



Nádorové onemocnění

Základní pojmy

Mutace

Nádorové onemocnění

Rakovina

nejrozšířenější epiteliální nádory – **karcinomy**

Hippocrates (400 př.n.l.) popsal rakovinu jako dlouhé výběžky (podobné račím nohám) vybíhajícím do zdravých tkání:

řecky : *karkinos* (rak), *onkos* (krab)

anglicky : *cancer*

nemecky: *der Krebs*

Onkologie - věda o nádorech

Onkologická onemocnění - nádorová onemocnění

Karcinogeneze (kancerogeneze, onkogeneze, tumorigeneze)
vznik a rozvoj nádorového onemocnění

Historie

popisné (epidemiologické) poznatky:

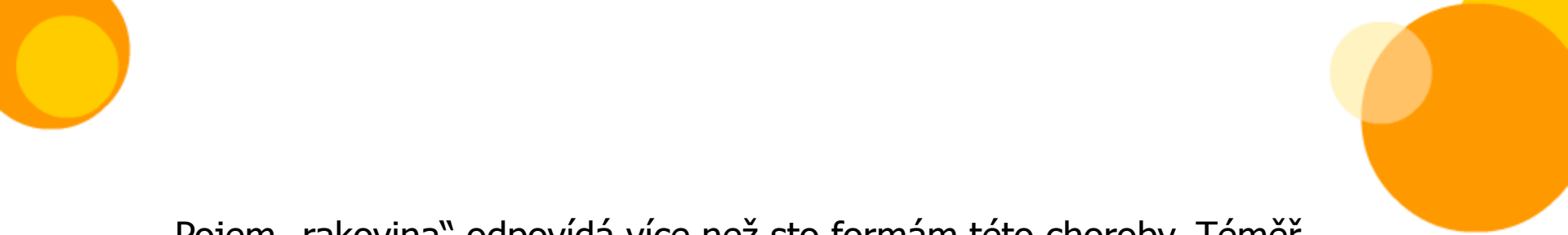
1775 - rakovina šourku u kominíků (souvislost s výskytem škodlivin v sazích)

1848 - zvýšený výskyt rakoviny prsu u jeptišek (souvislost s bezdětností a nekojením)

1902 - souvislost RTG paprsků a vzniku rakoviny poč. 20. stol. - rodinný výskyt nádorů

1910 - Rous - infekční přenos nádoru u kuřat

- studium nádorových virů (onkogen - fragment virových genů způsobujících nádor)
- protoonkogeny - souvislost s mitogenní signální dráhou, pomalu transformující viry
- nádorové supresory
- přenosy DNA (transformace, transfekce)
- 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



Pojem „rakovina“ odpovídá více než sto formám této choroby. Téměř všechny tkáně v těle mohou podlehnout malignitě.

Asi 30 trilionů buněk v **normálním zdravém organismu** žije ve složitém vzájemně propojeném svazku, regulujíc vzájemně svou proliferaci. Vzájemná spolupráce buněk zajišťuje, že **každá tkáň těla udržuje svou velikost a architekturu.**

Nádorové buňky naopak ničí toto schema, stávají se hluchými k obvyklé kontrole proliferace a vytvářejí si **svůj vlastní vnitřní program reprodukce.**

Kromě toho mají ještě nebezpečnější vlastnost - **schopnost migrovat** a tvořit masu ve vzdálených částech těla. Nádory z takovýchto buněk se stávají čím dál agresivnější a stávají se letální, jestliže rozrušují tkáně a orgány důležité pro přežití organismu jako celku.

Nádor

je nová a abnormální tkáň v mnohobuněčném organizmu, která v tomto organismu nemá fyziologickou funkci a roste neregulovaným způsobem.

Je to geneticky podmíněný abnormální přírůstek buněčné tkáňové hmoty klonálního charakteru.

Jeho růst není v koordinaci s růstem okolních tkání a rovnovážným stavem organismu.

Nádory vznikají z naší vlastní tkáně.

Teorie „nádorové kmenové buňky“ – nádor je obecně odvozen od jedné buňky která se dramaticky mění po sérii genetických změn.

Zdravá buňka má definovaný tvar a strukturu a prosperuje mezi uspořádanými okolními buňkami.

Odovídá na podněty ze svého okolí a dává vznik dceřinným buňkám jen tehdy, jestliže rovnováha stimulačních a inhibičních signálů z okolí upřednostní buněčné dělení.

Avšak v procesu replikace nebo dělení existuje stálá hrozba vzniku mutací, náhodných změn, které mohou tento regulační cyklus porušovat.

Jedna mutace může způsobit, že buňka, která vypadá normálně a je méně citlivá na vnější signály se může příležitostně začít nekontrolovaně dělit.

Akumulace genetických změn v důsledku genetické nestability může způsobit, že se dceřinná buňka stane zcela hluchou k externím signálům a vykazuje znaky malignity.

Buňka ztrácí přesný tvar a hranice, nereaguje na růstově inhibiční signály a získává schopnost nekontrolovaně se dělit.

Vznikající masa stlačuje a poškozuje zdravou tkáň ve svém sousedství a může dále překonávat bariéry jednotlivých orgánů a metastázovat, což znamená, že kolonizuje vzdálené tkáně.

Mutace - dědičná genetická změna v buňce (vzniká bodovou mutací, delecí nebo inzercí jednoho či více nukleotidů, amplifikací segmentů DNA, inverzí nebo získáním či ztrátou chromozómu, translokací). Základem je změna genetického materiálu v buňce nikoli změna v jeho expresi.

Epigenetická změna - je změna v genové expresi beze změny v sekvenci DNA nebo genetickém obsahu buňky – může být dědičná.

Iniciovaná buňka, transformovaná buňka - buňka se změněnou genetickou informací. Vzniká spontánně nebo je indukována viry, chem. látkami nebo fyzikálními faktory. Má potenciální schopnost stát se nádorovou nebo maligní.

Benigní nádor - je lokální rozrůstání iniciované buňky, zůstává na místě vzniku, nemigruje.

Maligní nádor - nádor se schopností vrůstat do tkání a rozšiřovat se do vzdálených míst krevním nebo lymfatickým řečištěm, vytváří metastázy.

Primární a sekundární nádory

Maligní transformace - přeměna buňky s normálními růstovými vlastnostmi na buňku maligní ztrácející schopnost adekvátně reagovat a odpovídat na růstové signály.

Ztráta kontaktní inhibice růstu.

Porušení negativní zpětné vazby. Snížená schopnost komunikace pomocí mezibuněčných spojení - *gap junctions*.

Termín **Neoplasie (nový růst)** se používá pro celý rozsah benigního i maligního chování buněk.

Základní klasifikace nádorů

Výchozí tkáň		Zralé benigní buňky (nezhoubné)	Nezralé maligní buňky (zhoubné)
epitel	povrchový	papilom	karcinom
	žlázový	adenom	adenokarcinom
Pojivo	kolagenní	fibrom	fibrosarkom
	tukové	lipom	liposarkom
	chrupavka	chondrom	chondrosarkom
	kost	osteom	osteosarkom
	Sval	myom	myosarkom
	Cévní	angiom	angiosarkom
Krvetvorná lymfatická		mononukleóza?	leukemie lymfom, myelom
Nervová	centrální	gliom	glioblastom
	periferní	ganglioneurom pangangliom	neuroblastom maligní paragangliom
Zárodečná		gonadoblastom	seminom dysgerminom
		teratom zralý	teratom nezralý

Vznik nádoru je **vícestepňovitý proces**, který je výsledkem složité interakce **genetických** a **negeneticky působících faktorů**.

- 1) **fáze iniciace** - indukce mutací
- 2) **fáze podpůrná (promoční)** - preferovaný klonální růst iniciovaných preneoplastických buněk — **karcinom *in situ***
- 3) **fáze konverze či transformace** – změna fenotypu, vznik maligního klonu
- 4) **fáze progresu** – lokální rozrůstání nádoru, neschopnost odpovídat na regulační mechanismy, vzrůstající rychlost proliferace
- 5) **invazivita** – šíření nádoru mimo prvotní ložisko – **vznik metastáz**

Onemocnění vzniká v zásadě porušením homeostázy na úrovni buněk a buněčných populací

- **Iniciace** (initiation)

změna **genetického materiálu buňky** – **mutace** ireverzibilně mění normální buňku v preneoplastickou.

- **Promoční stádium** (promotion)

indukce proliferace (klonální množení) iniciované buňky po působení tzv. **nádorově promočních podnětů** (regenerace po odstranění části buněčné populace nebo po smrti buněk, růstové signály, působení vnějších signálů - chem. a fyz. faktorů)
zpočátku reverzibilní, později ireverzibilní – přechod do **maligní transformace**.

- **Progrese** (progression)

akumulace dalších mutací + působení promočních faktorů, ztráta regulačních mechanismů

- **Invazivita**

vznik metastáz.

Základní znaky nádorové populace

- ztráta kontaktní inhibice a kontroly růstu
- ztráta schopnosti terminální diferenciac
- ztráta schopnosti apoptózy
- snížení nebo inhibice mezibuněčné komunikace

Ztráta kontaktní inhibice v buněčné kultuře

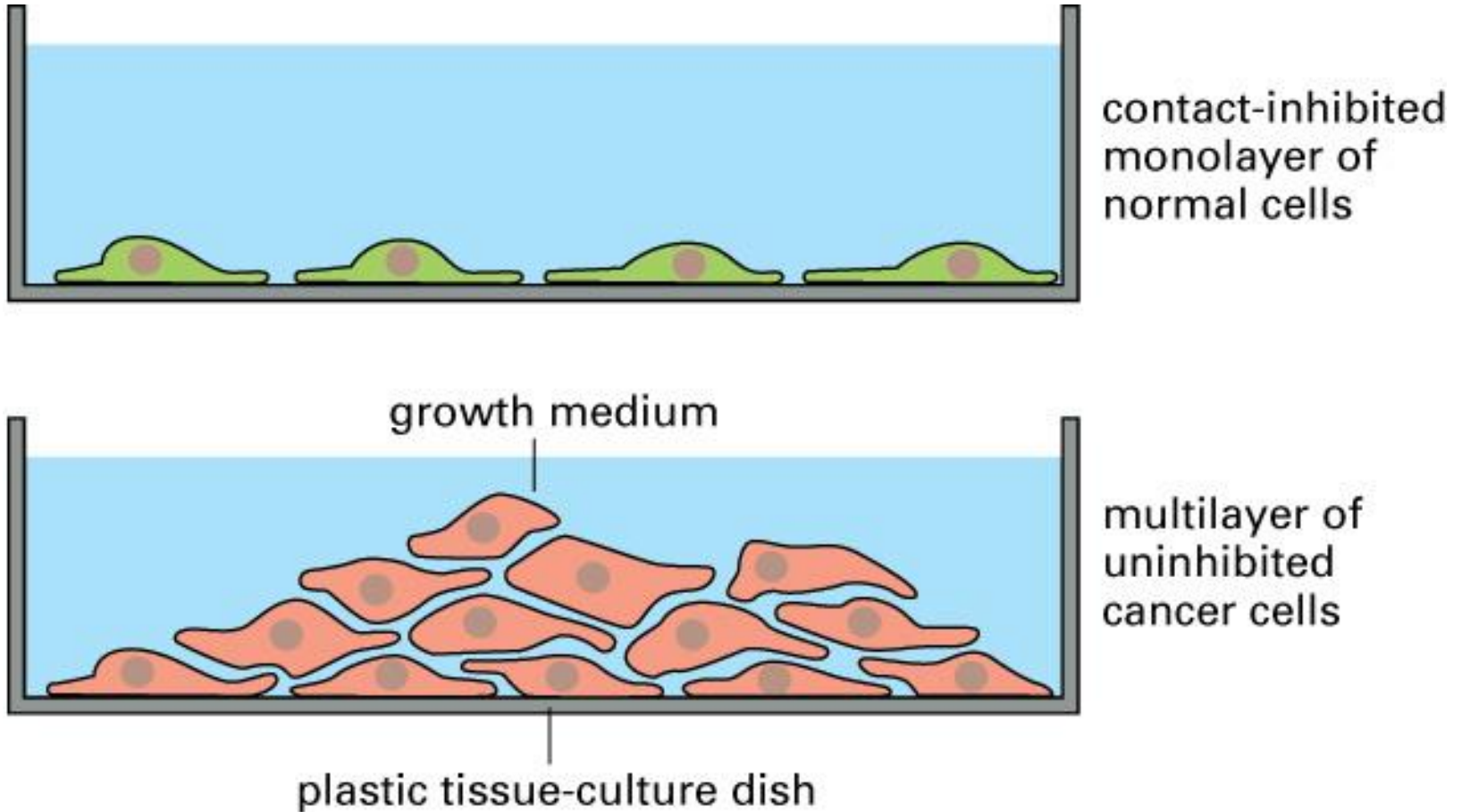
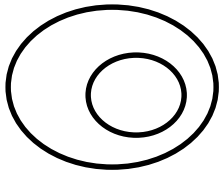


Figure 23–25. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Mnohostupňový proces karcinogeneze

Iniciace

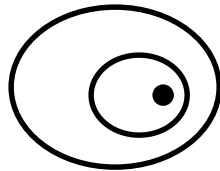
Mutageny
Radiace
Virusy...
Genotoxicita



Normální
buňka

Promoce

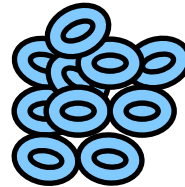
Negenotoxické
karcinogény



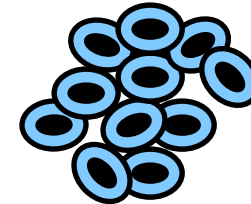
Iniciovaná
buňka

Progrese

Genotoxické
+ negenotoxické
faktory



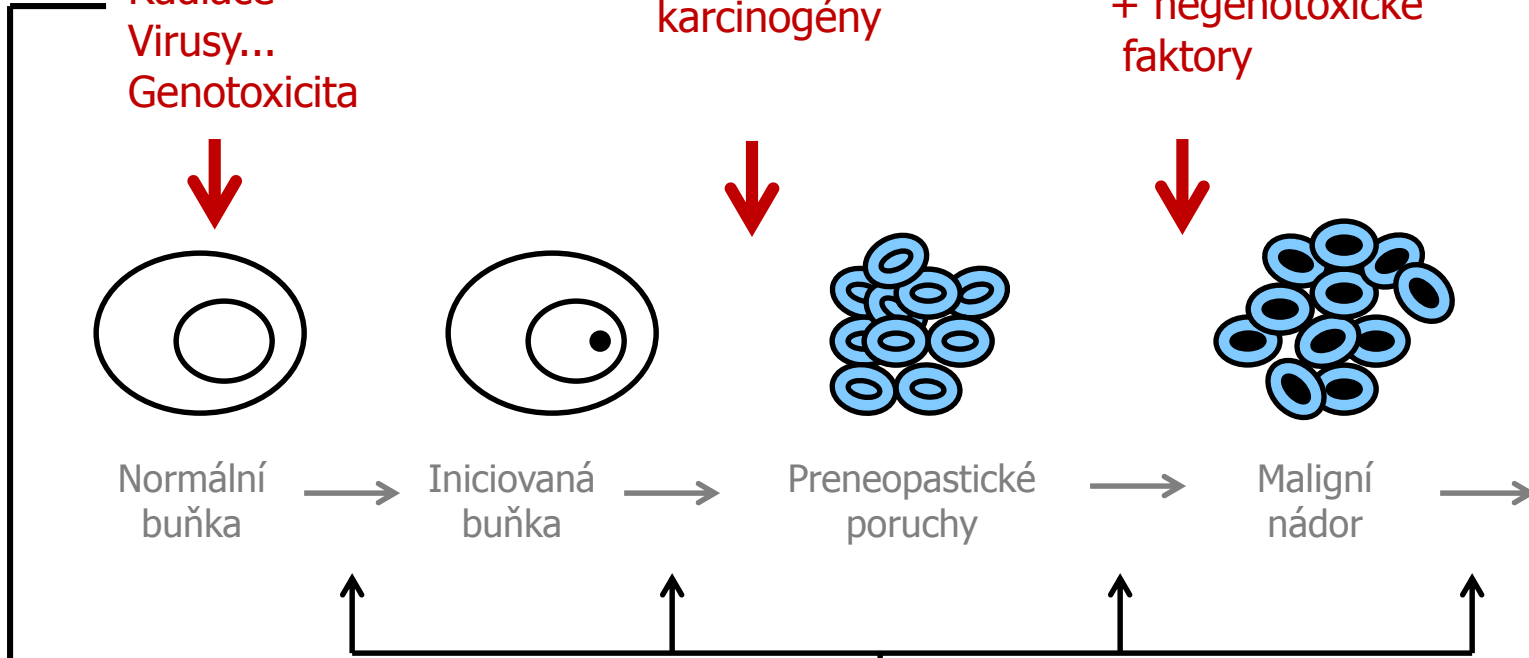
Přeneoplastické
poruchy



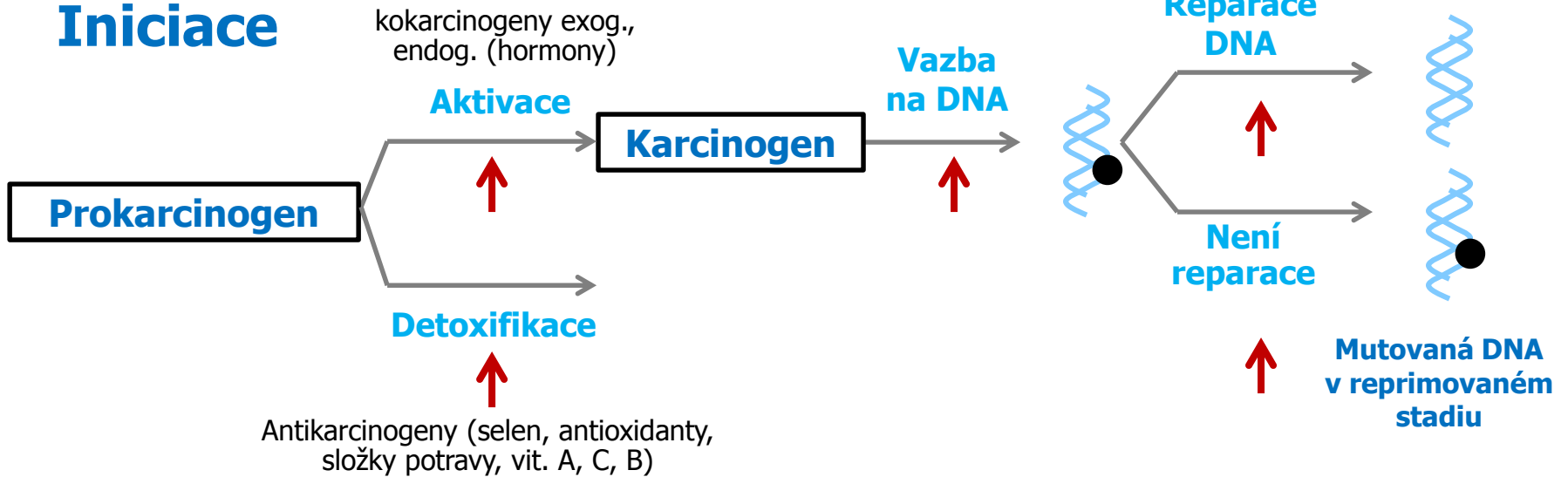
Maligní
nádor

**Invaze
Metastázy**

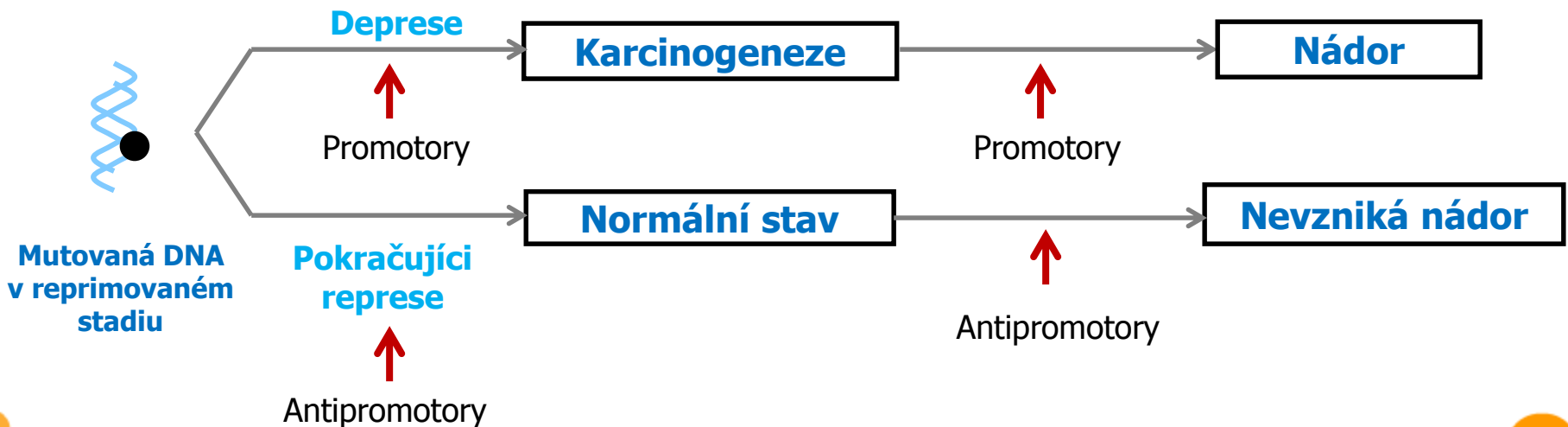
Aktivace proto-onkogenů
Inaktivace nádorově supresor. genů
Inaktivace antimetastat. genů



Iniciace



Promoce



Homeostáza ve tkáních

je udržována integrovaným systémem komunikačních mechanismů (mimo-, vnitro- a mezibuněčných) a reguluje chování buněk především s ohledem na schopnost proliferace, diferenciace, adaptivní odpovědi a apoptózy.

Iniciované preneoplastické buňky jsou udržovány v latentním stavu v důsledku působení těchto "přirozených" regulačních mechanismů.

V podpůrné (promoční) fázi rozvoje nádorů se uplatňují látky působící negenotoxickými (nebo epigenetickými) mechanismy, tzv. nádorové promotory, které způsobují změny chování buněk v důsledku deregulace zmíněných procesů.

Zásahy, které vedou ke změnám v expresi genů a k poruchám homeostázy se odehrávají v buňce na různých úrovních a různými mechanismy.

Způsoby promoce iniciované buňky

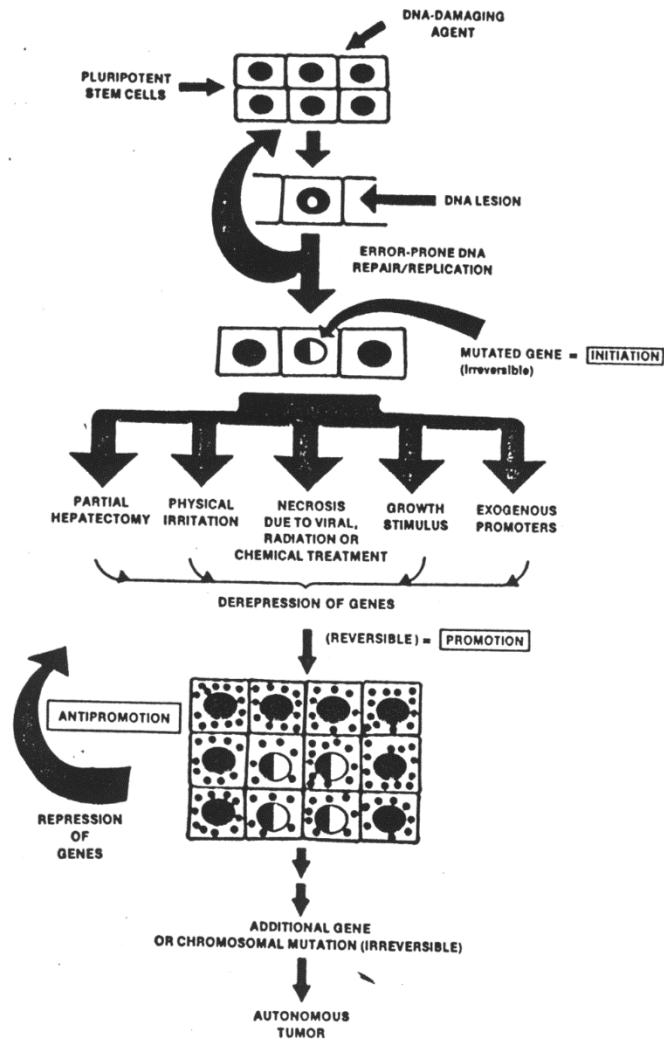


FIG. 1. Multiple modes by which initiated cells can be promoted. The concept of promotion is shown as a process that allows cells with a specific carcinogen-induced mutation to multiply, enabling them either to reach a "critical mass" and become resistant to the antiproliferative influences of normal cells or to increase the chance that one of these mutated cells would accumulate a second mutation. [From Ref. (93) with permission from Churchill Livingstone Medical Journal.]

Biologické charakteristiky stádií karcinogeneze

Iniciace

- Genotoxický děj (mutace)
- Změna v genetickém materiálu (nukleotidy, chromozómy)
- Ireverzibilní změna
- Vznik preneoplastické buňky
- Vykazuje dávkově závislé vlastnosti
- Možný "spontánní vznik iniciované buňky"
- Je nutné buněčné dělení pro "fixaci" mutace
- Při dávkové závislosti neexistuje práh

Promoce

- Negenotoxické (epigenetické) děje
- Změny v genové expresi
- Reverzibilní změny
- Selektivní klonální expanze preneoplastické bun. populace
- Závislá na konstatní expozici látkou s promočními účinky
- Vykazuje dávkově závislé vlastnosti
- Je zjevný práh

Progrese

- Genotoxické i negenotoxické děje
- Změny karyotypu a genetická nestabilita
- Ireverzibilní změna
- Tvorba neoplastických útvarů (adenomy a karcinomy)
- Změny podporující přechod preneoplastických buněk v neoplastické
- Autonomie nádorové populace
- Vznik metastáz

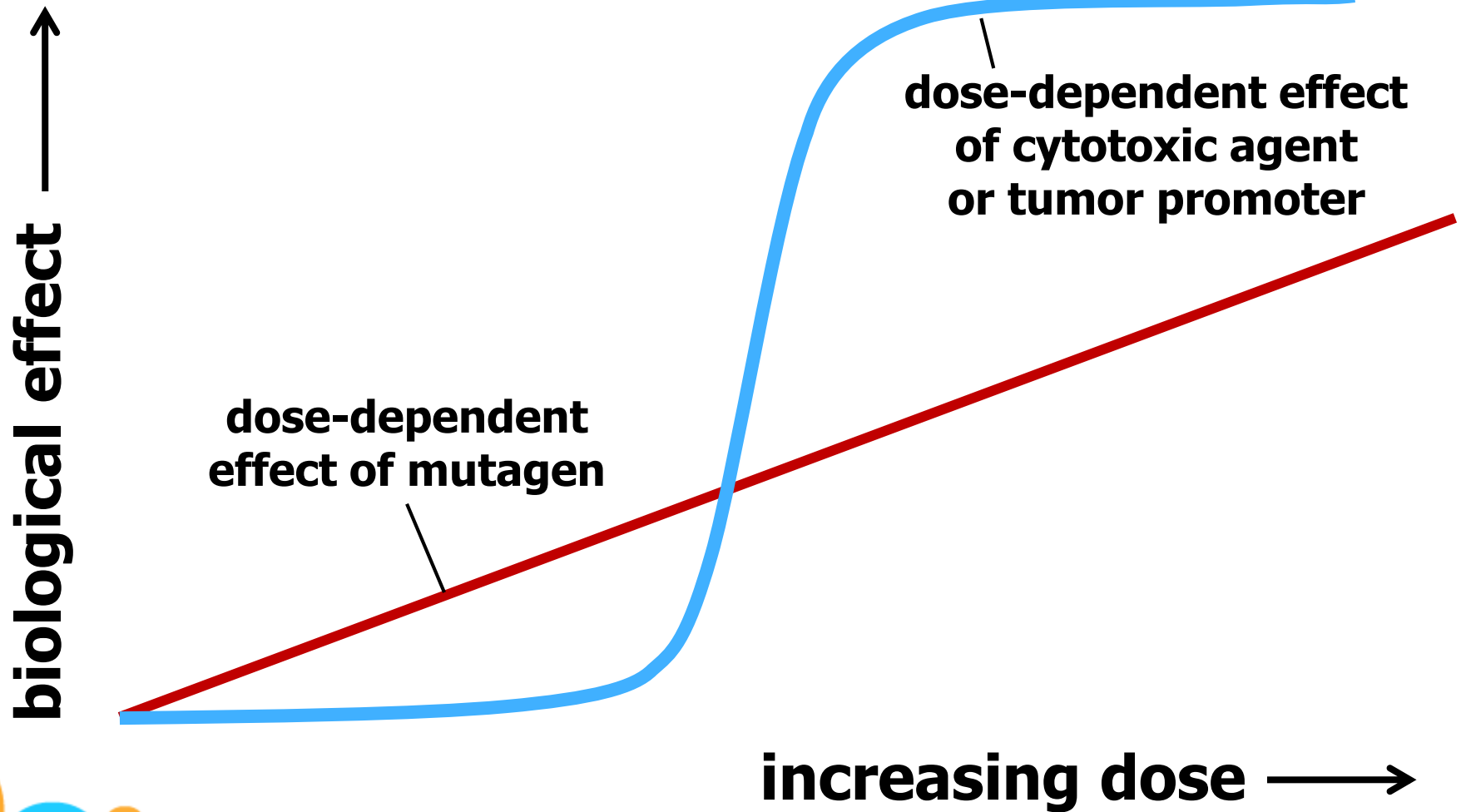


Figure 11.42 *Weinberg RA, The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Nádorová tkáň získává

- **nestabilní genom**
- **necitlivost k okolním signálům** (zastavujícím buněčný cyklus a inhibujícím růst)
- **soběstačnost v produkci růstových signálů**
- **neomezenou schopnost růstu**
- **neschopnost reagovat na podněty indukující apoptózu** (deregulace apoptických drah)
- **schopnost vaskularizace** (neoangiogeneze)
- **schopnost prorůstat do okolních tkání a kolonizovat vzdálené tkáně** (metastázování)



Mutate

Mutace

je definována jako kvalitativní nebo kvantitativní změna v genetické informaci obsažené v DNA. Je považována za ireverzibilní změnu a může být indukována viry, fyzikálními nebo chemickými faktory.

Mutace mohou vznikat na úrovni genů nebo chromozómů. Jeden specifický gen může být změněn přidáním, ztrátou nebo záměnou jedné baze.

Protein kódovaný tímto genem pak může být změněn s ohledem na strukturu a funkci.

Jestliže mutace zahrnuje změnu v počtu chromozómů v buňce (nondisjunkce, polyploidizace), tak potom, i když jednotlivé geny jsou normální, jejich počet může narušit jejich funkci.

Změny v uspořádání chromozómů způsobené delecí nebo translokací části jiných chromozómů také mohou způsobit jak mutace genů tak abnormální expresi genů umístěných na takovémto chromozómu.

Mutageny, karcinogeny...

Indukované mutageny - různé chemické látky i fyzikální faktory (např. ionizující či UV záření), ale i viry, které indukují v buňkách mutace.

Dědičné mutace (Xeroderma pigmentosum, Wilmsův tumor, albinismus Lynchův syndrom atd.) mohou předurčovat jedince k určitým typům nádorů.

Mutagenita se nerovná karcinogenitě!

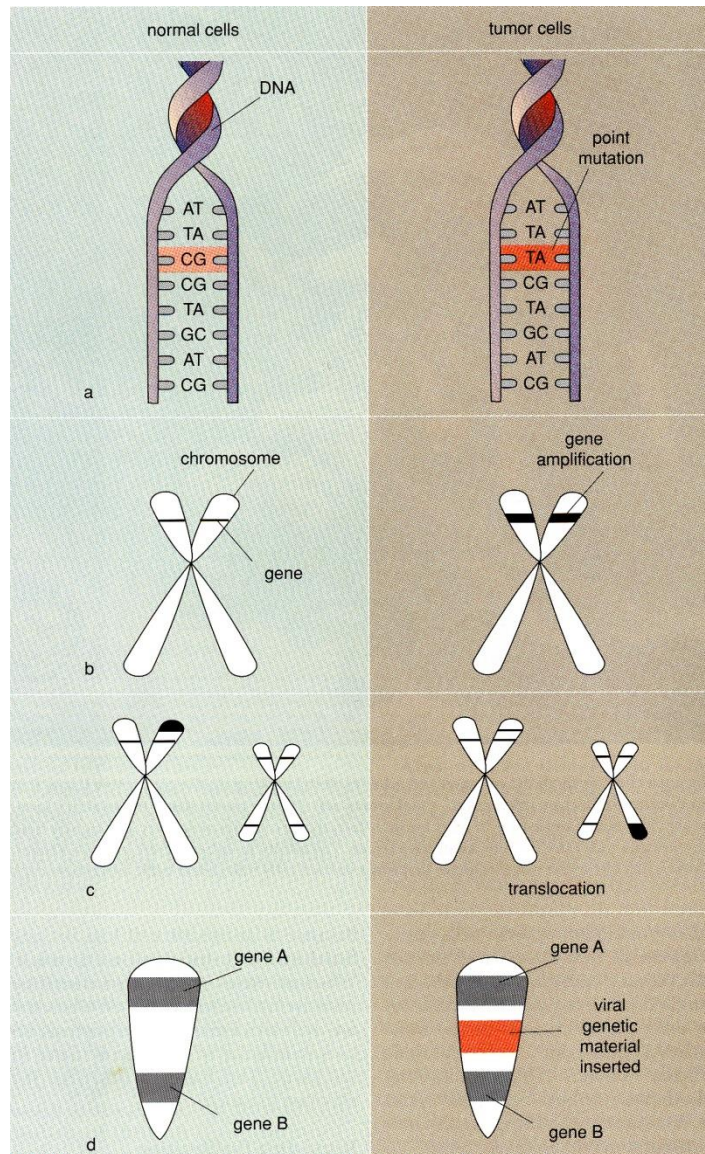
Mutageny mají vysokou pravděpodobnost být i karcinogeny, ale řada nekarcinogenních látek jsou rovněž mutageny. Naopak také mnoho nemutagenních chemikálií může být karcinogenní.

Chemikálie jsou označovány jako karcinogeny, jestliže v exponované lidské populaci je vyšší frekvence nádorů než v neexponované populaci nebo jestliže se objevují nádory u zvířat, kterým byla chemikálie podávána.

Kokarcinogeny - zvyšují hladiny buněčných enzymů, které aktivují karcinogeny.

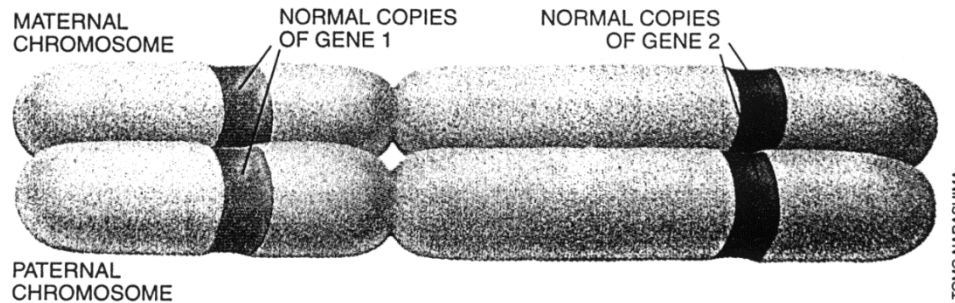
Antikarcinogeny - chemicky se váží na karcinogen, odbourávají jej, tlumí enzymy aktivující karcinogeny nebo obsadí cílové místo (kompetitivní inhibice).

Genetické změny a disorganizace chromozómů v nádorových buňkách

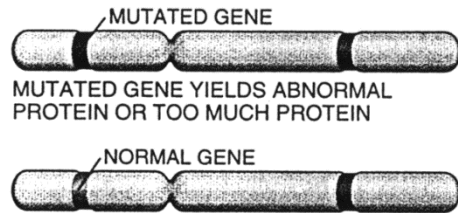


*Van Noorden C.J.F. et al,
American Scientist 86,1998:130-141*

Geny se dědí v odpovídajících párech

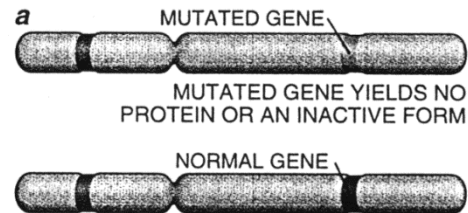


ACTIVATING MUTATIONS

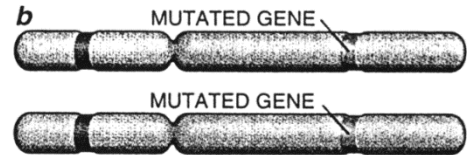


Cell proliferates excessively

INACTIVATING MUTATIONS



Cell continues to function properly



Cell proliferates excessively

JARED SCHNEIDMAN DESIGN

GENES ARE INHERITED IN MATCHING PAIRS—one from the mother and one from the father (*top*). Sometimes mutation of a single copy pushes a cell toward cancer (*left*)—such as when it leads to production of a protein that activates excessive cell division. (Oncogenic mutations fall into that category.) Other times both copies must be altered—such as when a gene coding for a protein that stalls cell division is inactivated (*right*). If only one copy of such a gene is affected (*a*), the other copy can still generate the needed protein. But if both copies are hobbled (*b*), an important brake on tumor development is lost.

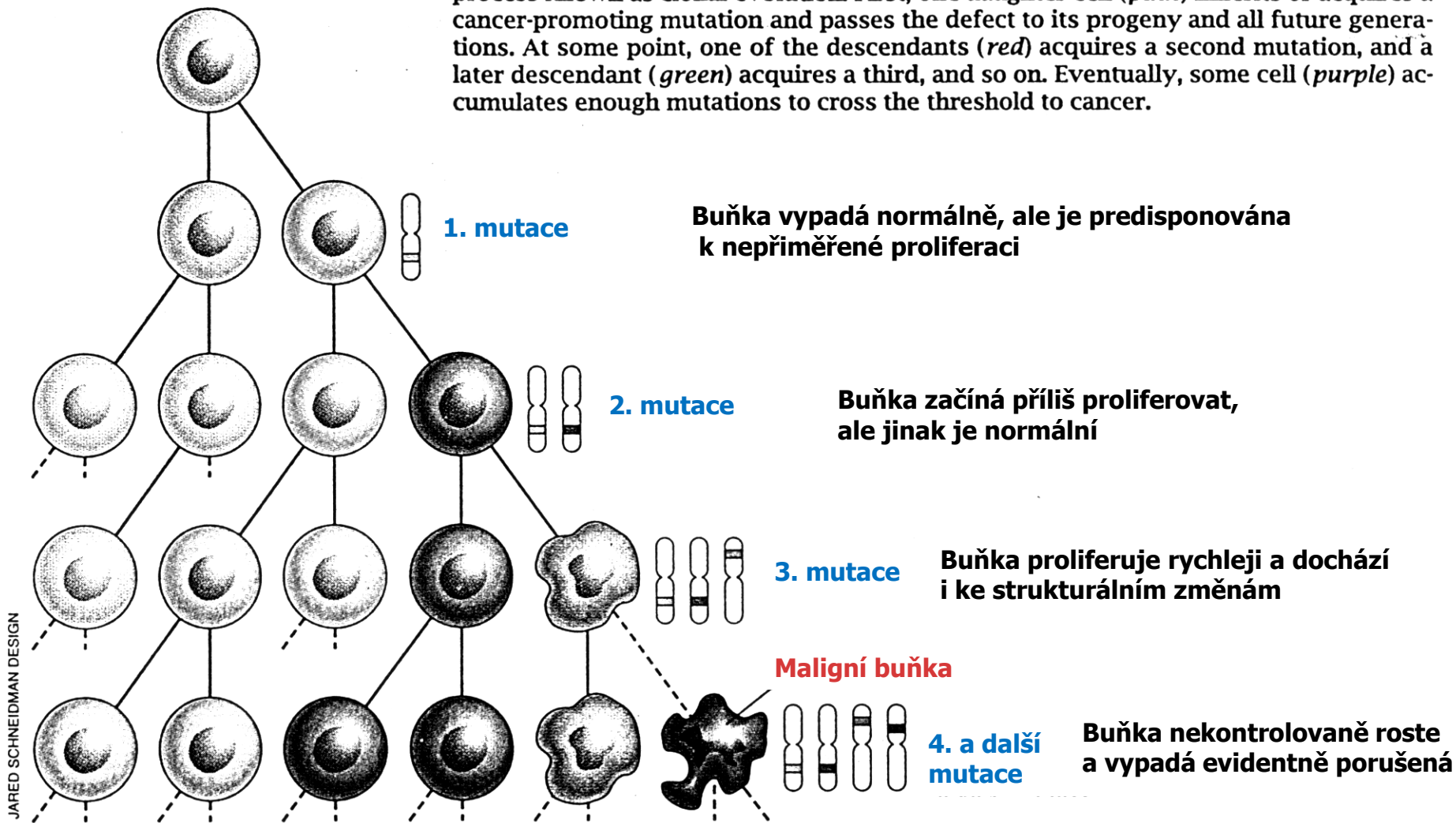
Mateřský a otcovský chromozóm nesou každý jednu normální kopii příslušného genu

- **Aktivační mutace** – mutovaný gen produkuje protein aktivující bun. proliferaci, stačí mutace v jedné kopii genu, dominantní
- **Inaktivační mutace** – mutovaný gen neprodukuje protein zastavující bun. proliferaci nebo produkuje jeho inaktivní formu. K mutaci musí dojít u obou kopií genu, recesivní

Vznik nádorové buňky – klonální evoluce

Normální buňka

EMERGENCE OF A CANCER CELL from a normal one (*tan*) is thought to occur through a process known as clonal evolution. First, one daughter cell (*pink*) inherits or acquires a cancer-promoting mutation and passes the defect to its progeny and all future generations. At some point, one of the descendants (*red*) acquires a second mutation, and a later descendant (*green*) acquires a third, and so on. Eventually, some cell (*purple*) accumulates enough mutations to cross the threshold to cancer.



Význam mutací u nádorových onemocnění

Normální frekvence mutací 10^{-7} - 10^{-8} /nukleotid/bun. dělení. Zvýšená frekvence mutací podporuje karcinogenezi. Mutace jsou nejen znakem nádorů, ale jsou také zásadní pro jejich vývoj.

Genom nádorových buněk je nestabilní a tato nestabilita vyúsťuje v kaskádu mutací, z nichž některé umožňují nádorovým buňkám obejít regulační procesy, které kontrolují lokalizaci buňky, její dělení, adaptaci a smrt.

Genetická nestabilita je manifestována velkou **heterogenitou buněk** v každém nádoru a přispívá k jejich progresi.

Dva hlavní mechanismy vzniku mutací v nádorových buňkách:

- **deficit v reparaci DNA** (kopírování nereparovaných poškození v DNA nebo chyby během syntézy DNA)
- **deficit v rozdělování chromozómů** při buněčném dělení

Zdrojem nepřesností při replikaci DNA jsou chyby vzniklé při DNA polymeraci (tj. kvalita DNA polymeráz a souvisejících „proofreadingových“ procesů) a chyby v systémech reparace DNA. U nádorů nebyly prokázány defekty v DNA polymerázách, ale byly prokázány defekty ve dvou hlavních systémech reparace DNA.

- **Nukleotidová excizní oprava** („*nucleotide-excision repair*“ - **NER**) - s ní spojená nestabilita („*NER-associated instability*“ - **NIN**)

- **Oprava špatného párování** („*mismatch repair*“ - **MMR**) - s ní spojená mikrosatelitová nestabilita (**MIN**)

Oprava špatného párování bází

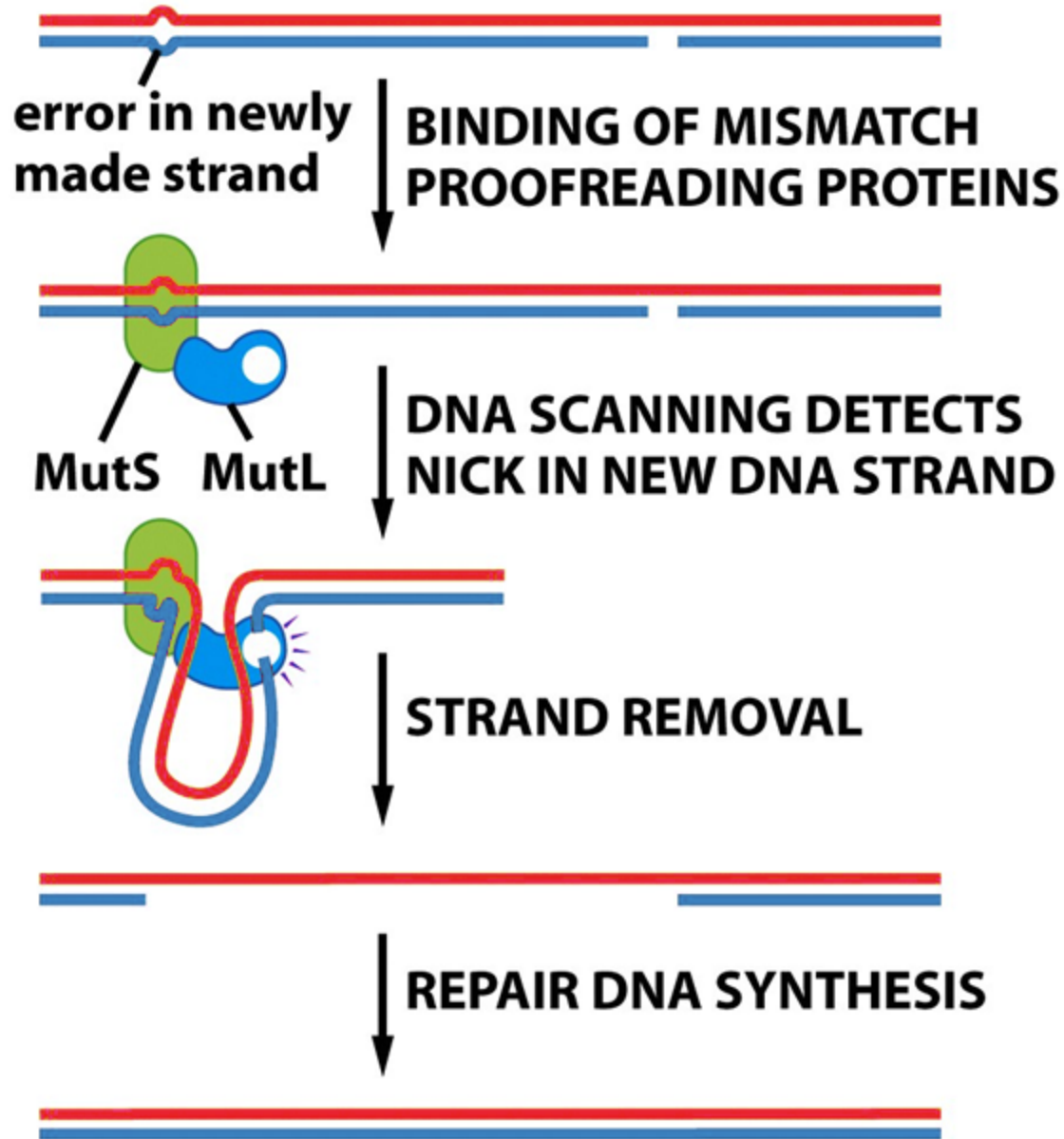


Figure 12.8c Weinberg RA, *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Lidské dědičné syndromy způsobené dědičnými defekty v reparaci DNA

Name of syndrome	Name of gene	Cancer phenotype	Enzyme or process affected
HNPCC	(4–5 genes) ^a	colonic polyposis	mismatch repair enzymes
XP ^b	(8 genes) ^b	UV-induced skin cancers	nucleotide-excision repair
AT ^c	<i>ATM</i>	leukemia, lymphoma	response to dsDNA breaks
AT-like disorder ^c	<i>MRE11</i>	not yet determined	dsDNA repair by NHEJ
Familial breast, ovarian cancer	<i>BRCA1, BRCA2</i> ^d	breast and ovarian carcinomas	homology-directed repair of dsDNA breaks
Werner	<i>WRN</i>	several cancers	exonuclease and DNA helicase ^e , replication
Bloom	<i>BLM</i>	solid tumors	DNA helicase, replication
Fanconi anemia	(9 genes) ^f	AML, HNSCC	repair of DNA cross-links and ds breaks
Nijmegen break ^g	<i>NBS</i>	mostly lymphomas	processing of dsDNA breaks, NHEJ
Li–Fraumeni	<i>TP53</i>	multiple cancers	DNA damage alarm protein
Li–Fraumeni	<i>CHK2</i>	colon, breast	kinase signaling DNA damage

^aFive distinct MMR genes are transmitted as mutant alleles in the human germ line. Two MMR genes—*MSH2* and *MLH1*—are commonly involved in HNPCC; two other MMR genes—*MSH6* and *PMS2*—are involved in a small number of cases; a fifth gene, *PMS1*, may also be involved in a small number of cases.

^bXeroderma pigmentosum, at least eight distinct genes, seven of which are involved in NER. The seven genes are named *XPA* through *XPG*. An eighth gene, *XPV*, encodes DNA polymerase η .

^cAtaxia telangiectasia, small number of cases.

^dMutant germ-line alleles of *BRCA1* and *BRCA2* together may account for 10–20% of identifiable human familial breast cancers.

^eAn exonuclease digests DNA or RNA from one end inward; a DNA helicase unwinds double-stranded DNA molecules.

^fNine genes have been cloned and at least eleven complementation groups have been demonstrated. Complementation group J encodes the BACH1 protein, the partner of *BRCA1*.

^gThe NBS1 protein (termed nibrin) forms a physical complex with the Rad50 and Mre11 proteins, all of which are involved in repair of dsDNA breaks. The phenotypes of patients with Nijmegen break syndrome are similar but not identical to those suffering from AT.

Adapted in part from B. Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed. New York: Garland Science, 2002; and from E.R. Fearon, *Science* 278:1043–1050, 1997.

Table 12.1 Weinberg RA, *he Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

V buněčné DNA dochází ke stálému poškozování (environmentálními i endogenními zdroji) a k resyntéze. Mnoho z takto působících látek jsou **mutageny** a řada z nich i **karcinogeny**.

Poškození DNA chemikáliemi spadá do dvou kategorií:

- rozsáhlé adukty reparované excisí (vystřihnutím) nukleotidů
- malé změny vznikající např. po alkylačních činidlech, která přidávají metyl- a etylskupiny do nukleotidů, a ty jsou pak reparovány excisní reparací bazí.

Další zdroje poškození DNA:

- přírodní látky v potravě
- buněčné metabolické procesy (reaktivní kyslíkové produkty-ROS)

Vzhledem k vysoké frekvenci poškození je pravděpodobné, že významná část poškození unikne reparaci a produkuje mutace během replikace této nereparované DNA polymerázami.

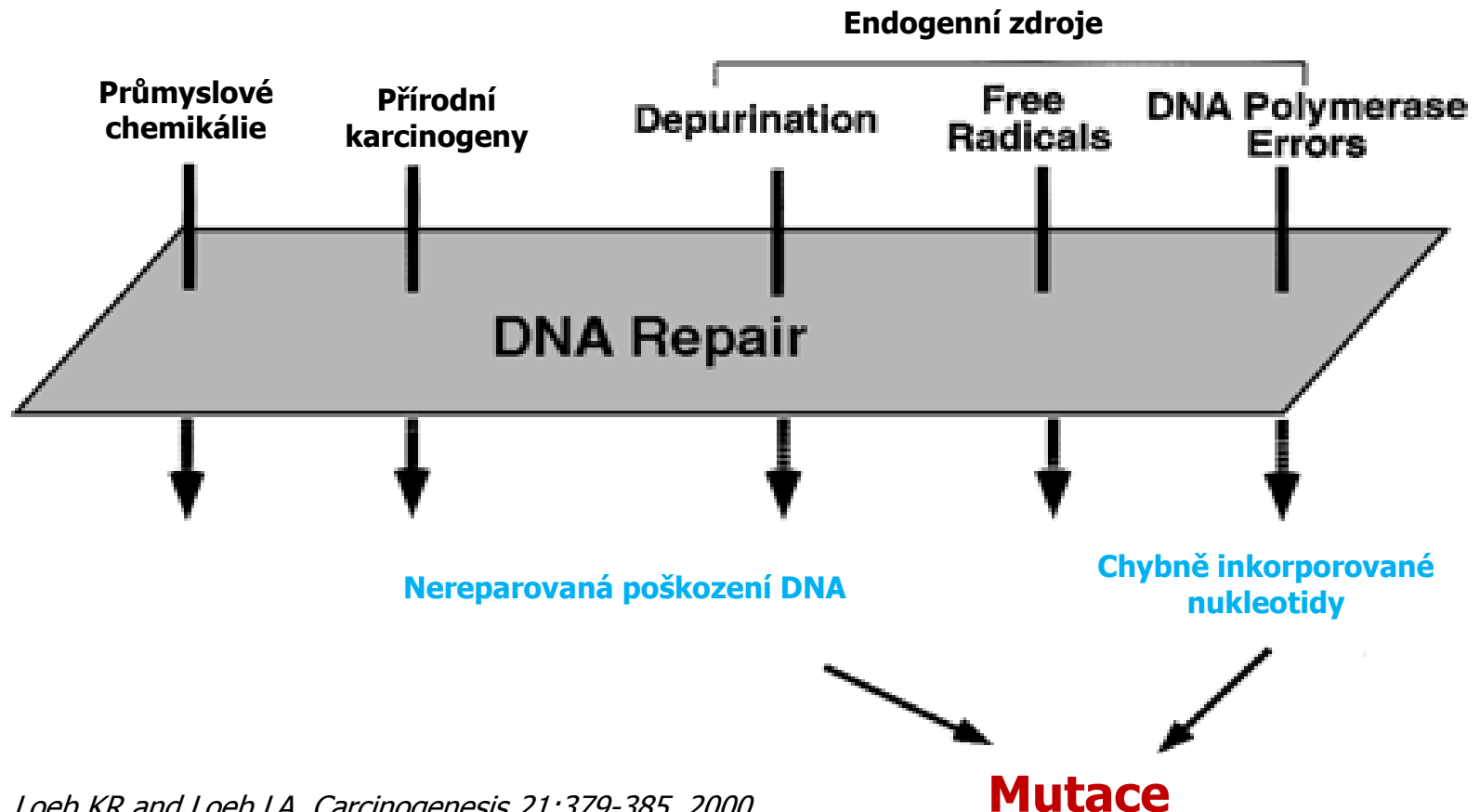
Mutace mohou vznikat též **chybnou inkorporací nukleotidů DNA polymerázami** při kopírování nepoškozeného templátu DNA, během replikace nebo reparační syntézy.

Nukleotidové sekvence v buněčné DNA jsou udržovány v homeostatické rovnováze, kdy vzrůst poškození DNA nebo snížení reparace vedou ke zvýšené frekvenci mutací.

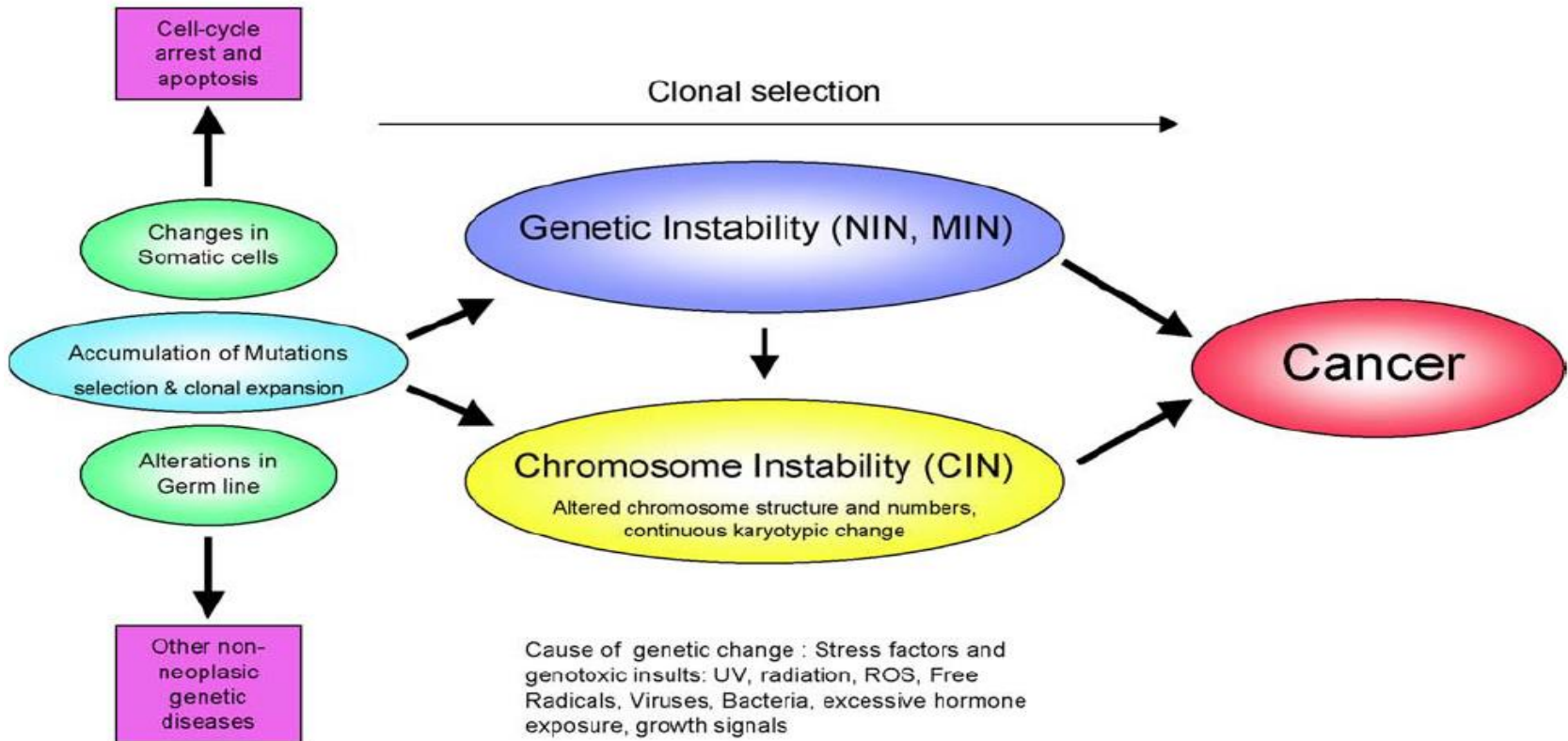
Faktory vedoucí k akumulaci mutací v nádorových buňkách

Mutace vznikají poškozením DNA a poruchami v reparačních mechanismech, čímž je narušena **dynamická rovnováha mezi poškozením a reparací DNA**.

Mutagenesis Homeostasis



How genetic mutations evolve into genomic instability phenotypes and cancer



Spojení genotoxického stresu a genomové nestability.

Díky genetické nestabilitě dochází během času k **akumulaci mutací** buď v gametách nebo somatických buňkách. Somatické nebo dědičné genetické změny zahrnuté v genetické nestabilitě postihují funkce jako je **reparace DNA a kontrolní body bun. cyklu a mitózy**, což předchází **zvýšenou telomerázovou aktivitu**. Somatické buňky však vyžadují pro rozvoj nádoru ještě **dysfunkci tzv. „gatekeepers“**. Mutace umožňující genomovou nestabilitu jsou v gametách i somatických buňkách selektovány.

„**Gatekeepers**“ – **recesivní** geny, které **přímo** regulují (limitují) růst nádorů buď inhibicí jejich růstu nebo indukci jejich smrti.

„**Caretakers**“ - jejich inaktivace navozuje genetickou nestabilitu a ta pouze **nepřímo** indukuje růst nádorů zvyšováním mutační rychlosti.

APC, p53 - jsou zároveň „**gatekeepers**“ i „**caretakers**“

Ke genetické nestabilitě přispívají dva překrývající se mechanismy:

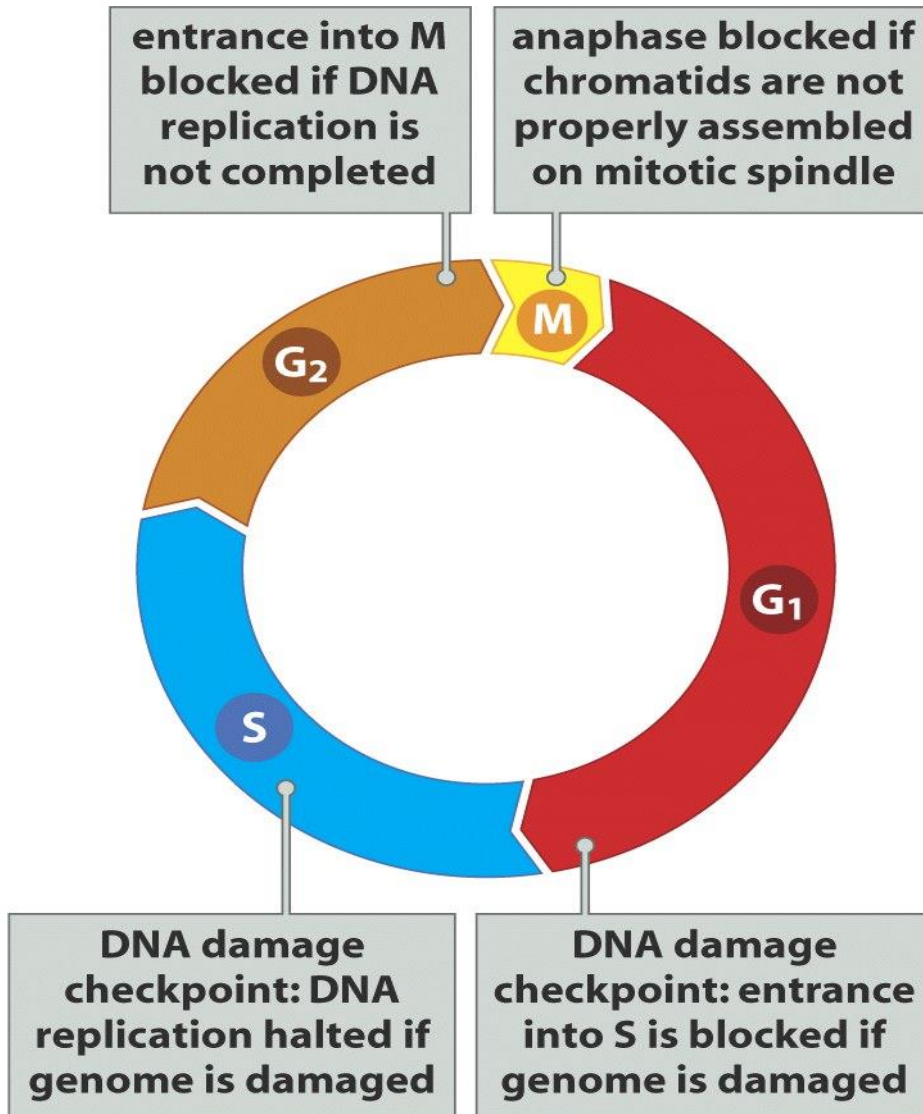
- nádorové buňky vykazují mutovaný fenotyp založený na **vzrůstajícím počtu chyb v syntéze DNA během replikace**. Tyto chyby vznikají v důsledku mutací
 - v DNA polymerázách, takže vnášejí chyby
 - v DNA reparačních proteinech, které jsou potom defektní
- **akumulace mutací** založená na postupných vlnách **klonální selekce**.

Buněčný cyklus a apoptóza

V průběhu **buněčného cyklu** existuje několik **kontrolních bodů**, kde je monitorována reparace poškození před vstupem do následující fáze. Při aktivaci se v těchto bodech cyklus přechodně zastavuje, aby mohla být poškození reparována. Eliminace těchto kontrolních bodů (např. mutace v p53, pRb) vede k vývoji mutovaného fenotypu.

V případě **vzniku nereparovatelného poškození** se normálně spouští **apoptóza**, která zabrání rozšíření mutací. Mutace, které zpoždí nebo zabraňují apoptóze tak podporují přežití geneticky nestabilních maligních buněk.

Kontrolní body buněčného cyklu



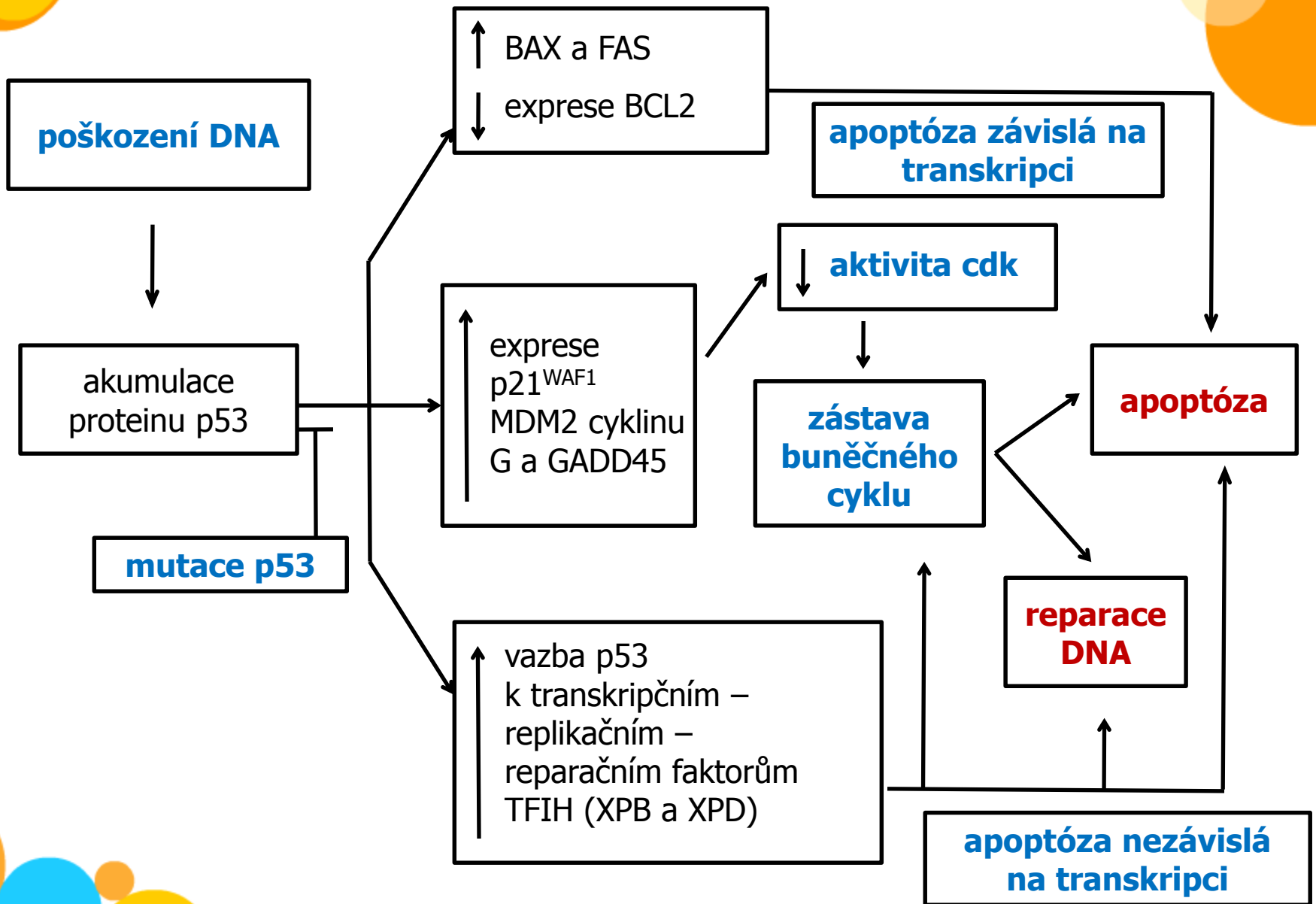
Kontrolní body poškození DNA:

G1 fáze: vstup do S fáze je blokován při poškození DNA

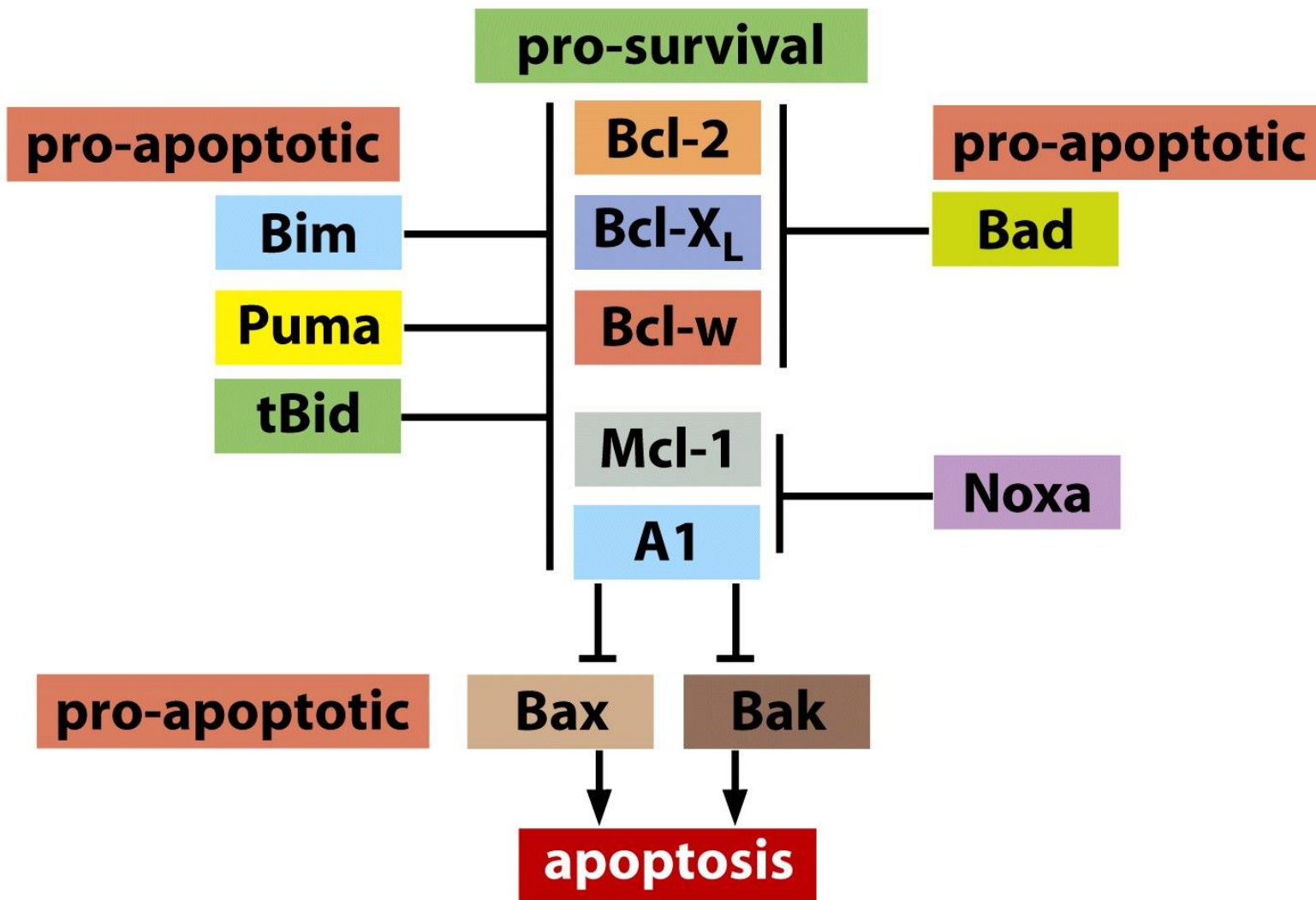
S fáze: replikace DNA je zastavena při poškození genomu

G2 fáze: vstup do mitózy je blokován, jestliže není dokončena replikace DNA

M fáze: anafáze je blokována pokud nefunguje správně tvorba mitotického vřeténka



Proteiny spouštějící nebo blokuující apoptózu



Mutace v genech pro tyto proteiny nebo změny jejich exprese umožňují přežívání buněk s poškozeným genomem a podporují rozvoj nádorového onemocnění.

Figure 9.27c Weinberg RA, *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Mikrosatelity

Velké množství mutací (až 100 000 např. u nádoru kolonu) se nachází v tzv. **mikrosatelitech** - **repetitivních (opakovaných) sekvencích mezi geny**. Repetitivní sekvence jsou i uvnitř genů a jsou u nádorových buněk zkracovány nebo prodlužovány s vysokou frekvencí. Tak dochází patrně k **inaktivaci nádorově supresorových genů** během rozvoje nádorů. Na nestabilitě mikrosatelitů se ve velké míře podílejí např. ROS, takže se uvažuje o využití látek působících jako antioxidanta.

Nádory vykazující **nestabilitu mikrosatelitů** (MIN) obsahují často změny v délce repetit. sekvencí uvnitř řady genů spojených s nádory jako je APC, spec. růstové faktory-IGF, TGF-beta, metastatické geny-hMSH3, hMSH6.

Nalezeno u většiny dědičných non-polypózních kolorektálních nádorů (HNPCC). Lokus zodpovědný za HNPCC byl zmapován do oblasti 2p16 a 3p21. V roce 1993 poprvé navrženo, že HNPCC může souviset s defekty MMR a bylo potvrzeno, že „odpovědnými“ geny jsou **MSH2** na chromozómu 2 a **MSH1** na chromozómu 3. MSH2 a MSH1 odpovídají za 90% vrozených mutací HNPCC, další jsou **PMS1**, **PMS2** a **MSH6**.

Amplifikace genů

Téměř všechny nádory prsu a vaječníků studované s využitím srovnávací genomové hybridizace obsahují řadu **změn v počtu genových kopií**.

Genová amplifikace se objevuje u některých typů nádorů vyšších stádií a může souviset s rezistencí k chemoterapeutikům (***N-myc***, ***erb*** a ***ras***).

Amplifikace se objevují v pozdních stádiích maligní transformace, jsou spojeny s agresivně rostoucími nádory a **signalizují nepříznivý prognostický vývoj**.

Genetická nestabilita nádorových buněk se projevuje na úrovni:

- nukleotidů - bodové mutace
- celých chromozómů - translokace, delece, amplifikace a aneuploidie. Nestabilita vede k mutantnímu fenotypu prostřednictvím změněné exprese proteinů, funkcí nebo efektem genové dávky.

Aneuploidie - změna v počtu chromozómů - vlastnost řady nádorů. Může vzniknout fragmentací chromozómů, translokací, amplifikací nebo nondisjunkcí. Progresivní růst aneuploidie je raným počátečním dějem vedoucím ke genet. nestabilitě a je nezávislý na akumulaci jiných typů mutací.

Obecně existuje **pozitivní korelace mezi počtem chromozomálních změn v nádoru a maligním potenciálem tohoto nádorového onemocnění.**

Existují tetraploidní mezistupně po **defektní mitóze** nebo **endoreduplikaci**. Po přechodné zástavě mitózy v přítomnosti poškození vřeténka, jsou některé nádorové buňky (zejména buňky, které postrádají funkční produkty genů kontrolujících přechod G1/S fáze jako jsou p53, pRb, p16, p21 i buňky se zvýšenou expresí myc) schopny obnovit bun. cyklus vstupem do dalšího kola syntézy DNA, což vede k endoreduplikaci.

Ztráta heterozygotnosti

LOH („lost of heterozygosity“)

Buňky, které nesou **jednu mutovanou alelu nádorového supresoru**, ztrácejí **deleci velkou část chromozómu**, který nese funkční alelu. V oblastech s vysokou frekvencí LOH často leží **geny nádorových supresorů**.

Buňky, které nesou jednu mutovanou alelu nádorového supresoru (např. retinoblastoma- RB gen), ztrácejí funkční alelu (viz obrázek).

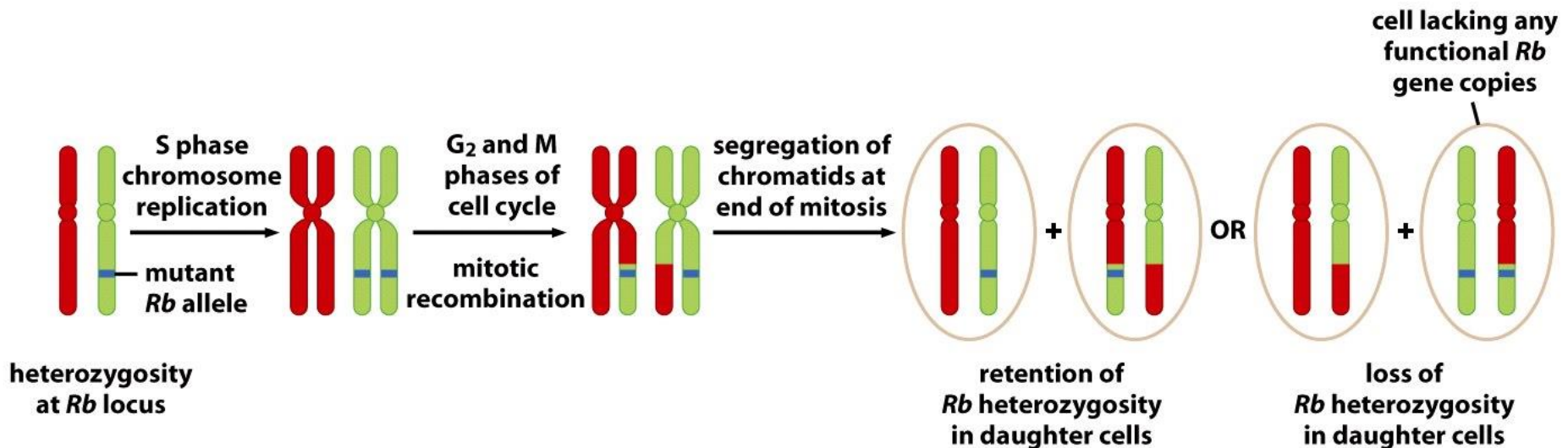


Figure 7.8 Weinberg RA, *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Dva základní mechanismy vzniku genetické nestability:

- mechanismus zahrnující mutace v genech pro opravu nesprávných spojení DNA („mismatch repair“) a manifestují se nestabilitou mikrosatelitů.

Nutná mutace v obou alelách – recesivní charakter.

- mutace v genech pro segregaci chromozómů manifestující se fragmentací chromozómů nebo duplikací či delecí celých chromozómů. Stačí pouze jedna mutace, tj. fenotyp nestability chromozómů má dominantní charakter.

S růstem počtu mutací přispívá ke genetické nestabilitě **jev klonální selektivity**.

Překážky omezující růst nádorů:

- vliv okolních tkání
- omezená výživa a přístup kyslíku
- potřeba růstových faktorů
- nedostatečné zásobování krví atd.

Každá z těchto překážek může být překonána v důsledku **mutací**, které poskytují **růstovou výhodu** a ustanovují **novou klonální populaci**. Z každým kolem selekce dochází také ke vzniku dalších mutací.

Hromadění, selekce a klonální expanze mutací

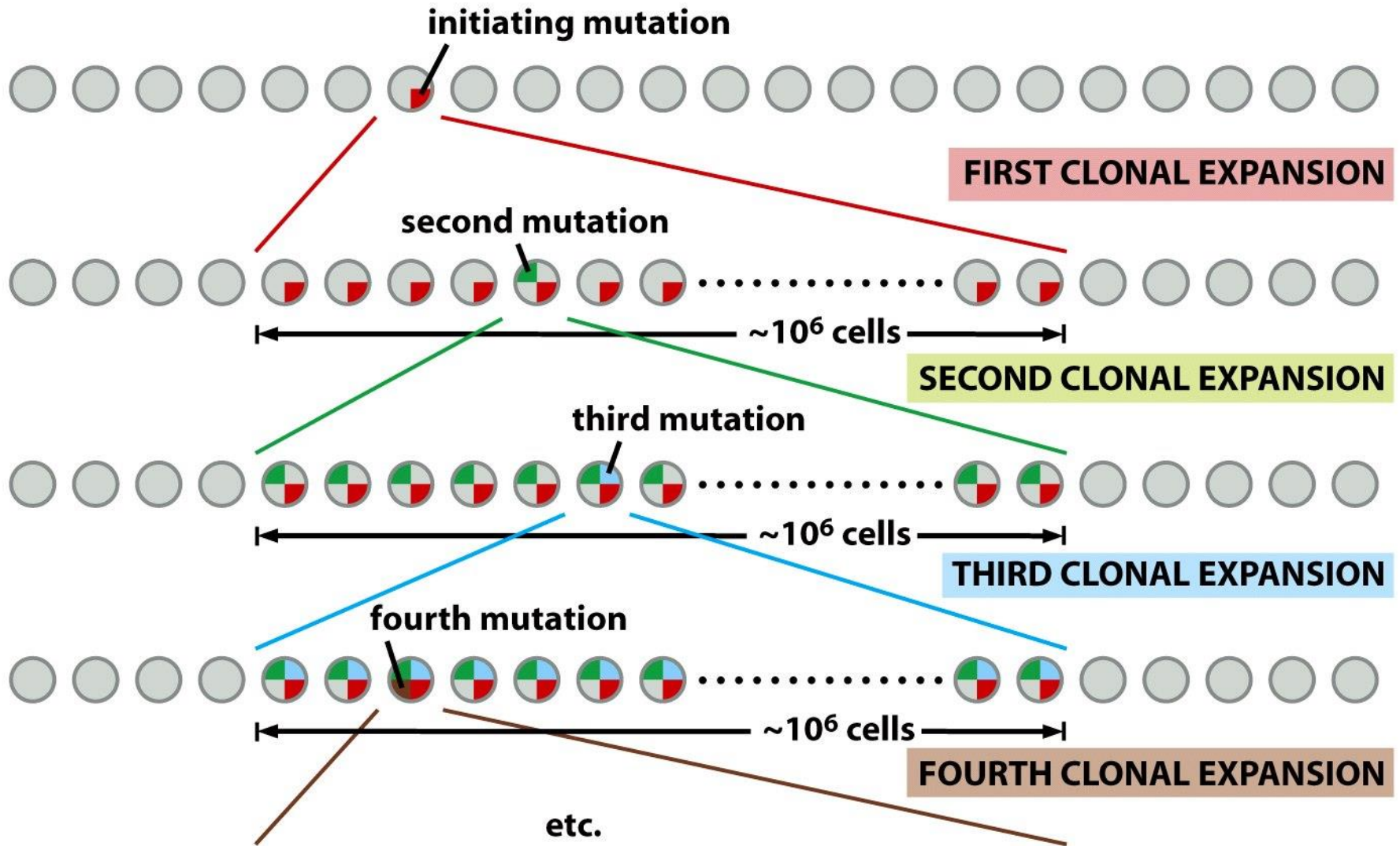
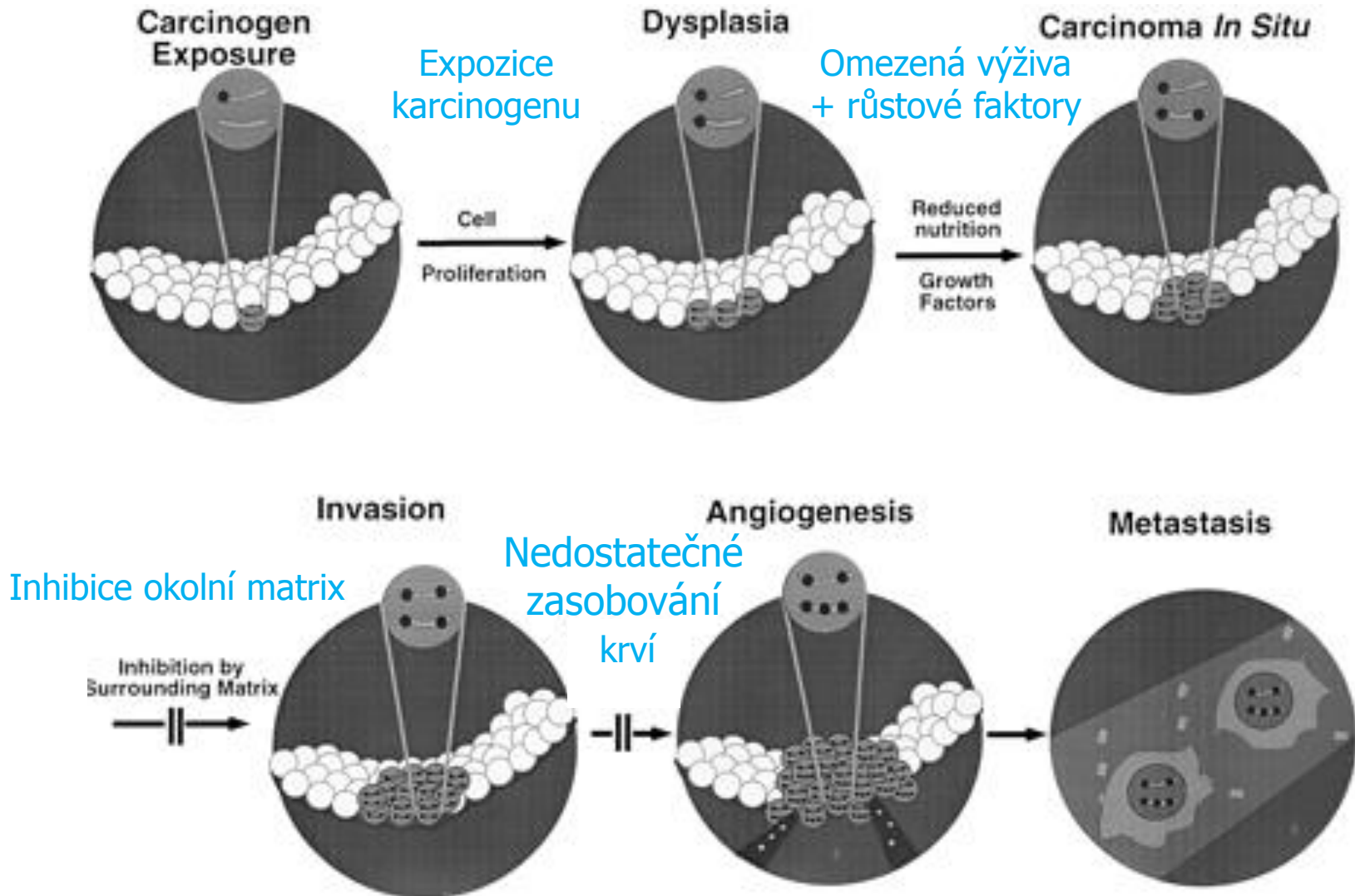


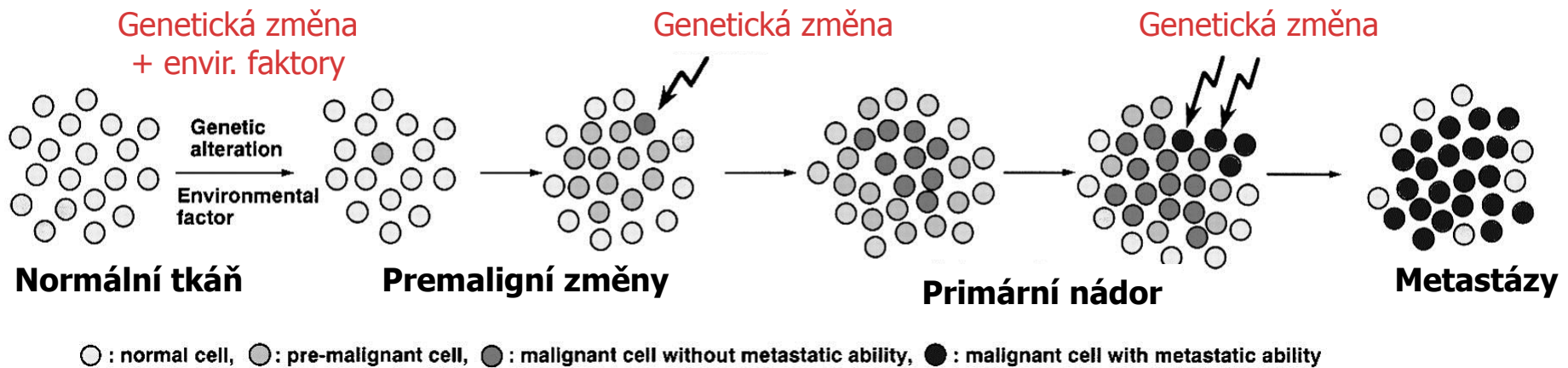
Figure 11.12 Weinberg RA, *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Vývoj nádoru založený na **selekcí mutovaného fenotypu**.

Jen málo mutovaných buněk překonává bariéry dalšího růstu. V každém dalším kole selekce dochází k progresivnímu obohacení o mutace v tzv. **mutátorových** genech nutných pro udržení genetické stability.

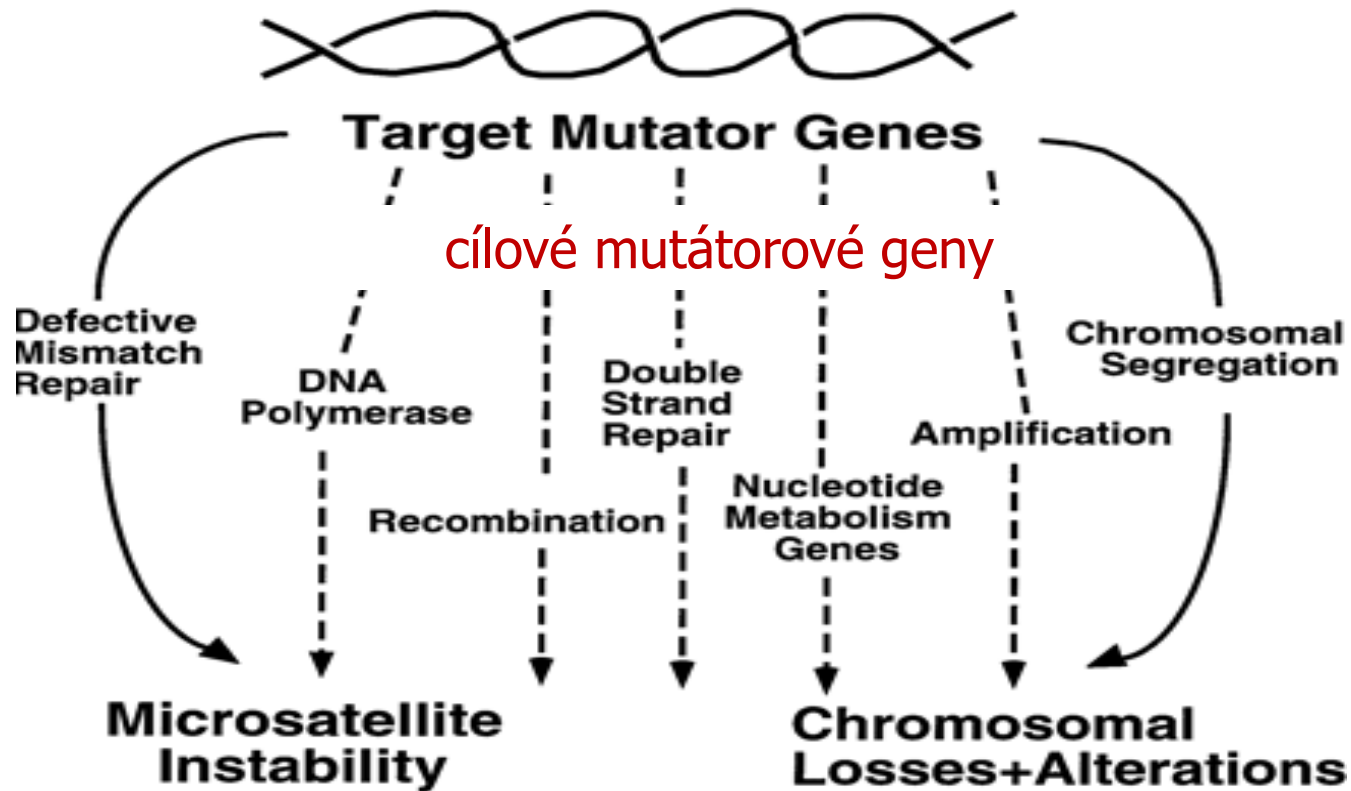


Postupná maligní progrese nádoru spojená s akumulací genetických změn v buňkách



Yokota J., *Carcinogenesis* 21, 2000:497-503

Různé dráhy vedoucí ke vzniku mutovaného fenotypu nádorové buňky

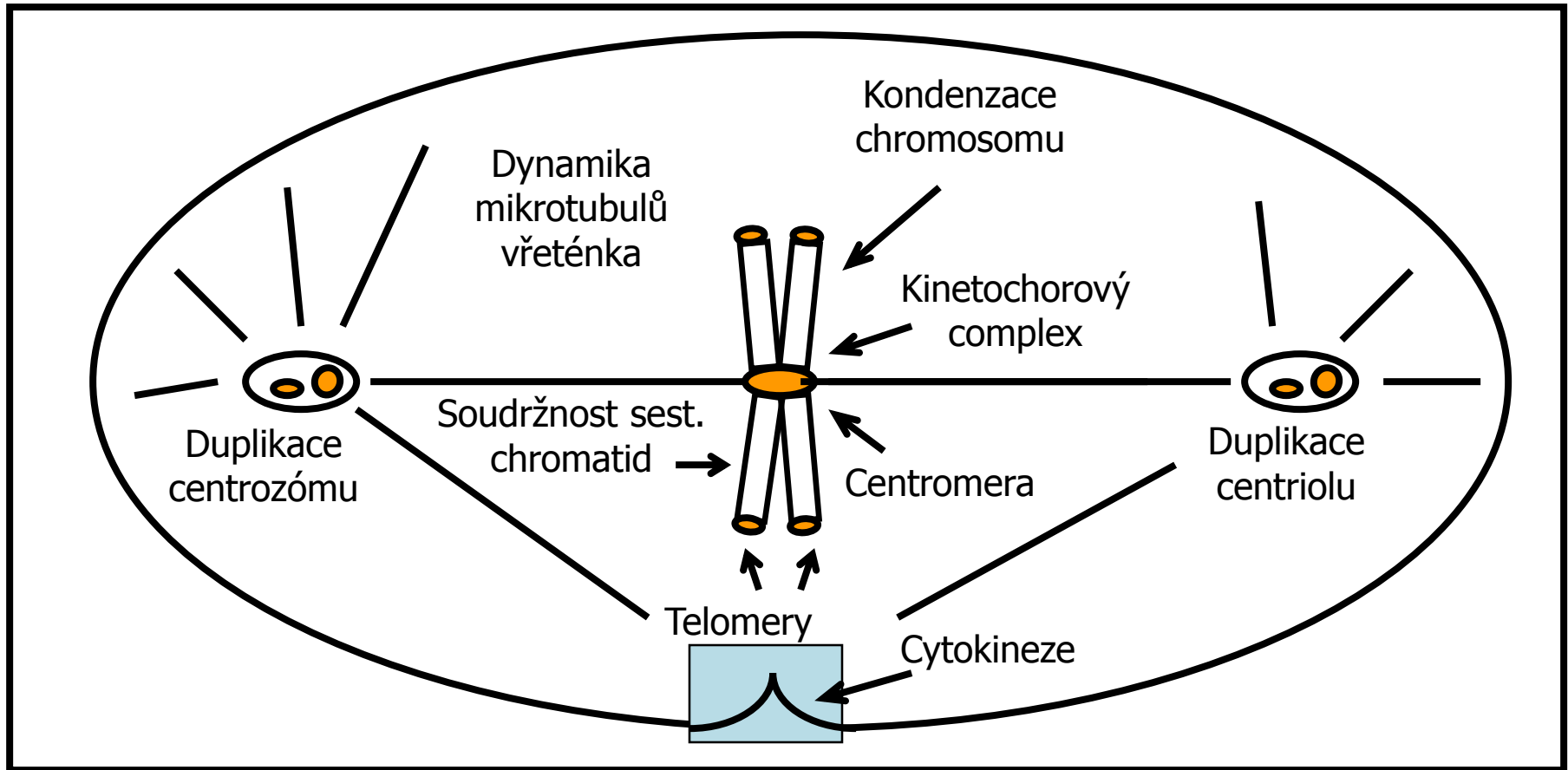


Nestabilita mikrosatelitů

Ztráty a změny chromozómů

Hypotéza mutovaného fenotypu předpokládá, že **geny vyžadované pro udržení genetické stability jsou prvním cílem poškození DNA karcinogeny**. Mutace těchto genů pak vyvolávají mutace dalších genů v genomu.

Potenciální mitotické cíle vedoucí k aneuploidii.



Poruchy několika procesů zahrnující jako cíle **chromozómy, mikrotubuly vřeténka a centrozómy** mohou (kromě abnormální cytokineze) vést k nerovnoměrnému rozdělení chromozómů během mitózy vedoucího k aneuploidii.

(podle Sen S., *Curr Opin in Oncology* 12, 2000:82-88)

Postupné změny při transformaci normální buňky v nádorovou

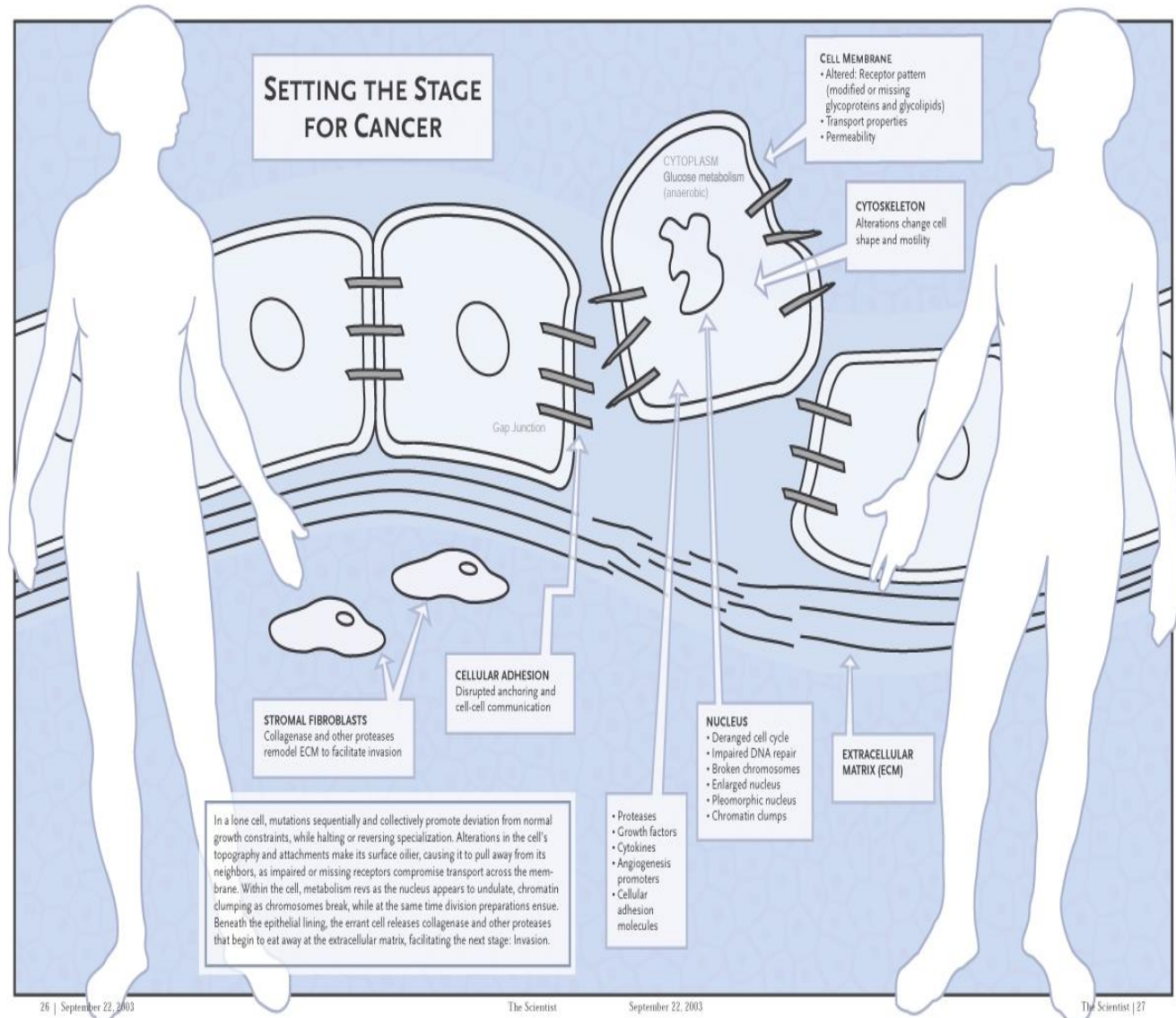
V jednotlivé buňce mutace postupně a společně podporují odchylku od regulovaného růstu a zastavují nebo revertují specializaci buňky.

Změny buněčné topografie a uchycení mění vlastnosti povrchu buňky a umožňují její odpoutání od sousedních buněk.

Pozměněné nebo nefunkční receptory pak ovlivňují transport přes membránu.

Uvnitř buňky se mění metabolismus, jádro mění tvar, dochází ke shlukování chromatinu, zlomům v chromosomech a poruchám buněčného dělení.

Pod vrstvou epitelu jiné buňky produkují kolagenázu a jiné proteázy, které narušují extracelulární matrix a usnadňují tak další fázi - invazi.



Při vzniku nádorů působí dva typy mechanismů - **environmentální faktory** a **genetické vybavení jedince**.

V některých případech je primární envir. faktor, který způsobí vznik nádoru u "normálního" jedince. Avšak i v tomto případě jsou zasaženy geny, protoonkogeny a nádorově supresorové geny.

Kromě toho existují další geny, které mohou způsobit větší či menší citlivost (susceptibility) jedince k envir. faktorům.

Předpokládáme-li, že všechny nádory jsou výsledkem iniciační, promoční a progresivní fáze karcinogeneze, měly by existovat geny, které:

- a) buď chrání nebo predisponují protoonkogeny nebo nádorově supr. geny k aktivaci nebo inaktivaci,
- b) selektivně podporují nebo suprimují růst a expanzi iniciované buňky,
- c) zabraňují nebo zvyšují možnosti získání genetické/epigenetické nestability iniciované buňky, které zapříčiňují její malignitu.

Lidské genetické syndromy:

Albinismus - jedinci nemají melaninovou pigmentaci, která chrání kůži nebo oči před škodlivými účinky UV záření. Normální DNA reparační mechanismy, ale množství poškození je větší než je tento systém schopen zvládnout.

Nereparovaná poškození DNA fungují jako substrát pro vznik mutací v protoonkogenech nebo nádorově supr. genech.

Syndrom je klasifikován jako jako **typ náchylný ke vzniku nádorového onemocnění**. Protože poškození DNA je velké, mnoho buněk umírá a smrt kožních buněk stimuluje **kompensační - regenerační růst** buněk přežívajících – možnost promoce iniciovaných buněk.

Klony iniciovaných buněk dále exponované UV - zvýšena pravděpodobnost dalších mutačních (genetických) změn - postup populace buněk do progresivního stadia.

Syndromy chromozomální nestability

Onemocnění spojená s poruchou reparace. Jedná se o [autozomálně recesivní](#) syndromy spojené se zvýšenou citlivostí na UV ozáření i na další mutageny. Často jsou spojeny s **hyper nebo hypopigmentací, malým vzrůstem** a s [defektem imunity](#). S vysokou citlivostí pacientů na mutageny souvisí zvýšená hladina **chromatidových i chromozomových zlomů** a chromozomových výměn v jejich buňkách. U některých onemocnění jsou tyto změny specifické (např. zvýšená hladina sesterských chromatidových výměn a výměn mezi homologními chromozomy u [Bloomova syndromu](#), specifické zlomy na chromozomech 7 a 14 u [ataxia telangiectasia](#) a u Nijmegen breakage syndromu). Hladina získaných chromozomálních aberací je zvýšená spontánně, nebo jsou buňky pacientů zvýšeně senzitivní na [in vitro](#) indukci aberací mutageny (např. UV záření). Protože se jedná o poruchu reparace, nebo replikace, pacienti mají **mnohonásobně zvýšené riziko vzniku nádorového onemocnění**.

Xeroderma pigmentosum (7 typů mutací)

recesivně dědičný syndrom, který také předurčuje jedince k rakovině kůže, avšak na jiném principu. V Evropě výskyt 1: 2 000 000.

Jedinci jsou nositeli genu, který neumožňuje reparovat poškození DNA (NER) indukované UV. Výsledkem jsou nereparovaná poškození DNA, která vedou ke smrti buněk nebo k mutacím. Podobně jako u albínů dochází ke **kompenzační hyperplazii** při náhradě odumřelé tkáně.

Iniciovaná buňka kůže proliferuje, ale nediferencuje. Vytváří **klon iniciovaných** buněk (papilom) citlivý k indukci dalších genet/epigenet. změn a k progresivnímu rozvoji.

Jedinci s albinismem nebo XP však nejsou odsouzeni k nádorovému onemocnění. Jestliže je pokožka chráněna před UV, nemusí být vyvoláno.

Při **nadměrném působení UV** mohou být postiženi i "normální" jedinci. **Reparační systém přetížen** a vzniká poškození DNA vedoucí opět k mutacím a ke smrti buněk podobně jako v předchozích případech. Jedinci s větší pigmentací jsou lépe chráněni před škodlivými účinky UV.



Nádory kůže, neurodegenerace, předčasné stárnutí

Ataxia telangiectasia

je **komplexní syndrom** s neurologickými, imunologickými, jaterními, kožními a endokrinologickými abnormalitami. Dědičnost syndromu je autosomálně recesivní, zúčastněný gen (*ATM*) byl lokalizován do oblasti 11q22-q23. Normální produkt genu je DNA-dependentní proteinkinasa (ATM), která se **účastní regulace buněčného cyklu** a v interakci s **p53** proteinem i reakcí buňky na genotoxický stres.

ATM proteinkinasa je aktivována ihned po zlomu obou řetězců DNA a zahajuje signalizaci směrem k opravným mechanismům a kontrolním bodům buněčného cyklu s cílem minimalizace následků poškození. Při mutaci tohoto proteinu jsou oslabeny reparační mechanismy DNA, což se projevuje zvýšenou citlivostí buněk na ionizační záření a **náchylností k rozvoji maligní transformace**.

ATM se podílí rovněž na fyziologickém procesu genetické rekombinace (*V(D)J rekombinace*) při vývoji T a B-lymfocytů, který může být narušen neschopností **opravovat dvojité zlomy** v DNA. Typický obraz z hlediska imunologie tvoří výrazně **snížené hladiny IgE** a zejména IgA. Snížení se může týkat i imunoglobulinů IgM a IgG2 (či celkových IgG). Z morfologického hlediska pozorujeme hypoplasii thymu a lymfatických uzlin.

Dalšími projevy jsou **mozečková ataxie**, **teleangiektazie** malých cév a zvýšené riziko vzniku různých malignit.

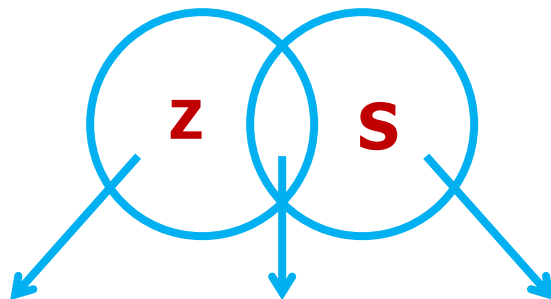
Existuje řada envir. faktorů a genů, které předurčují nebo chrání jedince před vznikem nádorů. Existuje řada chemikálií buď exogenních (dieta, životní styl, léčiva, polutanty) nebo endogenních (hormony, růstové faktory), které nepoškozují DNA a nejsou mutagenní.

Jsou to **negenotoxicky působící látky**, které mohou působit jak **promoční stimulací proliferace iniciované buňky tak supresí apoptózy**. Jedinci, kteří jsou normálně exponováni a akumulují iniciované buňky (což se normálně děje s přibývajícím věkem), ale kteří jsou exponováni abnormálnímu množství promočních látek v těle v důsledku genetického defektu jsou označováni jako "*promotion-prone*".

Vyloučení působení nádorových promotorů může u normálních jedinců snížit vznik nádorů přesto, že dojde k iniciaci. Naopak pravidelná a chronická expozice dostatečnému množství nádorového promotoru zvyšuje riziko vzniku nádoru. Podobně jako existují **antiiniciátorové geny a látky**, tak existují i geny a **látky působící antipromočně**.

Nádorová genetika

Zárodečná b. (Z) and somatická b. (S)



Bloom S.
Fanconi S.
AT
XP

RB1
TP53
WT1
NF1

BL t(8; 14)
ALL t(11;)
CML t(9; 22)
ES t(11; 22)
ARMS t(2; 13)

Geny predisponující jedince k nádorům mohou být mutovány v zárodečné linii a produkovat recesivně děděné onemocnění jako je Bloomův a Fanconiho syndrom, AT a xeroderma pigmentosum. Ostatní, jako RB1, TP53, NF1 a Wilmsův tumor 1 (WT1), mohou být mutovány v zárodečné linii, čímž vzniká náchylnost u heterozygotů nebo somaticky v případě nedědičných případů nádorů. Mnoho somatických translokací je spojeno se specifickými chorobami, jako je Burkittův lymphom (BL), akutní lymfocytární leukémie (ALL), chronická myeloidní leukémie (CML), Ewingův sarkom (ES) a alveolární rhabdomyosarkom (ARMS). t(11;) translokace může zahrnovat kterýkoli z velkého počtu chromozómů partnerských k chromozómu 11.

Výukovou pomůcku zpracovalo **Servisní středisko pro e-learning na MU**

<http://is.muni.cz/stech/>

Technické řešení této výukové pomůcky je spolufinancováno Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky.



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ