

Molekulární biologie nádorů

Prof. RNDr. Jana Šmardová, CSc.

Ústav patologie, FN Brno
Přírodovědecká fakulta MU Brno
Lékařská fakulta MU Brno
2011

1. Úvodní přednáška

Studijní literatura

1. **Texty přednášek**
2. Robert Allan Weinberg: „**The Biology of Cancer**“ GS Garland Science, 2007
3. Zdeněk Adam, Jiří Vorlíček, Jana Koptíková: „**Obecná onkologie a podpůrná léčba**“
kapitola 2: Jana Šmardová, Jitka Pacholíková:
Molekulární podstata kancerogeneze
4. Robert Allan Weinberg: „**Jediná odrodilá buňka. Jak vzniká rakovina.**“

Motto: Alfred G. Knudson (2000)

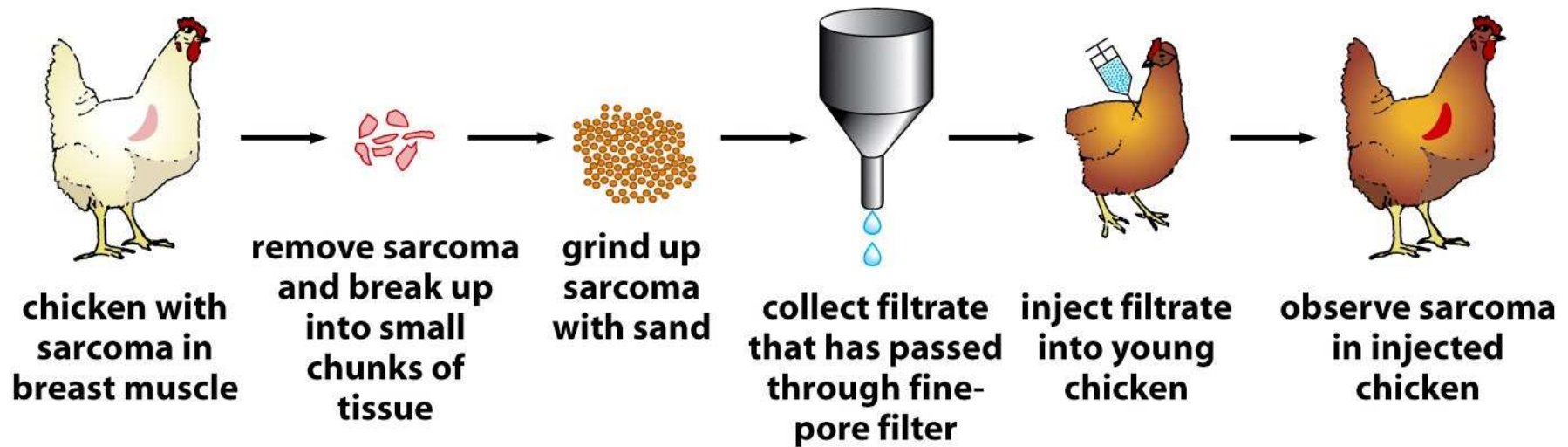
„Všichni pronásledovatelé démona nádoru v minulém století museli být fascinováni předmětem svého pronásledování a zároveň museli cítit frustraci z jeho neuchopitelnosti. Se vstupem do nového milénia máme naději, že démon bude nakonec pochopen a že na základě tohoto pochopení najdeme způsob, jak ho přemoci.“

Historický přehled

- 400 p.n.l. **Hippocrates** popsal rakovinu jako dlouhé výběžky (podobné račím nohám) vybíhajícím do zdravých tkání:
 - řec: karkinos = rak; onkos = krab
 - lat: cancer = rak
- popisné (**epidemiologické**) poznatky:
 - 1848 - zvýšený výskyt rakoviny prsu u jeptišek (souvislost s bezdětností a nekojením)
 - 1775 - rakovina šourku u kominíků (souvislost s výskytem škodlivin v sazích; souvislost s hygienickými návyky)
 - 1902 - souvislost RTG paprsků a vzniku rakoviny
 - poč. 20. stol. - **rodinný výskyt** nádorů

Historický přehled

- 1909 - **Peyton Rous** - infekční přenos nádoru u kuřat
studium nádorových virů (**onkogen** - fragment virových genů způsobujících nádor) (1961 - Nobelova cena)



Historický přehled

- 1976 - Bishop, Varmus - objeven *c-src* (protoonkogeny):
souvislost s mitogenní signální dráhou
v souvislosti se studiem akutně transformujících virů
rozpoznáno asi 30 různých protoonkogenů
- pomalu transformující viry (inzerční mutageneze): postupně
rozpoznáno 25 různých protoonkogenů
- Henry Harris (fúze buněk) - **nádorové supresory** - recesivní
geny (brzdy)
- **Knudson** - retinoblastom - „two hits hypothesis“
- přenosy DNA (transformace, transfekce)

Historický přehled

- biochemie: studium onkoproteinů, jejich lokalizace, interakcí
- molekulární biologie: izolace, charakterizace a cílená exprese eukaryotických genů
- buněčná biologie: studium molekulárních mechanismů řídících růst buněk, buněčné dělení
- genetika somatických buněk a virů: funkční testy jednotlivých genů

p21: **WAF1** - „wild type p53-activated fragment“
 cip1 - „Cdk-interacting protein 1“
 sdi1 - „senescent cell-derived inhibitor 1“

Základní pojmy

Nádor, tumor, neoplazma, novotvar

- je nová a abnormální tkáň v mnohobuněčném organismu, která v tomto organismu nemá fyziologickou funkci a roste neregulovaným způsobem.
- je geneticky podmíněný abnormální přírůstek buněčné tkáňové hmoty klonálního charakteru. Jeho růst není v koordinaci s růstem okolních tkání a rovnovážným stavem organismu.

Klasifikace nádorů I:

podle schopnosti infiltrovat se do jiné tkáně

- **Benigní (nezhoubné):** zůstávají v místě svého vzniku, nemigrují, neinvadují jiné tkáně.
- **Maligní (zhoubné):** pronikají do okolních tkání a prostřednictvím krevního a lymfatického systému do celého těla, v nových tkáních vyvolávají tvorbu sekundárních nádorů (metastází)
- Z tohoto pohledu lze klasifikovat nádory na **primární** a **sekundární**.
(Pozor: *sekundární* - therapy-related; vývoj z jiného méně závažného stavu.
Pozor: *maligní*, tj. zhoubný, tj. smrtelný může být i nemetastázující nádor)

Normální → maligní tkáň

- **hyperplasie** - buňky nezměněné, ale zmnožené
- **metaplasie** - přechodná změna fenotypu buněk - v důsledku vnějších signálů; buňky lokalizované na nesprávném místě, často v místě, kde se setkávají dva typy epitelu: děložní čípek - děloha; jícen - žaludek - tzv. Barrettův jícen: premaligní, metaplasie - dlaždicobuněčné buňky nahrazeny sekretorickými obvykle se nacházejícími v žaludku: ~ 30x zvýšené riziko vývoje karcinomu jícnu
- **dysplasie** - obsahují již cytologicky abnormální buňky (velikost, tvar, barvitelnost jádra, poměr jádro/cytoplazma, změněná mitotická aktivita) a abnormální poměr buněčných typů

Normální → maligní tkáň

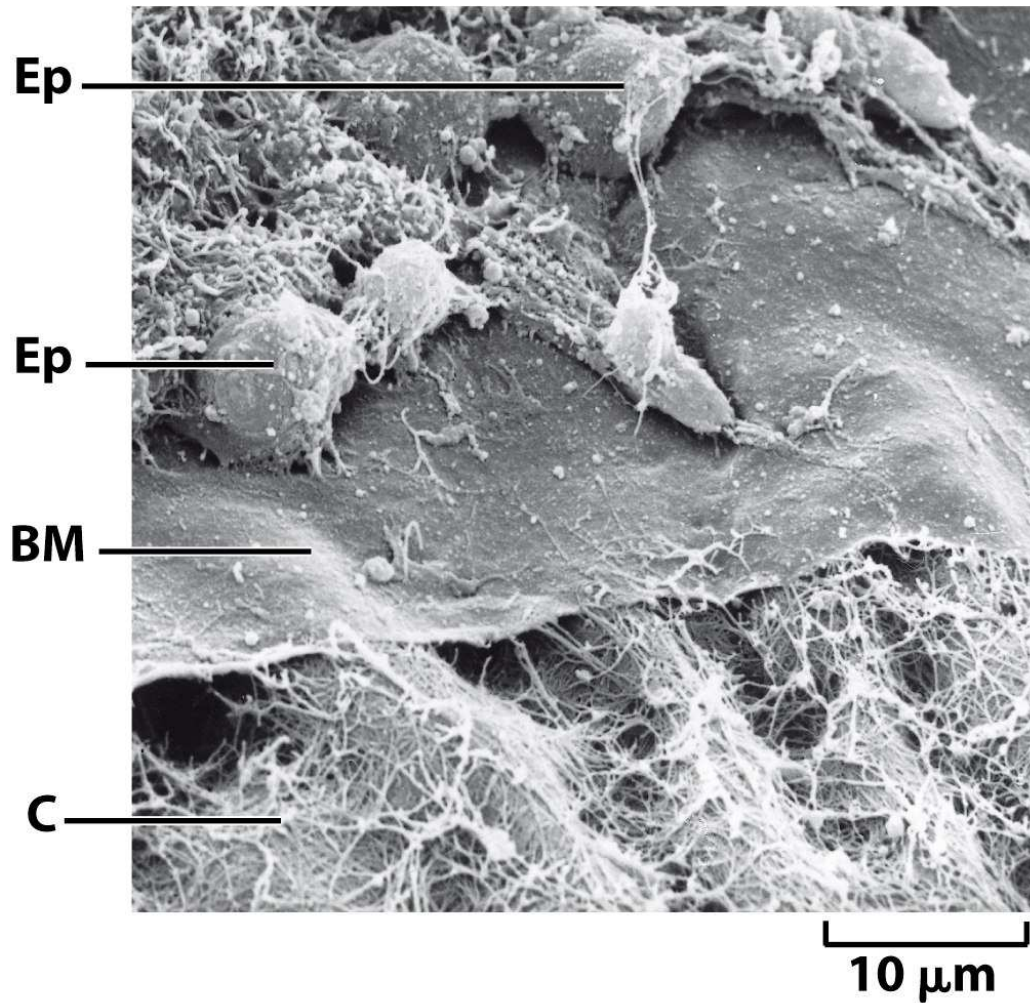
- **polypy, papilomy, warty** - útvary již viditelné okem, obsahují buňky jako normální tkáň, ale expandují a tvoří makroskopickou masu; jsou dysplastické, nepenetrují bazální membránu, jsou benigní
- **invadující nádory** - překračují/prostupují bazální membránu, jsou tedy již **maligní**
- **metastazující nádory** - zakládají sekundární ložiska, jsou nejenom invadující, ale mají navíc schopnost adaptace na nové prostředí (+ motilita)

Klasifikace nádorů II:

podle typu buněk (tkání), ze kterých vznikají

- **karcinomy** - nádory epiteliálních buněk (asi 80-90% lidských nádorů)
- **sarkomy** - pevné nádory konektivních tkání - svalů, kostí, chrupavky
- **leukémie a lymfomy** - odvozené od hematopoietických buněk a buněk imunitního systému
- **neuroektodermální** - nádory odvozené z nervové tkáně
- **germinální nádory** - odvozené z totipotentní zárodečné buňky
- **smíšené nádory**

Karcinomy



Odvozeny z **epiteliálních tkání**:

Epiteliální buňky (**Ep**) tvoří vrstvu buněk, které tvoří výstelku tělních dutin a kanálů, povrch těla. Nacházejí se na jedné straně bazální membrány (**BM**), pod BM jsou stromální buňky a kolagenová vlákna (**C**), která spojují BM s extracelulární matrix (ECM).

Karcinomy

- tvoří asi **80-90%** nádorů
- z endodermu, mesodermu i ektodermu: vývojová historie nepřispívá ke klasifikaci
- **spinocelulární/dlaždicobuněčné** - odvozeny z buněk, které tvoří tu ochrannou vrstvu
- **adenokarcinomy** - odvozeny ze specializovaných buněk sekretujících do dutin a kanálů nejrůznější látky, jejichž účelem je ochrana epiteliálních buněk před obsahem dutin,...
- **smíšené** - oba typy koexistují

Sarkomy/mesenchymální nádory

tvoří asi 1% nádorů

nádory odvozené z konektivních tkání, z mesenchymálních buněk:

- fibrosarkomy (odvozeny z fibroblastů - sekretují kolagen)
- liposarkomy (z adipocytů - ukládají v cytoplasmě tuky)
- osteosarkomy (z osteoblastů - sestavují kalcium fosfátové krystaly v kolagenu - tvoří kosti)
- leiomyosarkomy a rhabdomyosarkomy (z myocytů - tvoří svaly)
- angiosarkomy - vznikají z prekursorů endoteliálních buněk

Leukémie a lymfomy

Nádory odvozené z hematopoietických buněk a buněk imunitního systému

- leukémie - z buněk, které se volně pohybují cirkulací
- lymfomy - (z B a T lymfocytů) agregují a tvoří solidní nádory, často v lymfatických uzlinách

Neuroektodermální nádory

Nádory odvozené z různých buněk centrálního a periferního nervového systému:

- gliomy
- glioblastomy
- neuroblastomy
- schwannomy
- meduloblastomy

Tvoří asi **1,3%** diagnostikovaných nádorů, ale představují asi 2,5% úmrtí spojených s nádory

Další nádory

Některé nádory nezapadají do uvedené klasifikace:

- melanomy - odvozeny z melanocytů, buněk, které sekretují pigment
- malobuněčné karcinomy plic - obsahují buňky se znaky neurosekrečních buněk
- **transdiferenciace** - přepnutí/změna tkáňové linie, získání nových diferenciačních znaků (EMT: epiteliální - mesenchymální transice)
- **dediferenciace** - nelze vystopovat typ tkáně, z níž je nádor odvozen: anaplastické nádory (1 až 2% nádorů)

Klasifikace nádorů III:

podle postiženého orgánu nebo tkáně

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

- a mnoho dalších

Vsuvka: Klasifikace solidních nádorů : v praxi

Co všechno stanovuje patolog?

- typing
- grading
- staging
- rating

„Typing“

Přesný typ nádorového procesu. Vychází ze závazných klasifikací, obvykle doporučených WHO. Každá jednotka má přidělen svůj unikátní číselný kód **ICDO** (International Classification of Diseases for Oncology)

Např. kód 8850/0 je lipom.

První číslo za lomítkem označuje biologické vlastnosti:

- 0:** benigní
- 1:** nejisté chování
- 2:** carcinoma in situ
- 3:** maligní
- 6:** metastáza

Např. kód 8850/3 je liposarkom.

„Grading“

Stupeň diferenciacie (jak moc se nádorové buňky podobají normálním buňkám)

G1: dobře diferencovaný nádor s dobrou prognózou

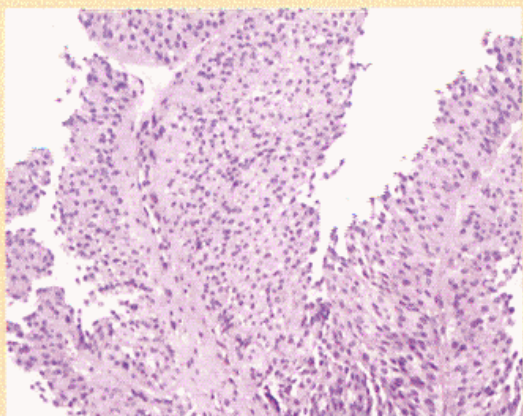
G2: středně diferencovaný nádor s prostřední prognózou

G3: málo diferencovaný nádor se špatnou prognózou

Příklad: karcinom močového měchýře

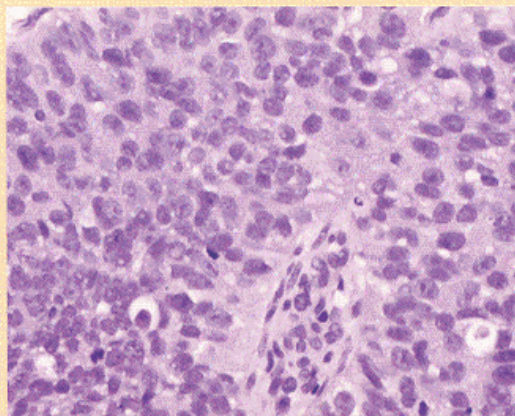
Grade 1

dobře diferencované



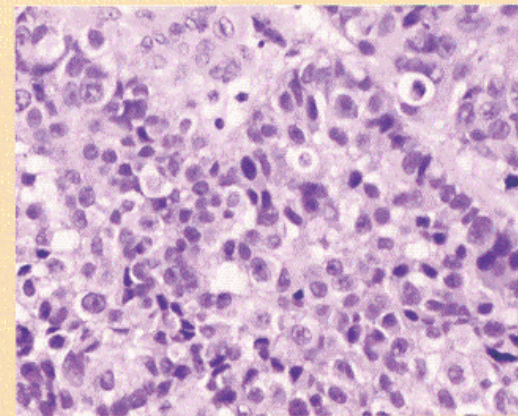
Grade 2

středně diferencované



Grade 3

málo diferencované



„Staging“

Anatomický rozsah choroby (jak dalece je nádor rozšířen) podle světově unifikovaných systémů. Každá topika má svůj vlastní systém. Kategorizace podle velikosti a anatomických bariér, které nádor svým růstem překonal.

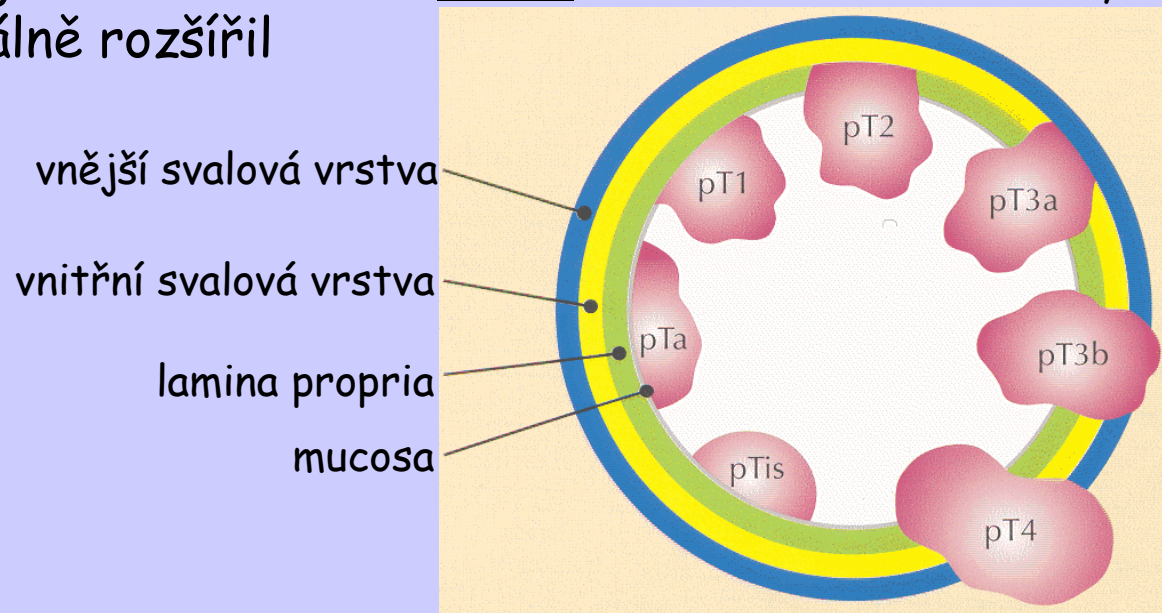
T1: malý lokalizovaný nádor

T2: větší, ale ohraničený uvnitř orgánu

T3: nádor na hranici orgánu

T4: nádor, který se lokálně rozšířil do dalších orgánů

Příklad: karcinom močového měchýře



„Rating“

Změny detekovatelné na molekulární úrovni.

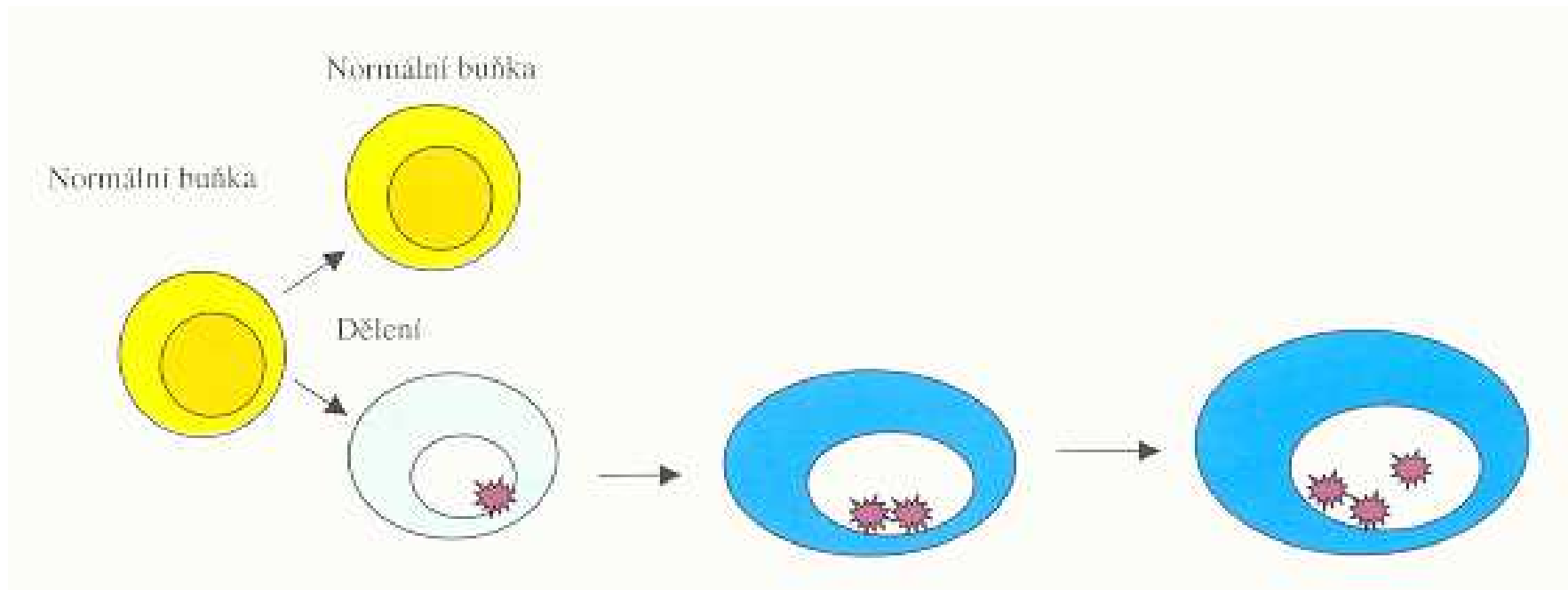
- Některé jsou přímo **diagnostické** pro danou nosologickou jednotku (např. specifické chromozomální translokace u lymfomů či některých sarkomů, specifický imunofenotyp u lymfomů či leukémií).
- Jiné mají vysokou **prognostickou** váhu a tím bezprostřední vliv na volbu terapie (např. amplifikace genu *N-myc* u neuroblastomu, amplifikace *HER2/neu* u karcinomu prsu).
- Další molekuly jsou cílem protinádorových léčiv a jejich přítomnost/stav v buňce **predikují** účinnost této léčby (např. Herceptin, Rituximab, Glivek,...).

Kancerogeneze

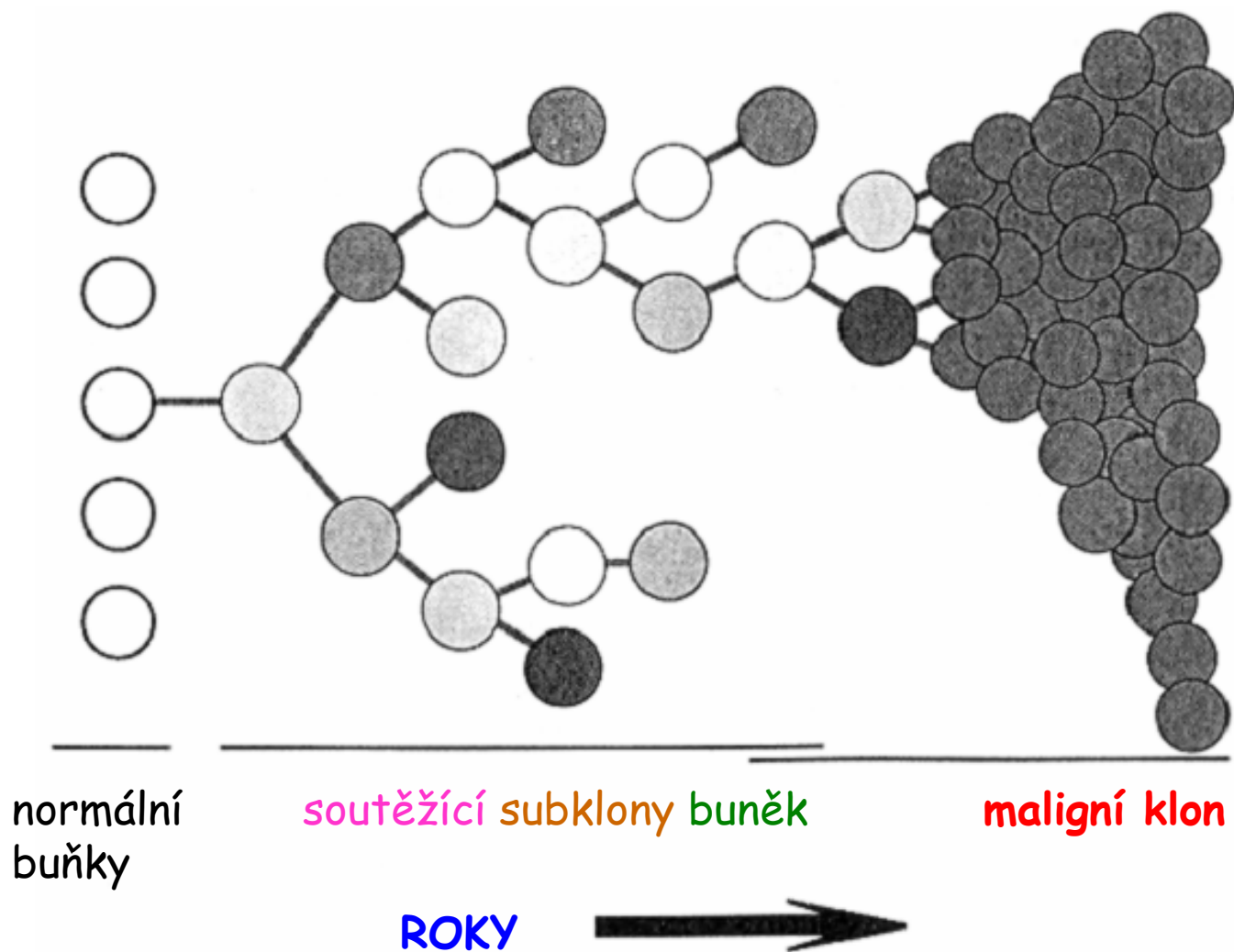
- je proces vzniku a vývoje nádoru
- je vícestupňový proces
- podstatou kancerogeneze je postupné hromadění genetických (a epigenetických) změn

Neoplastická transformace - je přeměna somatické buňky v buňku nádorovou

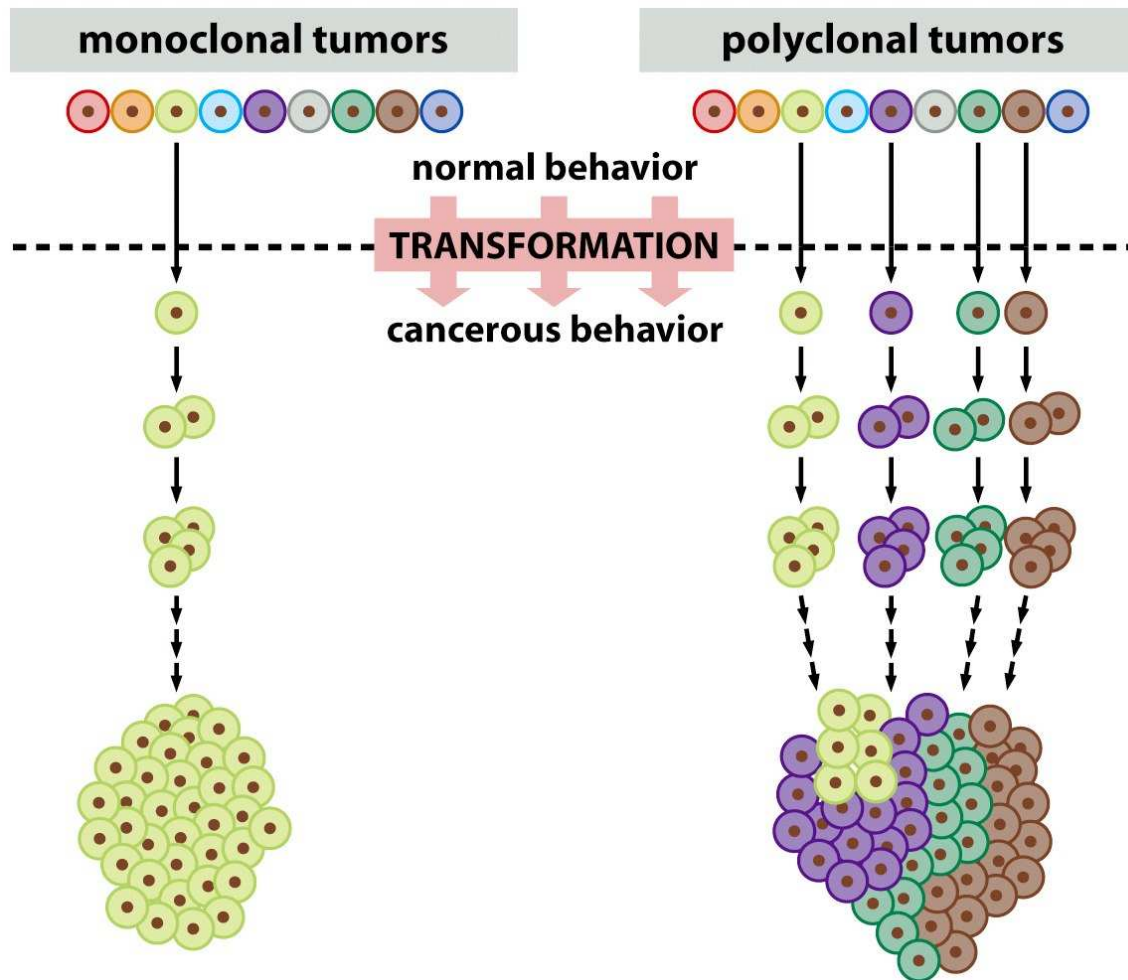
Podstatou kancerogeneze je postupné hromadění genetických změn



Klonální model vývoje nádoru: selekce, klonální expanze



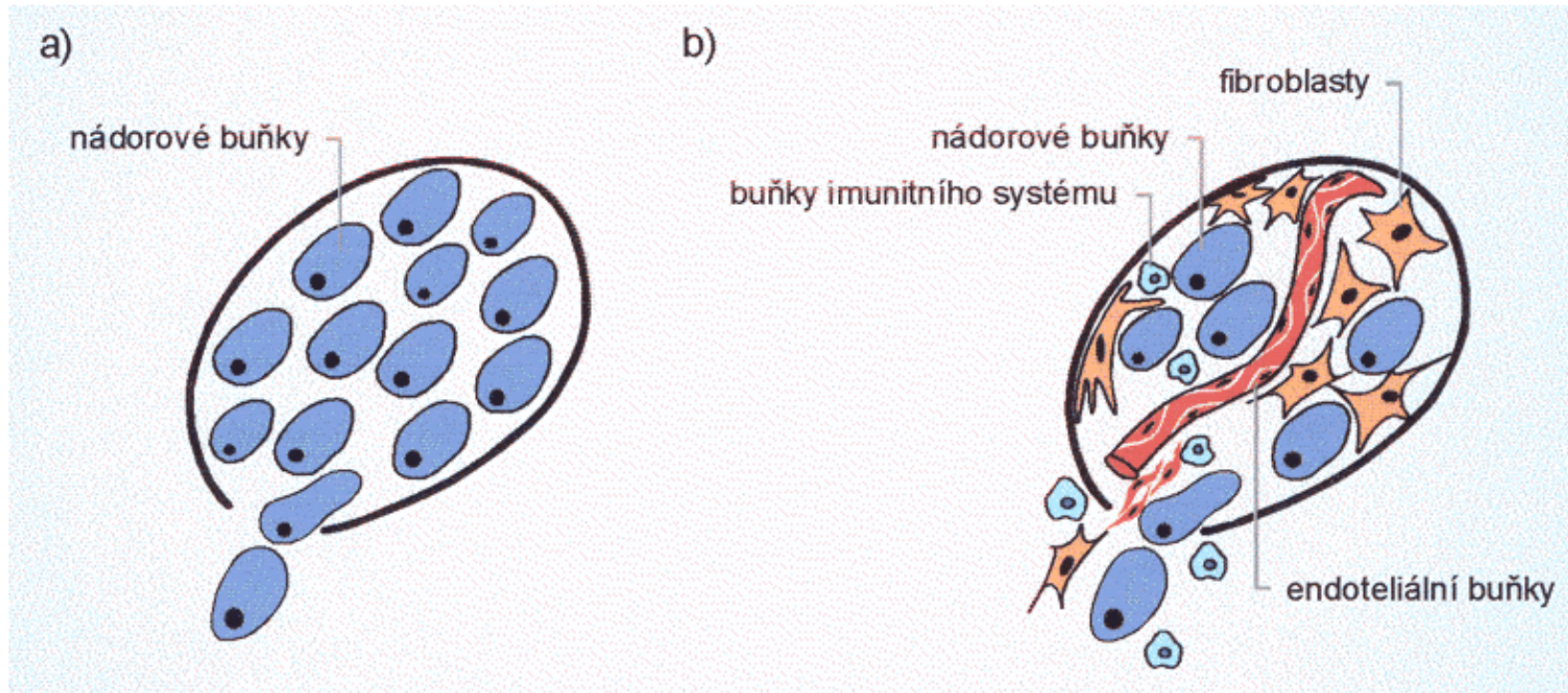
Jsou nádory monoklonální nebo polyklonální?



Jsou nádory monoklonální nebo polyklonální?

- Klonalitu lze studovat na základě sledování nějakého unikátního genetického/epigenetického markeru (např. Barrovo tělísko) \Rightarrow tak lze prokázat, že buněčná populace v nádoru je monoklonální
- X Na počátku mohl být vývoj polyklonální, ale přerostla nejúspěšnější buněčná populace.
- X Během vývoje narůstá genetická nestabilita a tedy i heterogenita.
- Nicméně obecný konsensus říká, že nádory jsou většinou **monoklonální** a jejich vývoj začíná **jedinou odrodilou buňkou**.

Nádor je komplexní tkáň



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

kancerogeneze vs. buněčná transformace

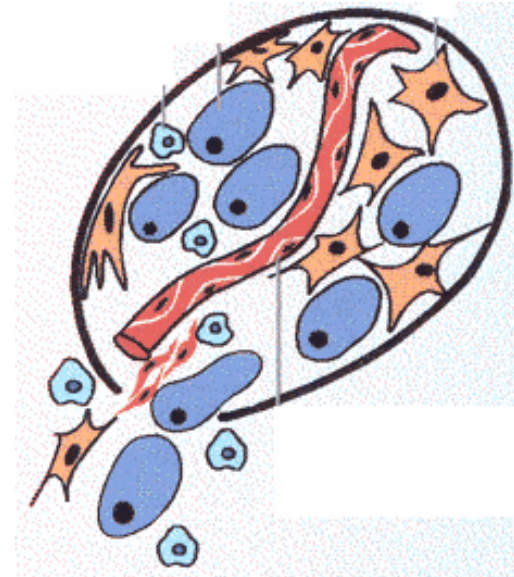
Histologická skladba nádoru

1. Nádorové stroma

- mezenchymální tkáňové složky: cévní komponenty, podpůrné mezenchymální tkáně, lymfocyty, makrofágy,...
- slouží hlavně k výživě parenchymu a jako kostra pro uspořádání parenchymu
- transportní úloha (přenos signálů, rezervoár růstových faktorů...)
- klíčová úloha při nádorové angiogenezi a metastázování

2. Nádorový parenchym

- vlastní nádorově transformovaný parenchym/buňky



Klasifikace nádorů IV:

podle histologické skladby

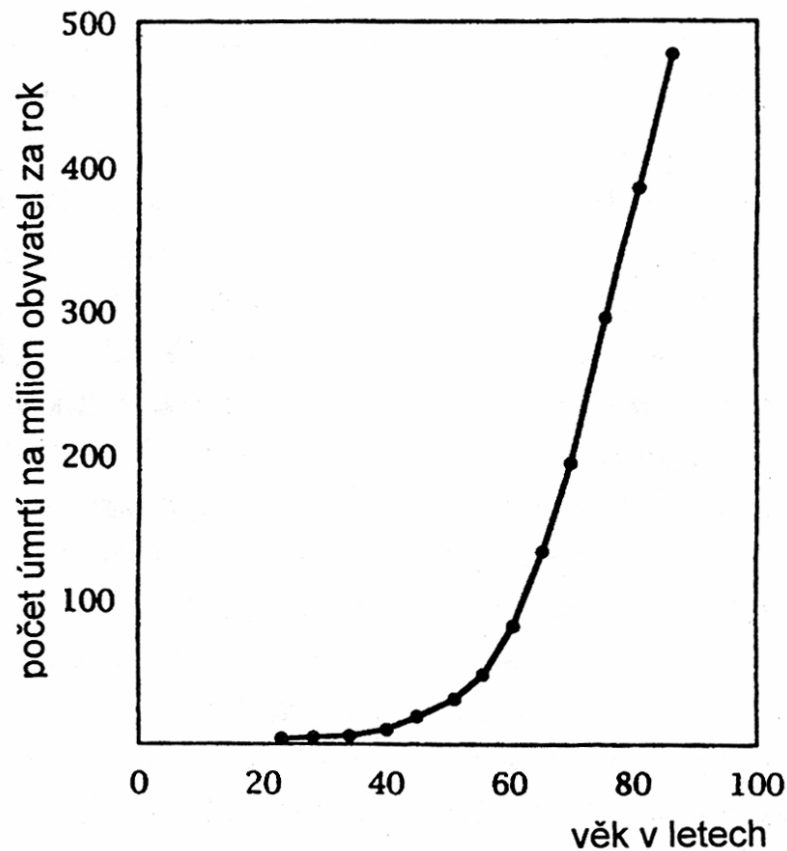
1. Nádory organoidní

dobře patrné rozdíly mezi stromatem a parenchymem

2. Nádory histoidní

při vysoké proliferační aktivitě transformovaných i netransformovaných buněk v nádoru a odchylkách v jejich diferenciaci může docházet k setření cytomorfológických rozdílů mezi parenchymem a stromatem

Kolik a které geny jsou změněny během kancerogeneze?









- Kdyby k vývoji nádoru stačila jediná změna, byla by pravděpodobnost onemocnění rakovinou stejná v každém věku člověka - křivka závislosti by byla lineární.
- Pravděpodobnost prudce roste s věkem. Křivky závislosti odpovídají složitým procesům, kdy jednotlivé na sobě nezávislé události nastávají postupně jedna za druhou.

Kolik a které geny jsou změněny během kancerogeneze?

- Nádor není monogenní onemocnění.
- Odhaduje se, že pro vývoj nádoru je nezbytných 4-7 událostí (zásahů).
- Konkrétních genů, které mohou být během kancerogeneze změněny, jsou desítky, stovky.
- Obecně existuje šest (sedm?) základních vlastností plně maligního nádoru:

Šest získaných vlastností maligního nádoru (Robert A. Weinberg 2000)

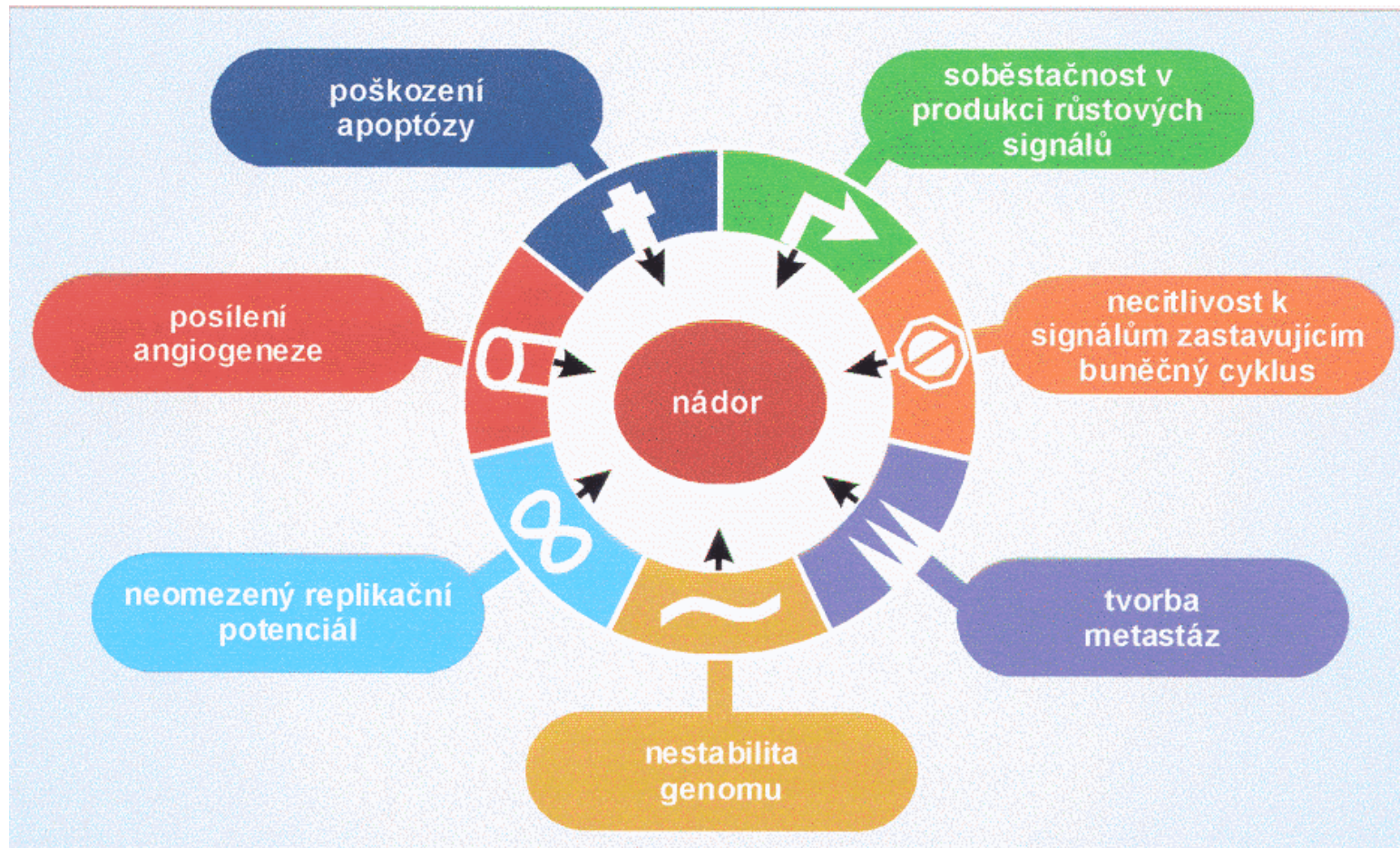
získaná schopnost	příklad
 Soběstačnost v produkci růstových signálů	aktivace <i>H-ras</i>
 Necitlivost k signálům zastavujícím b.c.	ztráta RB
 Poškození apoptózy	produkce IGF
 Neomezený replikační potenciál	aktivace telomerázy
 Posílení angiogeneze	produkce VEGF
 Tvorba metastáz	inaktivace E-kadherinu

Nestabilita genomu jako podmínka akumulace všech nutných změn.

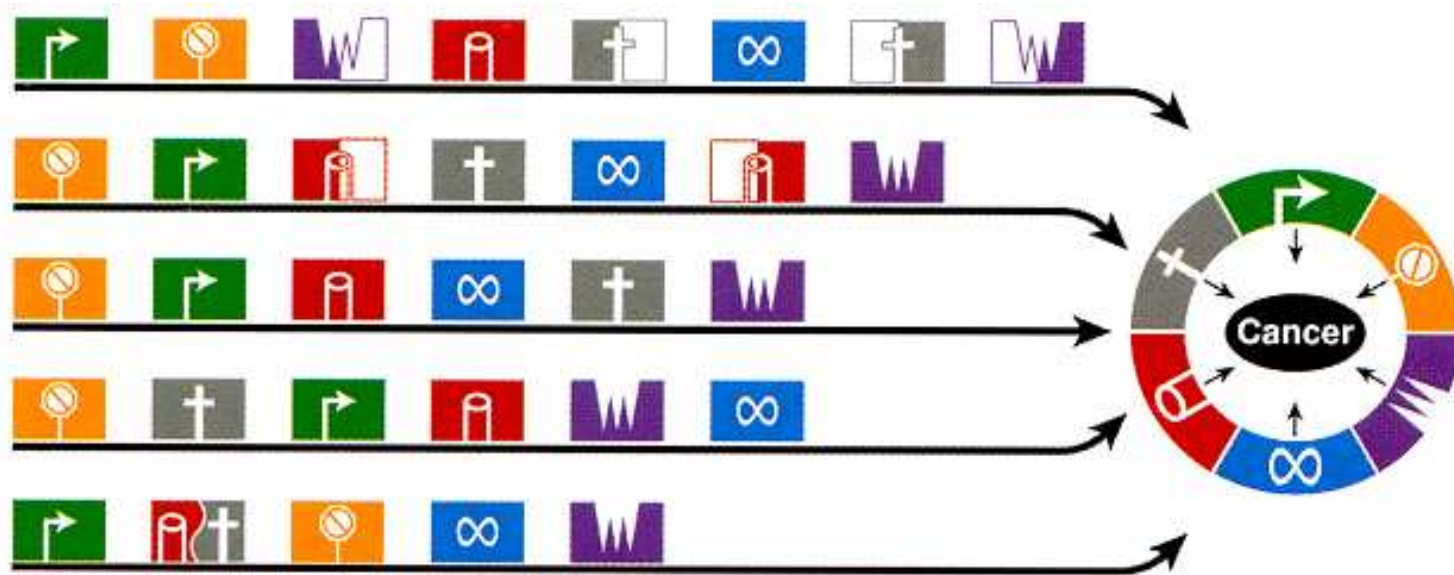
Tři vlastnosti vystihující maligní nádor (Richard Klausner 2002)

- Nemoc genomové nestability
(výjimky: leukémie, některé lymfomy, Ewingův sarkom)
- Nemoc změněného buněčného chování
- Nemoc změněného tkáňového chování

Kancerogeneze má obecné rysy



Kancerogeneze má individuální průběh



Individuální je - pořadí zásahů

- počet zásahů

- konkrétní zasažené geny

Onkogeny

Protoonkogen je strukturní gen eukaryotické buňky, který se svým translačním produktem podílí do značné míry na regulaci dělení buněk a jejich diferenciaci.

Onkogen je protoonkogen pozměněný nebo aktivovaný tak, že vyvolává neoplastickou transformaci buňky.

Aktivace protoonkogenu je přeměna protoonkogenu na onkogen.

Mutace protoonkogenů jsou:

- aktivující
- dominantní
- vyskytují se v somatických buňkách a jen výjimečně v zárodečných buňkách

Nádorové supresory

Produkty genů pro nádorové supresory (**antionkogeny**) v normálních buňkách nevyvolávají proliferaci, ale naopak ji potlačují a udržují buňky ve stadiu klidu (G_0). Jejich ztráta se projevuje neregulovanou proliferací.

Mutace nádorových supresorů jsou:

- inaktivující
- recesivní (spojeno s LOH) („recesivní onkogeny“)
- vyskytují se v somatických a také v zárodečných buňkách

Geny poškozené během kancerogeneze

1. Onkogeny
Nádorové supresory
2. Onkogeny
Nádorové supresory
Geny zajišťující genomovou stabilitu („stability genes“)

Sedm získaných vlastností maligního nádoru



soběstačnost v produkci růstových signálů



necitlivost k signálům zastavujícím buněčný cyklus



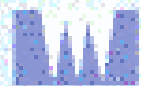
poškozená apoptóza



neomezený replikační potenciál



posílená angiogeneze



tvorba metastáz

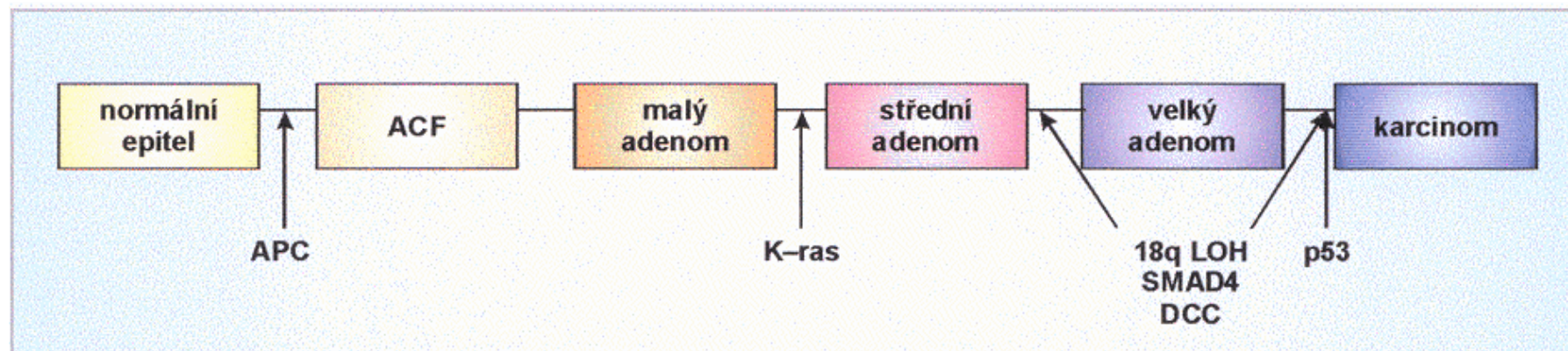


nestabilita genomu

⇒ **vícestupňová kancerogeneze** ⇒ **modely**

Modely vícestupňové kancerogeneze

- Vývoj kolorektálního karcinomu



- Transformace onkogenními DNA viry

Onkogenní (nádorové) viry

- **Retroviry** (RNA viry): obsahují ve svém genomu **onkogen** (akutně transformující viry) nebo aktivují **protoonkogen**, vedle kterého se integrovaly (pomalu transformující)
- **DNA nádorové viry** používají jinou strategii transformace: neobsahují onkogeny, ale kódují proteiny, které interagují s **nádorovými supresory** (**RB**, **p53**, **p300/CBP**) hostitelské buňky a tak hostitelskou buňku tlačí do S fáze:

SV40: velký T antigen různými doménami interaguje s p53, RB, p300/CBP

adenoviry: E1A interaguje s RB a p300/CBP; E1B interaguje s p53

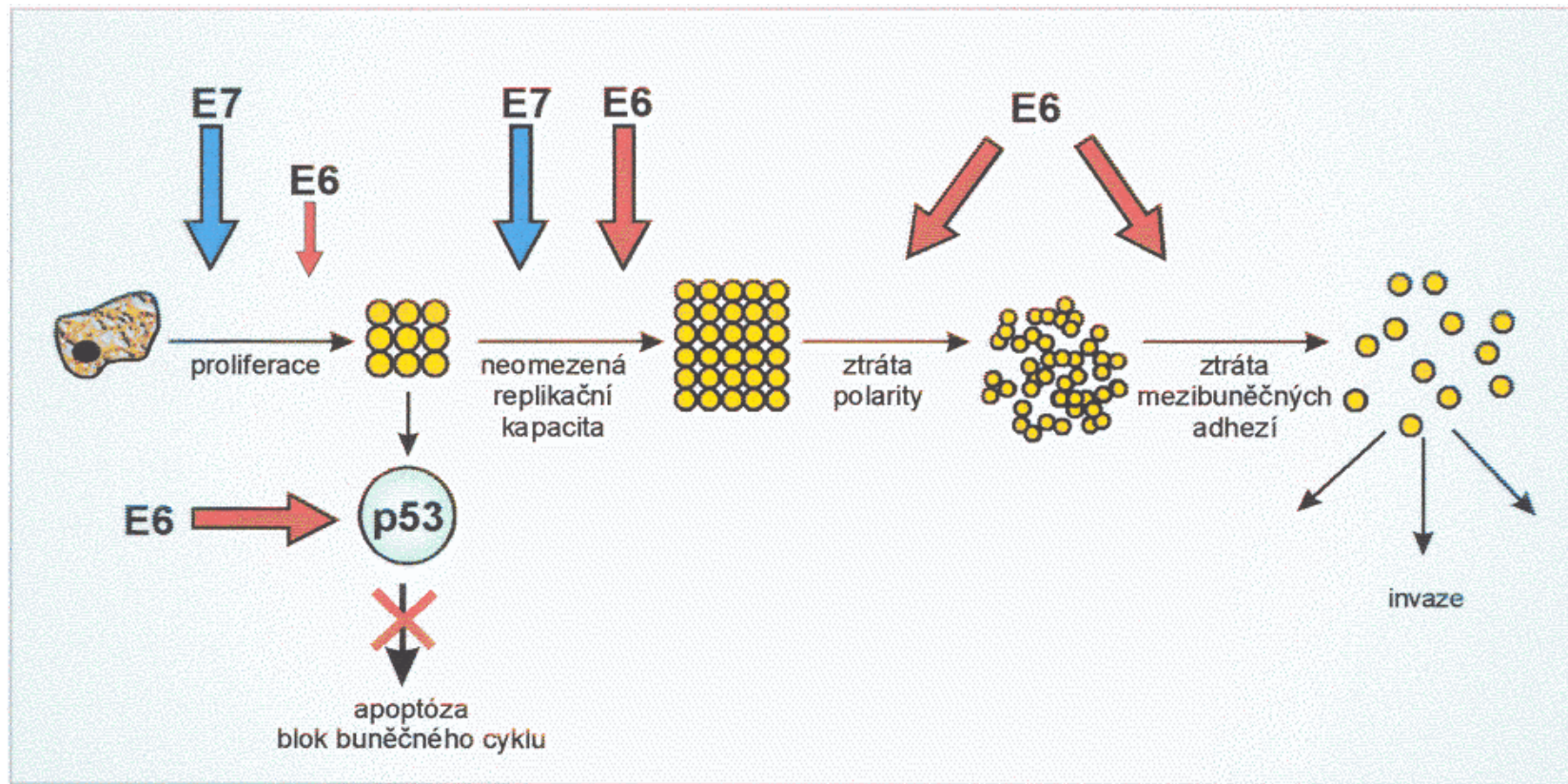
papilomaviry HPV-16, HPV-18: E6 interaguje s p53, p300/CBP; E7 interaguje s RB

Vsuvka: Některé způsoby inaktivace p53 virovými onkoproteiny

Inaktivace p53 patří ke klíčovým událostem při transformaci buňky DNA viry.

- **LT (SV40)** - váže se do DNA vazebné domény p53 a znemožňuje vazbu p53 na DNA
- **E1B (adenovirů)** - váže se do transkripční domény p53 a znemožňuje transkripci cílových genů
- **E4orf6 (adenovirů)** - způsobuje degradaci p53
- **HBV X (viru hepatitidy B)** - zadržuje p53 v cytoplasmě
- **E6 (papilomavirů)** - indukuje degradaci p53 užitím ubikvitin ligázy E6AP; E6 dále inhibuje i přímo transkripční schopnost p53

Podíl proteinů E6 a E7 papilomavirů na transformaci buňky



Virové onkoproteiny: stimulují proliferaci, inhibují apoptózu, zvyšují replikační potenciál, mění morfologii buněk, indukují maligní fenotyp

Vsuvka: Podíl proteinů E6 a E7 papilomavirů na transformaci buňky

E6 - inaktivuje p53 (blok G_1 , dep. apoptóza, gen. stabilita)

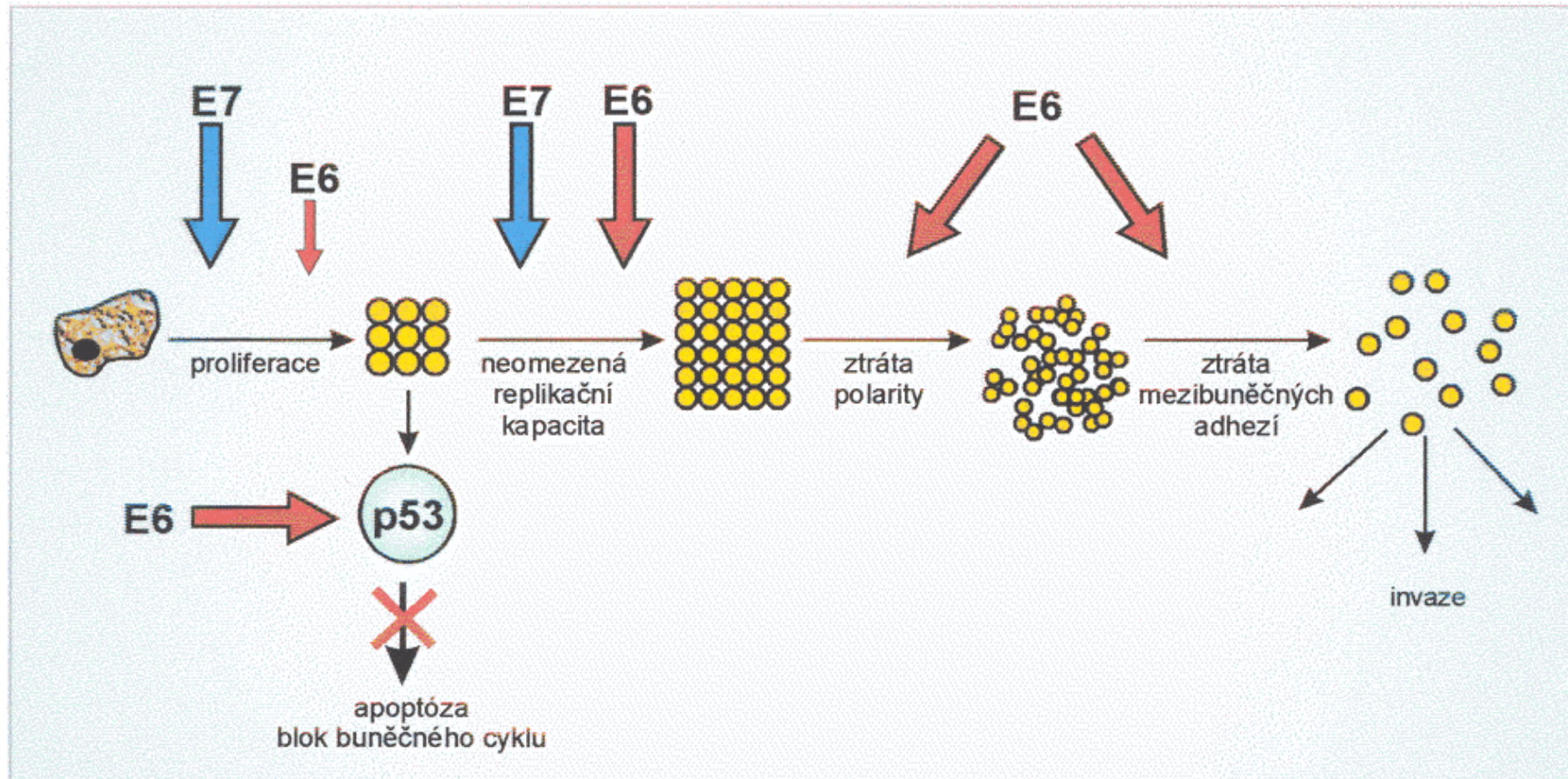
- interaguje s p300/CBP (narušení homeostáze)
- aktivuje expresi hTERT (aktivace telomerázy)
- inaktivuje p16^{ink} (narušení udržování klidového stádia)
- interaguje s Bak (inhibice apoptózy)
- interaguje s E6BP/ERC-55 (inhibice terminální diferenciace)
- indukuje degradaci hDlg (a další interakce s proteiny obsahujícími vazebný motiv PDZ) (změna morfologie, získání invazivního charakteru)

E7 - váže se na RB (uvolnění TF E2F)

- inaktivace p21^{Cip} a p27^{Kip} (rozpojení: diferenciace - proliferace)
- ruší inhibiční působení TGF- β na růst buněk
- způsobuje tvorbu násobných centrozómů



Podíl proteinů E6 a E7 papilomavirů na transformaci buňky



Klinický význam papilomavirů

- Popsáno více než 100 odlišných typů papilomavirů.
- Dělí se na „high-risk“ a „low-risk“ typy podle prognózy, s níž jsou spojeny. „Low-risk“ viry vyvolávají tvorbu benigních nádorů, „high-risk“ viry jsou spojeny s maligní progresí.
- Asi 30 typů HPV preferenčně infikuje anogenitální oblasti, infekce „high-risk“ viry je spojena téměř se všemi nádory děložního čípku.
- Asi 20% všech nádorů ústní dutiny, které nejsou spojeny s historií kouření a alkoholismu, je spojeno s infekcí HPV.

Onkogenní viry a lidské nádory

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)

Onkogenní viry a lidské nádory

RNA viry:

Obecně: nepotvrdila se myšlenka, že retroviry způsobují mnoho různých nádorů, ale jejich studium přineslo mnoho vzhledů do podstaty kancerogeneze

(1) Akutně transformující, (2) pomalu a transformující a

(3) **Lidský lymfotropní virus typu I (HTLV-1)** - T-leukémie (lymfom) dospělých (ATTL).

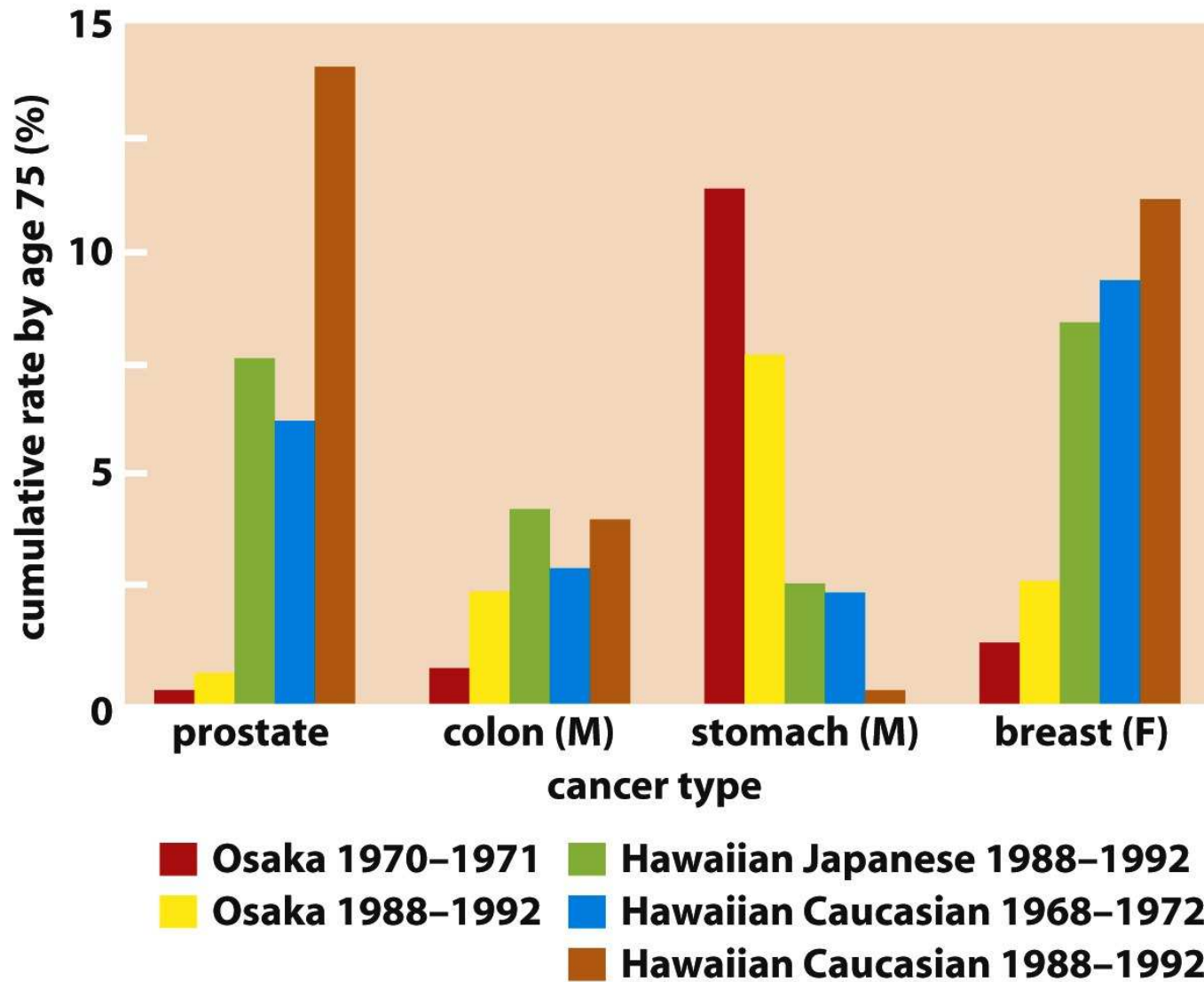
- Infikováno asi 1% obyvatel Kyushu (jižní ostrov Japonska) a méně někteří obyvatelé Karibiku.
- Infekce se přenáší z matky na dítě (asi mlékem) a představuje asi 3-4% celoživotní riziko vývoje T-buněčné leukémie.
- Určitě se neuplatňuje mechanismus inserční mutagenese (pomalu transf.r.). Virový gen **tax** je odpovědný za aktivaci transkripce provirových DNA sekvencí a pravděpodobně aktivuje také 2 buněčné geny: IL-2 (interleukin2) a GM-CSF („granulocyte macrophage colony-stimulating factor“). Pravděpodobně stimulace těmito faktory stojí na počátku neoplasie T buněk.

Úloha infekčních agens v kancerogenezi

Infekční agens souvisí asi s 1/5 všech úmrtí způsobených nádorem:

- 9% - světová mortalita na ca žaludku: spojeno s dlouhodobou infekcí **Helicobacter pylori**
- 6% - světová mortalita na hepatom: spojeno s chronickou hepatitidou B a C (**HBV, HCV**)
- 5% - světová mortalita na ca děložního čípku: spojeno s infekcí **HPV**

Incidence nádorů v různých populacích



Incidence nádorů

Různá v různých zemích, etnických skupinách:

- Některé nádory vznikají **náhodou**, objevují se ve srovnatelné frekvenci v různých populacích. Např. pediatrické nádory.
 - Roli může hrát **dědičnost**: různé populace nesou alely s dispozicí k nádorům s různou frekvencí.
 - **Prostředí**: voda, dieta, vzduch, reprodukční chování, kouření,..
 - Japonci přestěhovaní do Ameriky: Japonsko 6-8x vyšší incidence nádorů žaludku, příští generace již srovnatelná incidence.
 - Zhruba od 1950 pozorována až 20x vyšší pravděpodobnost výskytu rakoviny plic u těžkých kuřáků.
 - Adventisté sedmého dne: asi poloviční výskyt nádorů oproti ostatní americké populaci (← zákaz kouření, alkoholu, masa).
- ⇒ Pouze změnou životního stylu by bylo možné snížit výrazně incidenci nádorů.

Závěrečné poznámky „Úvodu“

- Geny nemají výlučnou funkci v jediném procesu v buňce (buněčný cyklus vs. apoptóza vs. genomová stabilita vs. ...).
- Jenom omezený počet signálních drah je inaktivován téměř univerzálně u většiny nádorů (RB, p53).
- Jednotlivé signální dráhy jsou většinou postižené v jediné své složce → tzv. **princip exkluzivity**.
- Existují „párové mutace“: mutace příčinná a mutace navozující toleranci k příčinné mutaci (zajišťující přežití).
(→ tzv. **princip „just right“**).
- Existují specifické nebo preferované kombinace změn v nádorových buňkách?

Program přednášky

- Úvod - základní pojmy, historický přehled, klasifikace nádorů, onkogenní viry (1)
- Některé signální dráhy (protoonkogeny): regulace buněčného cyklu, mitogenní a antimitogenní signalizace (2 I, 2 II)
- Genetické dispozice k nádorům (nádorové supresory): základní přehled syndromů spojených se zvýšeným výskytem nádorů (3, 4)
- Genetická nestabilita nádorů (5)

Program přednášky

- Apoptóza (6)
- Telomery a telomeráza (7)
- Angiogeneze (8)
- Tvorba metastáz (9)
- Epigenetika nádorů (10)

- („Novinky“: epiteliální-mesenchymální transice 11, úloha kmenových buněk v kancerogenezi 12,..)
- („Přesahy“)