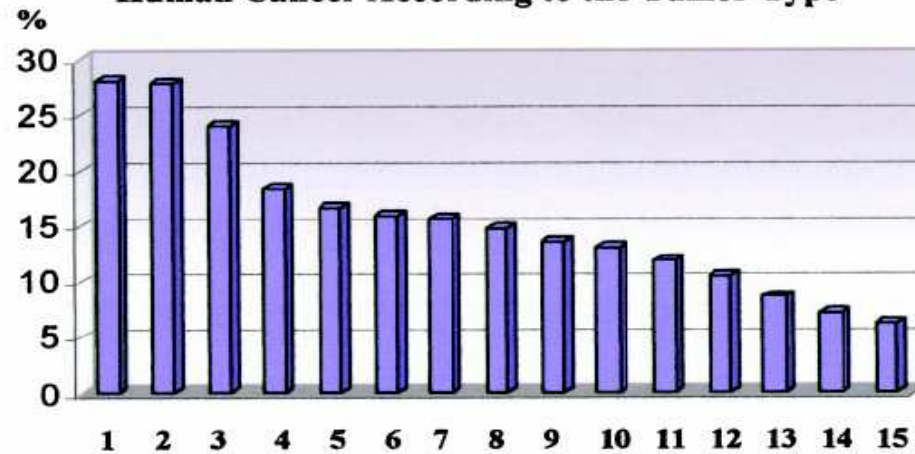


**Figure 1** The typical CpG island of a tumor suppressor gene is represented in a normal and a tumor cell. The presence of a dense hypermethylation changes completely its molecular environment. White dots, unmethylated CpGs; Black dots, methylated CpGs

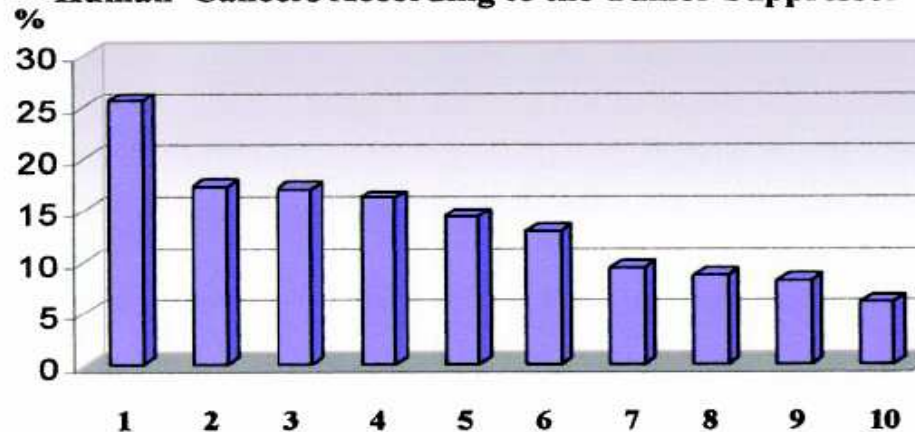
## Utlumení genové exprese aberantní metylací DNA a modifikací histonů



Nukleosomy v promotorové oblasti. Proteiny vážící se k 5MeC (MeCP<sub>2</sub>) se váží k metylovaným CpG místům a způsobují tlumení genové exprese histon deacetylázou (HDAC). Přítomnost tohoto komplexu, deacetylace lysinu v histonech a metylace histon-3 lysin-9 histon metyltransferázou přeměňuje nukleosom v kompaktní konfiguraci, která zabraňuje vazbě transkripčních faktorů. Demethylace a deacetylace způsobuje pak zase uvolnění inhibičního proteinového komplexu a tvorbu otevřené struktury nukleosomu, která umožňuje transkripci.

**A****Percentage of CpG Island Hypermethylation in Human Cancer According to the Tumor Type**

1. Lymphoma
2. Esophagus
3. Stomach
4. Colon
5. Pancreas
6. Leukemia
7. Uterus
8. Liver
9. Head & Neck
10. Glioma
11. Kidney
12. Breast
13. Lung
14. Ovary
15. Bladder

**B****Percentage of CpG Island Hypermethylation in Human Cancers According to the Tumor Suppressor Gene**

1. p16<sup>INK4a</sup>
2. p15<sup>INK4b</sup>
3. DAPK
4. hMLH1
5. MGMT
6. APC
7. GSTP1
8. p73
9. p14<sup>ARF</sup>
10. BRCA1

**Figure 3** (a and b) are alternative ways to present our CpG island hypermethylation profile of human cancer (Esteller *et al.*, 2001a). (a) an average value of the frequency of hypermethylation of 11 tumor suppressor genes (p16<sup>INK4a</sup>, p14<sup>ARF</sup>, p15<sup>INK4b</sup>, MGMT, hMLH1, BRCA1, GSTP1, DAPK, CDH1, p73 and APC) is shown according to the most common types of human tumors. (b) the other side of the coin: the frequency of CpG island hypermethylation of ten particular tumor suppressor genes in the tumor types described in a. In the cases of p15<sup>INK4b</sup> and hMLH1 an overestimation exists due to the high number of leukemias and microsatellite unstable tumors included, respectively



**Table 1** Hallmarks of cancer and different types of genes silenced by aberrant DNA methylation

<i>Hallmark<sup>a</sup> (acquired capability)</i>	<i>Gene silenced by DNA methylation</i>	<i>Gene function</i>	<i>References</i>
Insensitivity to antigrowth signals	p16CDKN2A	Cyclin-kinase inhibitor induce differentiation cell cycle arrest	Herman <i>et al.</i> (1995)
	RAR $\beta$		Coté <i>et al.</i> (1998)
Self-sufficiency in growth signals Evading apoptosis	Sigma 14-3-3		Umbricht <i>et al.</i> (2001)
	RASSF1A	Regulation Ras pathway	Dammann <i>et al.</i> (2000)
	Capase-8	Initiate apoptosis	Teitz <i>et al.</i> (2000)
	TMS1	Proapoptosis	Stimson and Vertino (2002)
	DAP-kinase	Proapoptosis	Kissil <i>et al.</i> (1997)
Limitless replicative potential Sustained angiogenesis	p14ARF	Proapoptosis	Robertson and Jones (1998)
	Rb	Tumor suppressor gene	Ohtani-Fujita <i>et al.</i> (1993)
	Thrombospondin-1	Angiogenesis inhibitor stimulate angiogenesis	Li <i>et al.</i> (1999)
	VHL		Herman <i>et al.</i> (1994)
Increased invasion And metastasis	E-cadherin	Suppress metastasis	Graff <i>et al.</i> (1995)
	TIMP3	Inhibit metastasis	Bachman <i>et al.</i> (1999)
Genome instability (enabling characteristic)	hMLH1	DNA mismatch repair	Esteller (2000)
	MGMT	Repair alkylated guanine	Qian and Brent (1997)
	BRCA1	Repair DNA damage	Bianco <i>et al.</i> (2000)

DAP-kinase, death-associated protein kinase; MGMT, O<sub>6</sub>-methylguanine DNA methyltransferase; RAR $\beta$ , retinoic acid receptor- $\beta$ 2; Rb, retinoblastoma; TIMP3, tissue inhibitor of metalloproteinase-3; VHL, von Hippel–Lindau tumor suppressor gene. The table is illustrative, but not comprehensive. For a list of many cancer-related genes silenced by aberrant methylation, see Tsou *et al.*, 2002. <sup>a</sup>anahan and Weinberg (2000).

## IMORTALIZACE BUNĚK

Imortalizace zahrnuje inaktivaci specifických nádorově supresorových genů jako jsou RB a p53, které se účastní regulace přechodu G1-S fáze buněčného cyklu a indukce apoptózy i dalších genů spojených s buněčným cyklem a apoptózou.

Kromě toho existuje v buňkách mechanismus - **buněčné hodiny** - odpočítávající počet dělení a regulující stárnutí buňky.

Normální somatická buňka má omezený počet dělení, tj. limitovanou schopnost proliferovat a nastává ireverzibilní zástava růstu tzv. **replikativní stárnutí (senescence)**.

**TELOMERY** - jsou vysoce konzervované nukleoproteinové komplexy přítomné na koncích chromozómů a obsahují tandemové opakující se sekvence DNA bohaté na guanin (TTAGGG) obalené specifickými na DNA se vážajícími proteiny. Telomery tvoří protektivní čepičku kolem genomové DNA a zabraňují chromozomálním ztrátám a aberantním fúzím během mitotického cyklu. Telomery se zkracují s dalšími buněčnými děleními, což může způsobit genovou nestabilitu a změněnou genovou expresi. Buňky procházejí krizovým stadiem (Hayflickův limit) nebo umírají. Zkracování telomer vybudí proliferativní stárnutí přes aktivaci pRB a p53 kontrolních bodů, což vede u p53-wild typů k zástavě proliferace.

Dochází k bariéře v proliferaci charakterizované dysfunkcí telomer, extrémní genomovou nestabilitou a rozsáhlou smrtí buněk mechanismy závislými i nezávislými na p53.

Délka telomer koreluje s buněčným stárnutím, ale neexistují žádné důkazy pro jasnou korelaci na organismální úrovni a korelace s délkou života člověka či jiných druhů.

Heterogenita průměrné délky telomer odráží genetické rozdíly a komplexní rovnováhu mezi procesy, které vedou k degradaci a těmi, které prodlužují telomery.

Např. buňky se sebeobnovnou kapacitou mají delší telomery než diferencované, nebo telomery lab. myši jsou delší než u člověka. Telomery jsou kratší u lidských somatických tkání ze starších lidí než u mladších jedinců nebo u zárodečných buněk. Děti s genetickými nemocemi projevujícími se rychlým stárnutím tzv. progerickým syndromem (Down, Werner, At. telangiectasia) umírají v raném věku s tělem 90ti letých a jejich telomery jsou drasticky zkráceny.

**Immortalizované buňky** vznikající z krizového stadia (inaktivací p53 a pRB, overexpresí cMyc a Ras a v důsledku vážné genové nestability) obnovují funkci telomer aktivací telomerázy, alternativním telomery udržujícím mechanismem (ALT) nebo jiným adaptivním mechanismem. Ve skutečnosti mají nádorové buňky kratší telomery než jejich odpovídající normální buněčné typy. Tyto telomery se dále zkracují během progresu nádoru a u myších exp. modelů, jsou zkrácené telomery spojeny se zvýšenou genetickou nestabilitou a zvýšenou nebo redukovanou spontánní malignitou v závislosti na genetickém kontextu. Mnoho faktorů (genetických, nutričních, hormonálních, environmentálních, farmakologických) může modulovat udržování telomer a potenciál buněčného života.

**TELOMERÁZA.** Telomery nejsou udržovány normálním replikačním procesem. U kmenových, nádorových a immortalizovaných buněk, je zkracování telomer zastaveno aktivací telomerázy - reverzní transkriptázy, která rozšiřuje telomerické TTAGGG opakované sekvence.

3 hlavní složky: s telomerázou spojený protein, TLP1, telomerázovou RNA -hTR a telomerázovou katalytickou jednotku TP2 - lidská telomerázová reverzní transkriptáza.

Telomeráza používá svou RNA k navázání na telomery, zatímco katalytická proteinová jednotka syntetizuje DNA přímo na koncích chromozómů reverzní transkripcí templátu RNA.

Telomeráza je vysoce exprimována ve většině nádorů a kmenových buněk, středně v hyperplastických a metaplastických buňkách a velmi nízká nebo žádá v normálních dif. tkáních a postupně se snižuje s věkem. Její exprese je spojena s vysokým proliferačním indexem a obnovným tkáňovým potenciálem, agresivitou nádorů, vysokým histopatologickým gradem a s proliferací cévního endotelu.

Telomerázová aktivace a overexprese je často nezbytným a raným dějem v mnohastupňové karcinogenezi: vzrůstá rychle při chemické karcinogenezi a po zkrácení telomer. Telomeráza není ani onkogen ani nádorově supresorový gen, ale regulována nahoru nebo dolů mnoha faktory a stává se důležitým predisponujícím dějem u karcinogeneze nebo cílené nádorové terapie.

**Homeostáza systému telomery – telomeráza je komplexní a je svázána s genetickými a environmentálními faktory.**

Řada faktorů snižuje ( ↓diferenciační činidla, epigallocatechin gallate (z čaje), antineoplastické látky - cisplatina, doxorubicin, protein fosfatáza 2, MAPK, tamoxifen, androgeny, volné radikály, inhibitory reverz. transkriptázy) a řada zvyšuje ( ↑ chemické karcinogeny, mutace telomerických sekvencí, gamma záření, PKC, EGF, estrogeny) telomerázovou aktivitu.

Vztahy mezi telomerázovou aktivitou a nádorovým onemocněním jsou složité a jen částečně objasněné. Telomeráza může paradoxně buď podporovat nebo inhibovat tvorbu nádorů v závislosti na genetickém kontextu.

U nádorových buněk jsou telomery kratší a telomerázová aktivita obvykle následuje po zkracování telomer. Ztráta funkce telomer při raném dělení zahajuje genetickou nestabilitu, zatímco v pozdějším bodě progresu nádoru absence telomerázy inhibuje růst. Tak zatímco inhibice telomerázy u ustanovených nádorů může být cenným terapeutickým přístupem, na věku závislé zkracování telomer může být rizikovým faktorem pro nádory tím, že umožňuje obejít kontrolní bod mortality.

**System telomery-telomeráza představuje komplexní skupinu molekul interagujících navzájem a modulujících věk buněk, genetickou stabilitu a nádorovou transformaci.**

Vnější zásahy mohou modulovat žití zvyšováním nebo snižováním délky života, ale s tímto přístupem jsou spojeny také odpovídající problémy.

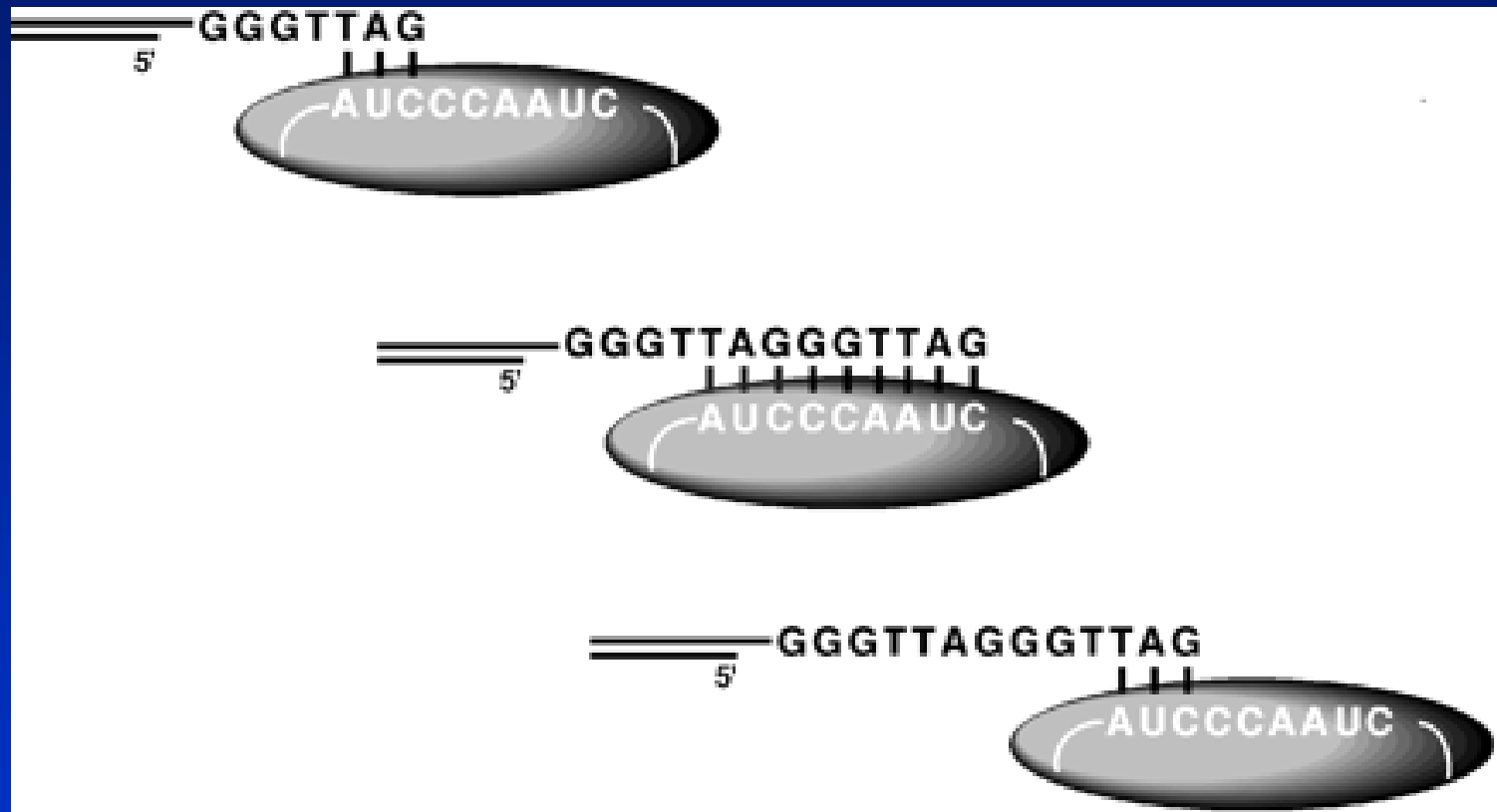
Udržování telomer by mohlo být důležité pro prodloužení života, ale vzhledem ke složitosti fyziologických mechanismů na buněčné a zejména organismální úrovni, nelze tento problém zjednodušovat. Z onkologického hlediska, může overexprese telomerázy zvyšovat riziko vzniku nádorů. Ačkoliv normální buňky s delší dobou života a udržovanými telomery se nejeví jako neoplastické, zpoždění fyziologické smrti může zvyšovat pravděpodobnost kontaktu s karcinogeny. Telomeráza sama také zvyšuje onkogenní potenciál predisponovaných buněk a je cílem protinádorových terapií. Zatím se pozornost soustřeďuje na zvýšení doby života několika cílových buněk nebo snížení proliferujících nádorových buněk. Málo pozornosti je věnováno organismální úrovni, mikro- a makroprostředí, ve kterém tyto buňky rostou jako normální nebo imortalizované nádorové buňky: tj. angiogenezi, růstovým a diferenciacním faktorům, cytokinům, hormonům, imunitnímu systému a environmentálním faktorům.

**?????** Zbývá odpovědět na otázky:

Je bezpečné prodlužovat lidský život použitím terapeutických látek?

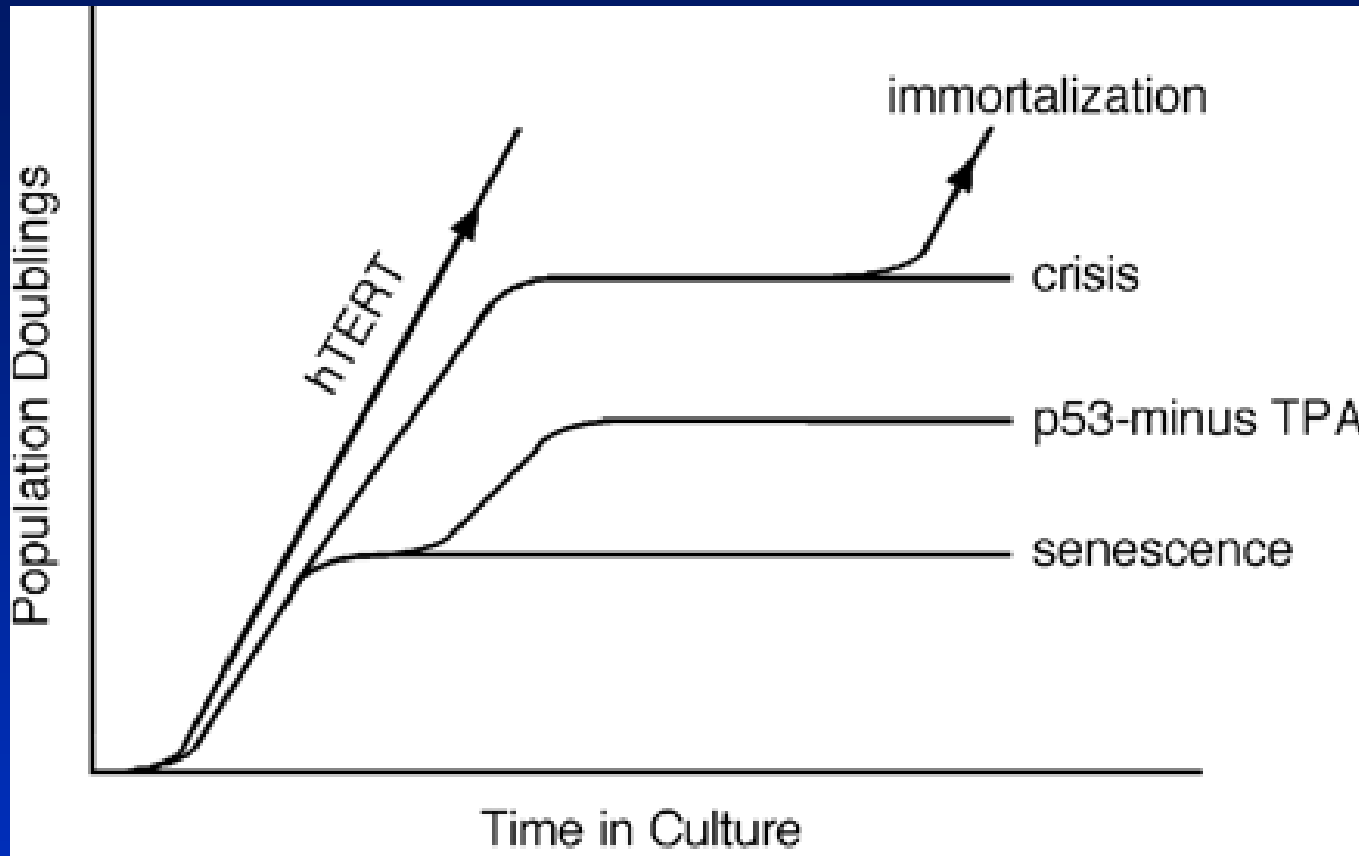
Je lepší prodlužovat lidský život nebo zlepšovat kvalitu života?

## Rozšiřování na guanin (G) bohatých telomerových vláken telomerázou



The telomerase holoenzyme contains protein subunits including a catalytic subunit with reverse transcriptase activity and an RNA molecule that acts as the template for addition of TTAGGG repeats to telomeres.

## Stadium terminální proliferační zástavy (TPA)



Normal cells divide a limited number of times before permanently exiting the cell cycle and remaining in a viable non-proliferative state referred to as senescence (1). If p53 is inactivated in these cells, the cells may resume dividing a limited number of times, before they permanently exit the cell cycle (p53-minus TPA) (38,39). If p53 and the pRb/p16<sup>INK4a</sup> pathway are both disrupted, for example, by the presence of SV40 or HPV viral oncoproteins, the cells may bypass senescence but subsequently arrest in a state referred to as crisis (44). A rare cell (~1 in 10<sup>7</sup>) may escape from crisis and become immortalized. Transduction of some normal cells with hTERT expression constructs may result in expression of telomerase and bypass of senescence.

# Zkracování telomer může vést k chromosomální nestabilitě a vzniku nádoru

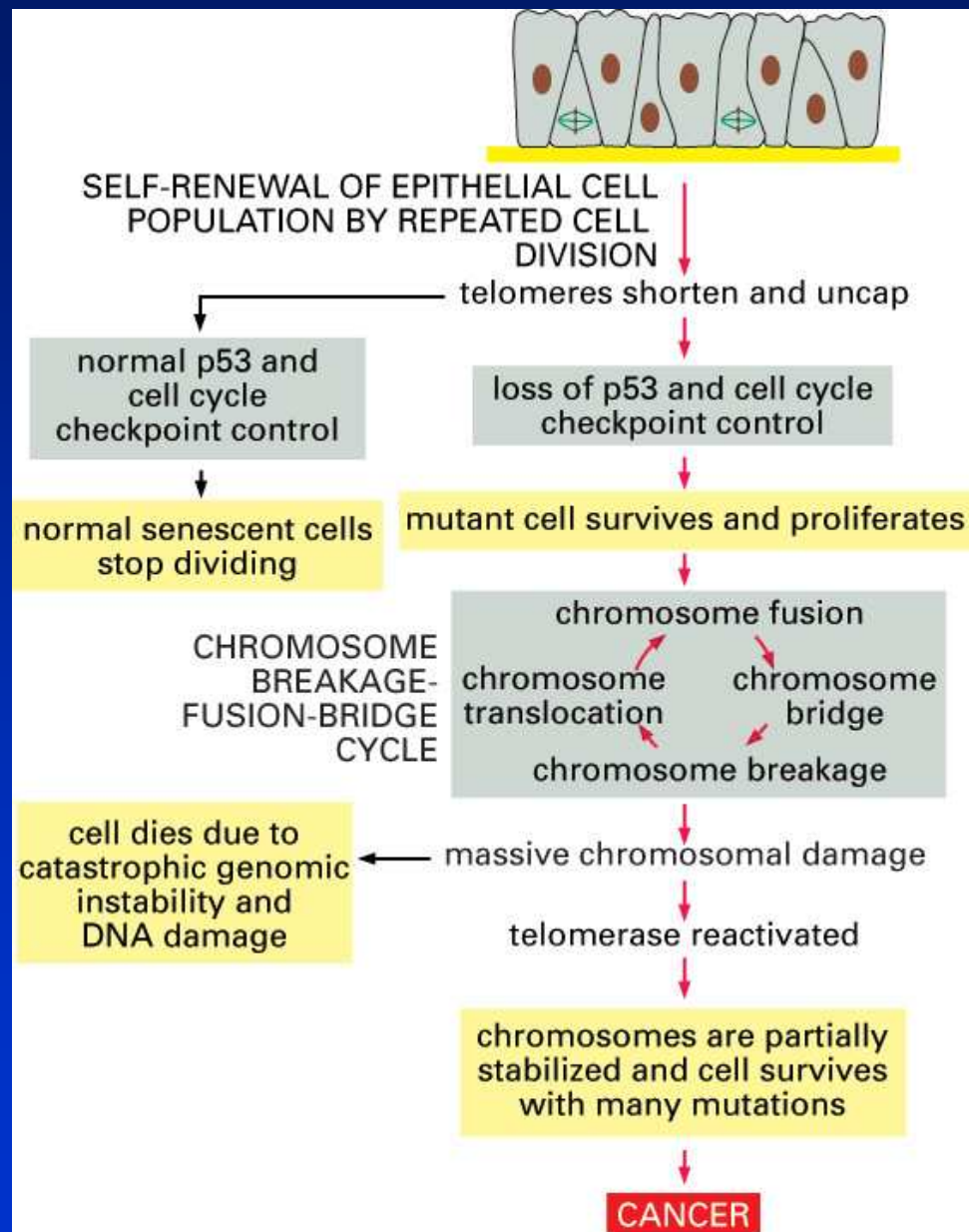
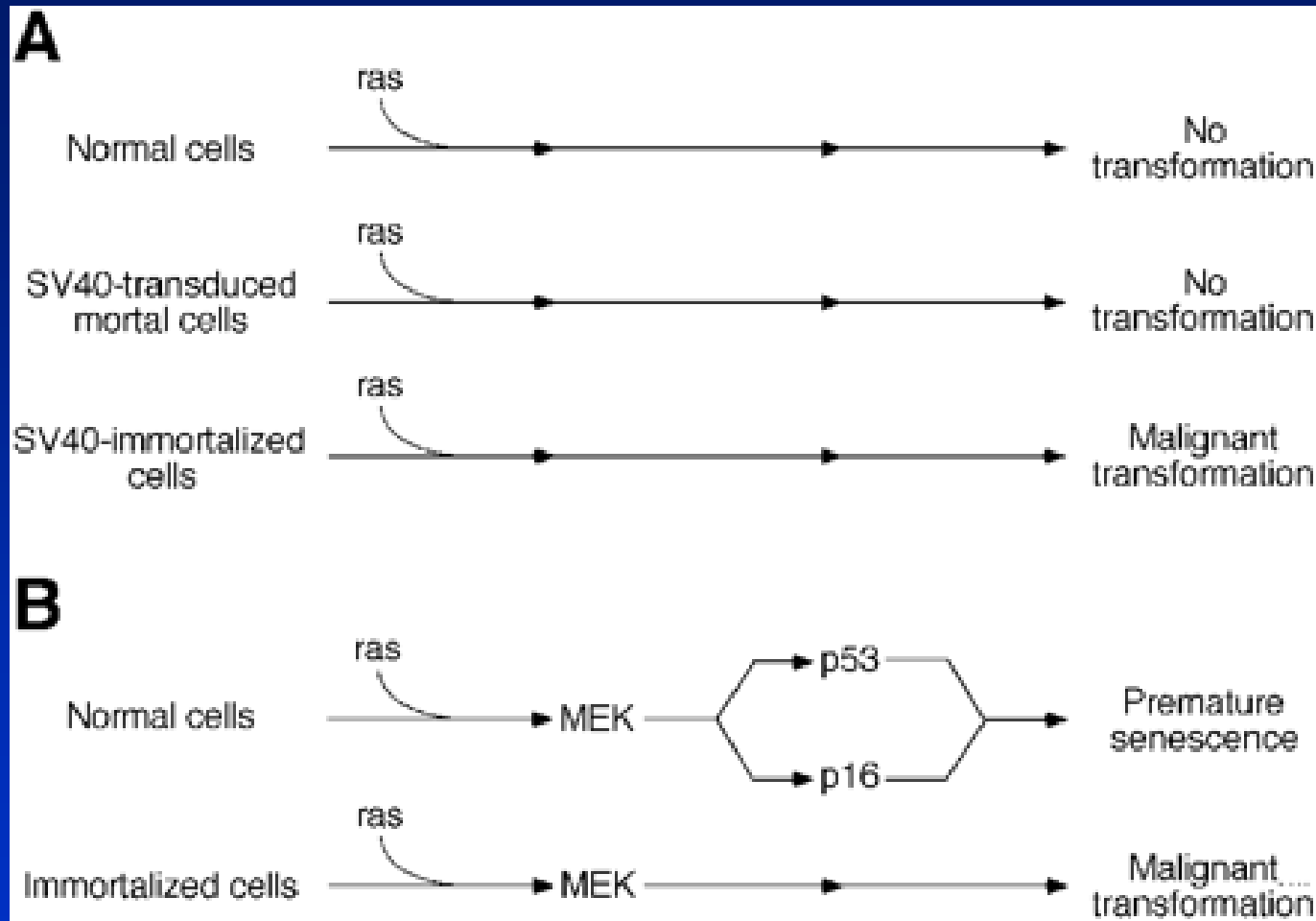


Figure 23-36. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

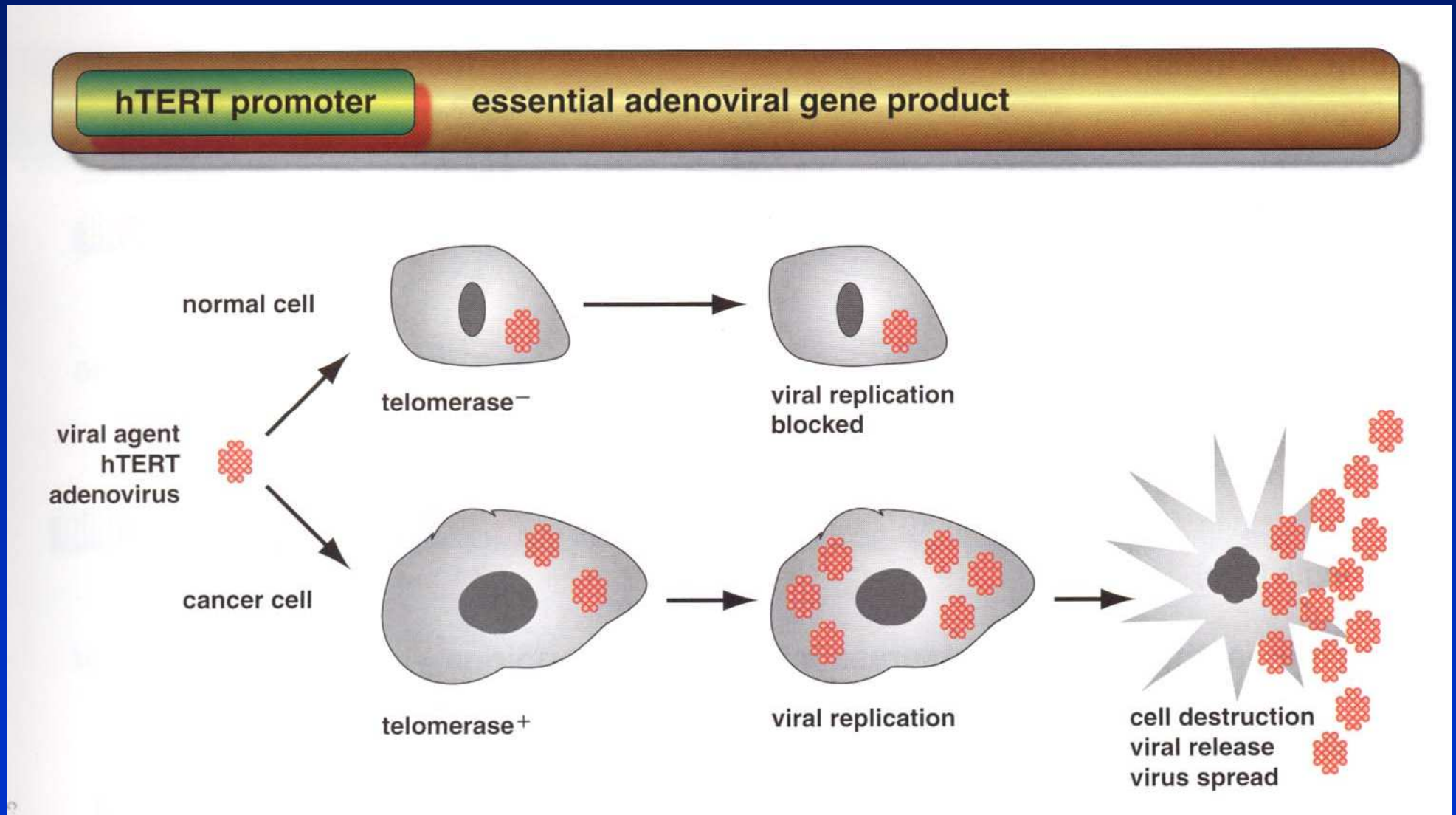


# Immortalization is necessary, but not sufficient for malignant transformation



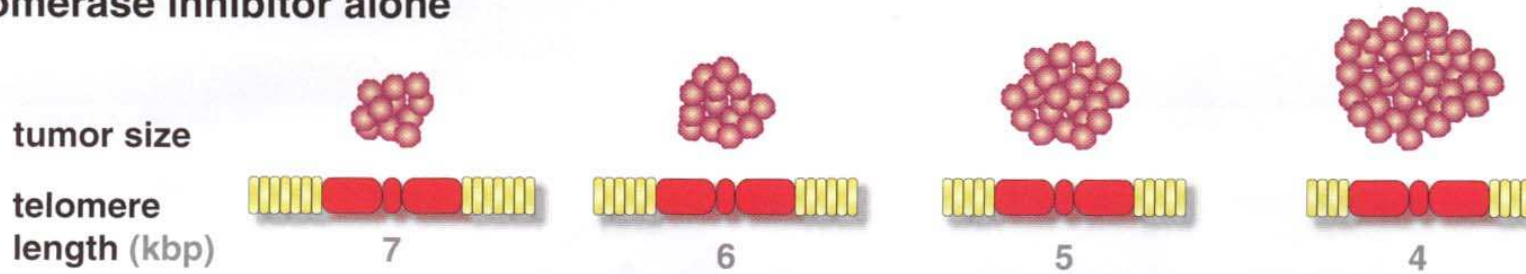
A) In a number of *in vitro* models it has been shown that oncogenes, such as activated *ras*, can cause malignant transformation of immortalized cells but not their normal mortal counterparts. In the example illustrated, activated *ras* caused malignant transformation of SV40-immortalized fibroblasts, but not normal fibroblasts nor SV40-transduced fibroblasts that had not become immortalized (67). (B) Mouse fibroblasts transduced with activated *ras* obtain a constitutively active MEK signaling pathway. In immortalized cells this may result in malignant transformation, but in normal cells this results in upregulation of p53 and p16<sup>INK4a</sup> and premature senescence (74).

# Adenovirová terapie využívající promotoru pro telomerázu

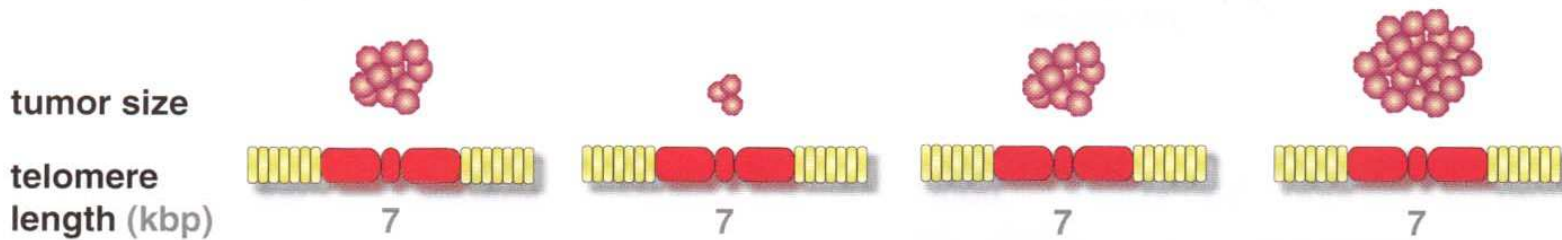


# Inhibitory telomerázy a konvenční terapie

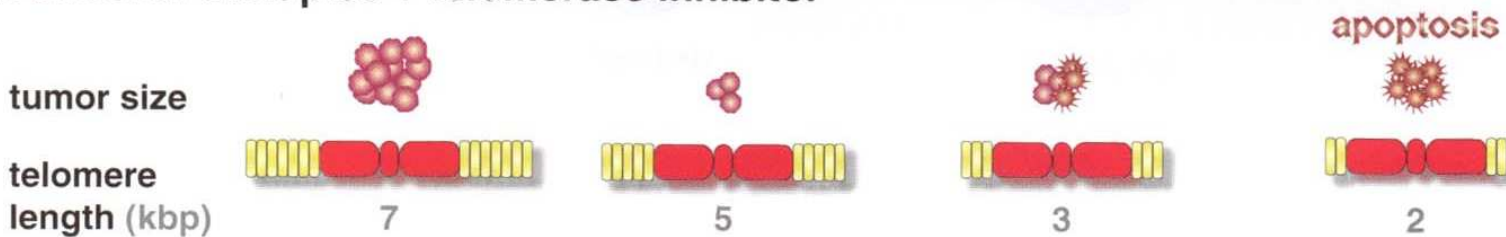
## telomerase inhibitor alone



## conventional therapies alone



## conventional therapies + telomerase inhibitor



time of treatment