

## Mutace a genetická nestabilita

Vznik a význam mutací

Integrita genomu

Genetická nestabilita

Dědičné syndromy

E-skripta

<https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps13/genotox/web/index.html>

## Typické znaky nádorové buňky

- ▶ podpůrné proliferční signály
- ▶ deregulace supresorů růstu/prolife
- ▶ odolnost k buněčné smrti
- ▶ neomezená replikace
- ▶ neoangiogeneze
- ▶ invaze a metastázování
- ▶ mutace a genomická nestabilita
- ▶ zánět
- ▶ přestavba energetického metabolismu
- ▶ únik před zničením imunitním systémem



## 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)

# 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 vs. karcinogeny

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

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

## **Mutagenita se nerovná karcinogenitě!**

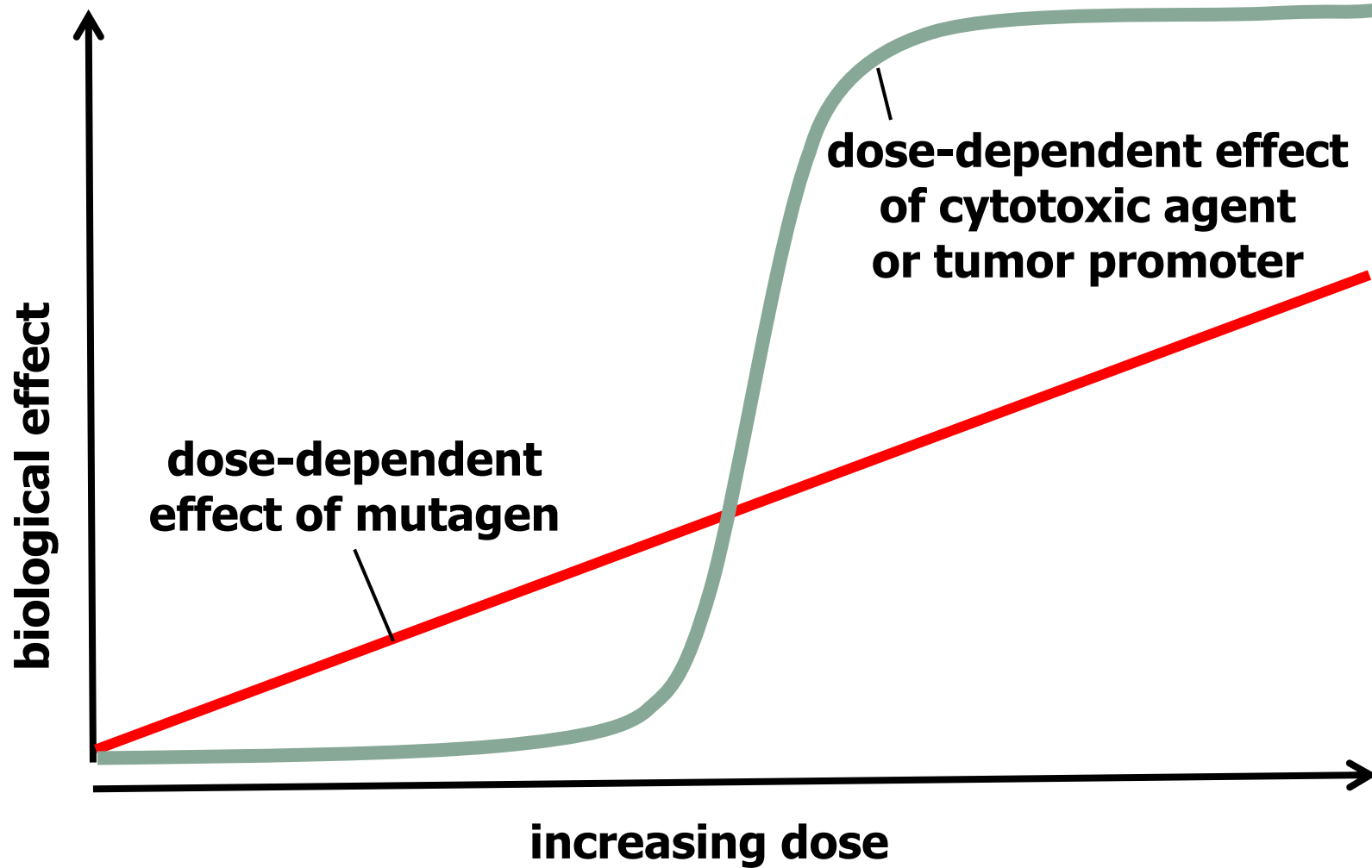
Mutageny mají vysokou pravděpodobnost být i karcinogeny, ale řada nekarcinogenních látek jsou rovněž mutageny. Naopak také mnoho nemutagenních chemikálií může podporovat nádory.

*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.*

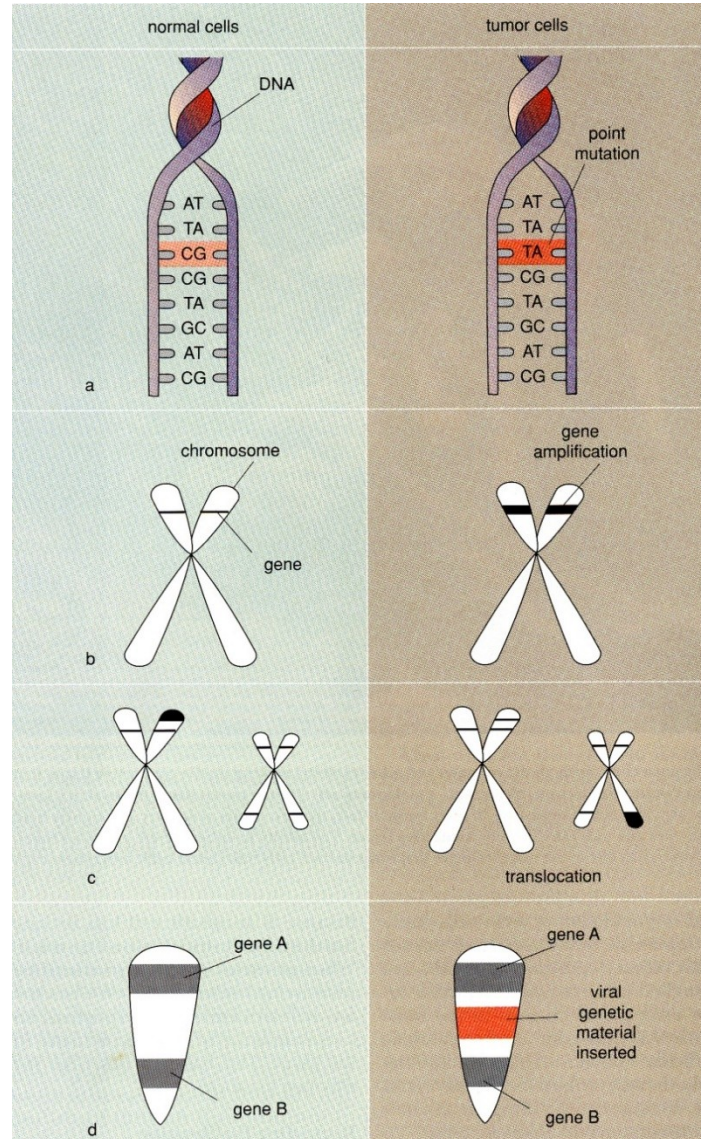
**Kokarcinogeny** - zvyšují hladiny buněčných enzymů, které aktivují karcinogeny.

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

# Mutageny vs. cytotoxické látky a nádorové promotory



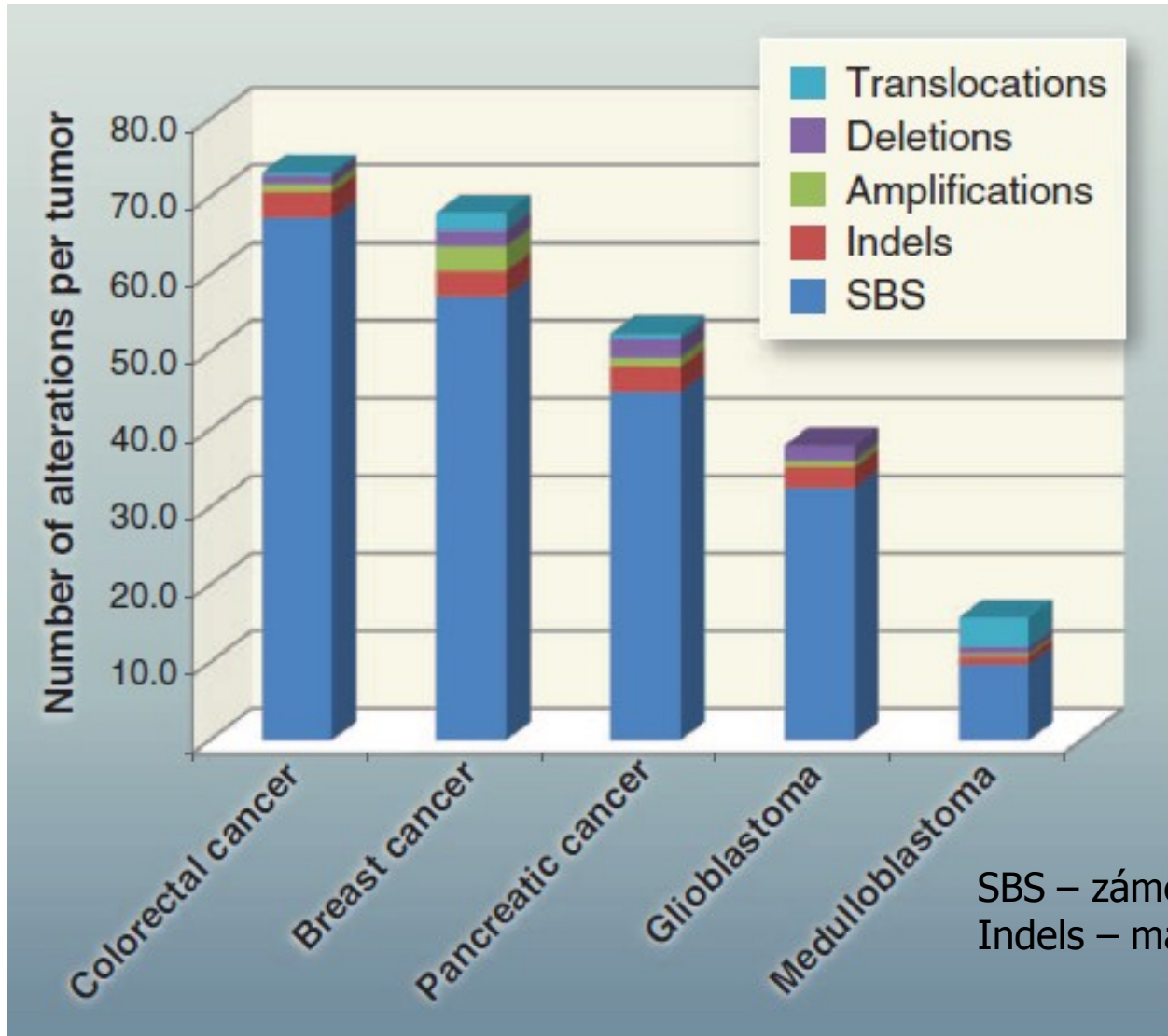
# Genetické změny a disorganizace chromozómů v nádorových buňkách



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



# Celkové změny ovlivňující geny kódující proteiny u vybraných nádorů



SBS – záměna jedné báze  
 Indels – malé inserce a delece



# Počet somatických mutací u reprezentativních lidských nádorů

Genomové sekvenovací studie

A) Počet nesynonymních mutací (medián) u různých typů dětských či dospělých solidních nádorů

B) Medián počtu nesynonymních mutací (horizontálně 25 a 75% kvartil)

**Synonymní mutace** – nemění smysl kodonu a tak ani pořadí aminokyselin v proteinu

**Nesynonymní mutace** – inserce či delece nukleotidu způsobí „frameshift“ mutaci, která míchá kodóny a způsobí změnu proteinu

(mohou hrát pozitivní úlohu v přírodním výběru)

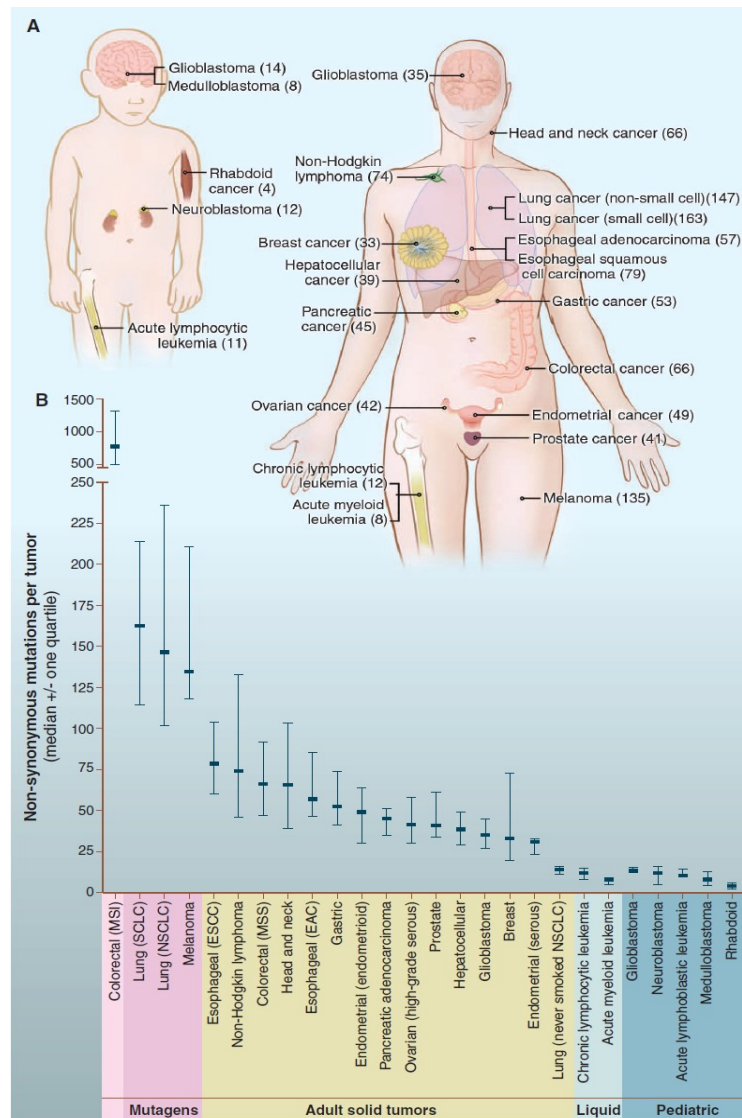
MSI – nestabilita mikrosatelitů

SCLC – malobuněčný nádor plic

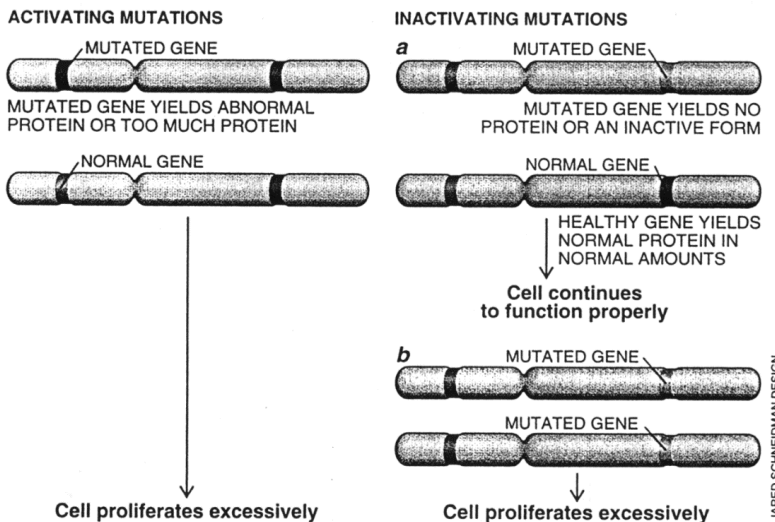
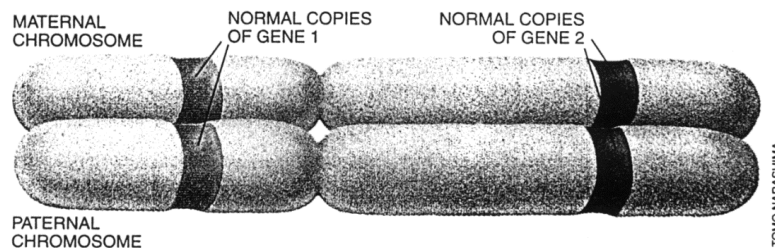
NSCLC – nemalobuněčný nádor plic

ESCC – karcinom jícnu

EAC – adenokarcinom jícnu



# Geny se dědí v odpovídajících párech



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

Cavenee W.K. and White R.L., *Scientific American* 1995:50

# Význam mutací u nádorových onemocnění

Normální frekvence mutací  $10^{-7}$ -  $10^{-9}$  /nukleotid/bun. dělení.

Zvýšená frekvence mutací podporuje karcinogenezi.

Mutace jsou nejen znakem nádorů, ale jsou také zásadní pro jejich vývoj.

Rozhodující však také je, kde tyto mutace vznikají a jakého jsou charakteru.

Genom nádorových buněk je nestabilní a tato nestabilita vyústíuje 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

## Vznik chyb v DNA

Zdrojem nepřesností při replikaci DNA jsou chyby

➔ vzniklé při DNA polymeraci (tj. kvalita DNA polymeráz a souvisejících „proofreadingových“ procesů)

➔ v systémech reparace DNA

U nádorů 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**)

# Poškození DNA

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)

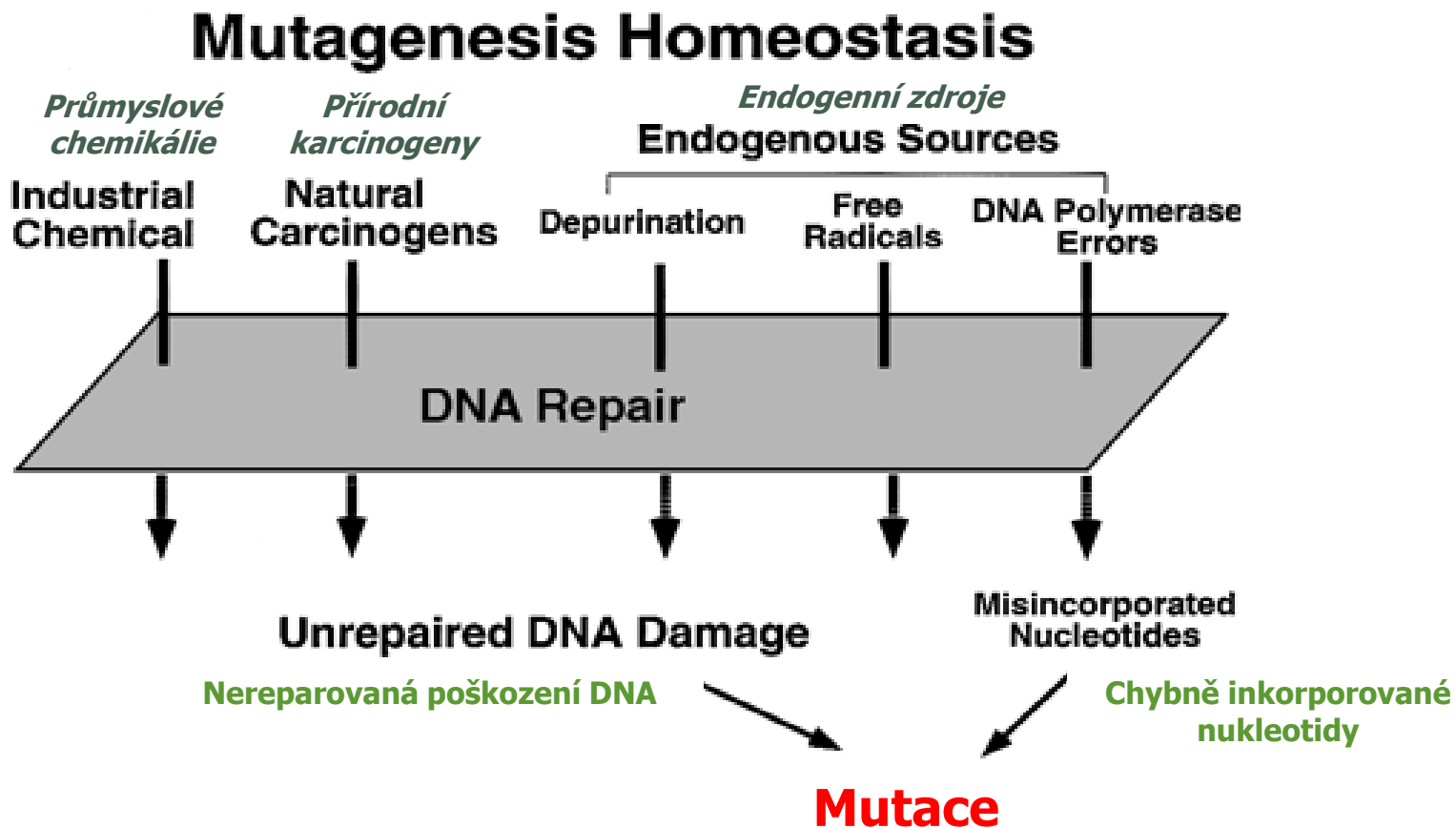
Vzhledem k vysoké frekvenci poškození je pravděpodobné, že významná část poškození unikne reparaci a produkuje mutace během replikace této nereparované DNA polymerázami.

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**.





## Vznik genetické nestability

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.

### Poruchy kontroly buněčného cyklu a apoptózy

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 zpozdíují nebo zabraňují apoptóze** tak podporují přežití geneticky nestabilních maligních buněk.

## Dva základní mechanismy vzniku genetické nestability

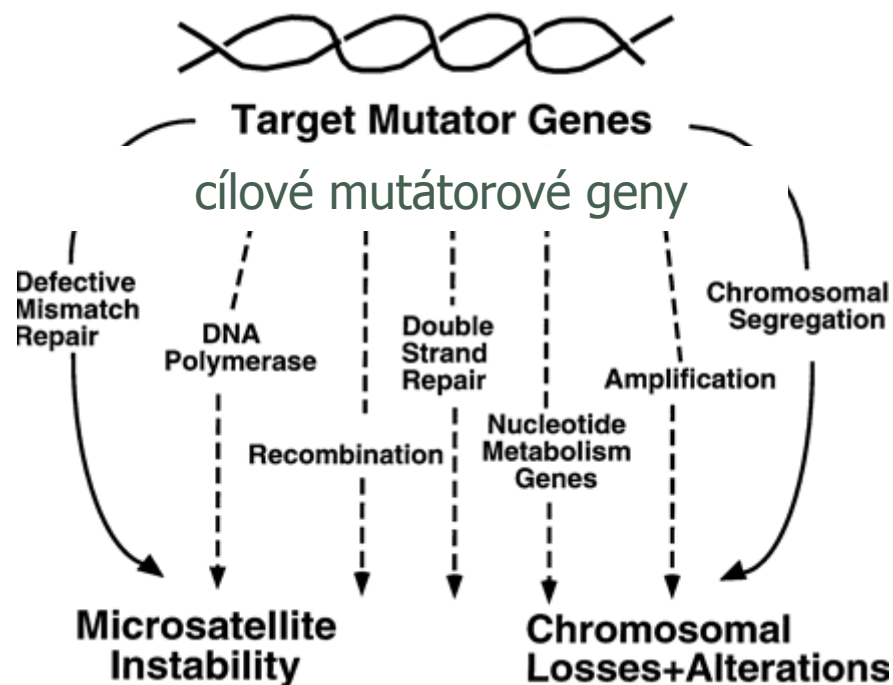
➔ mechanismus zahrnující mutace v genech pro opravu nesprávných spojení DNA („mismatch repair“) a manifestují se nestabilitou mikrosatelitů.

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.

## 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.

# 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.

## Klonální selektivita mutací

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

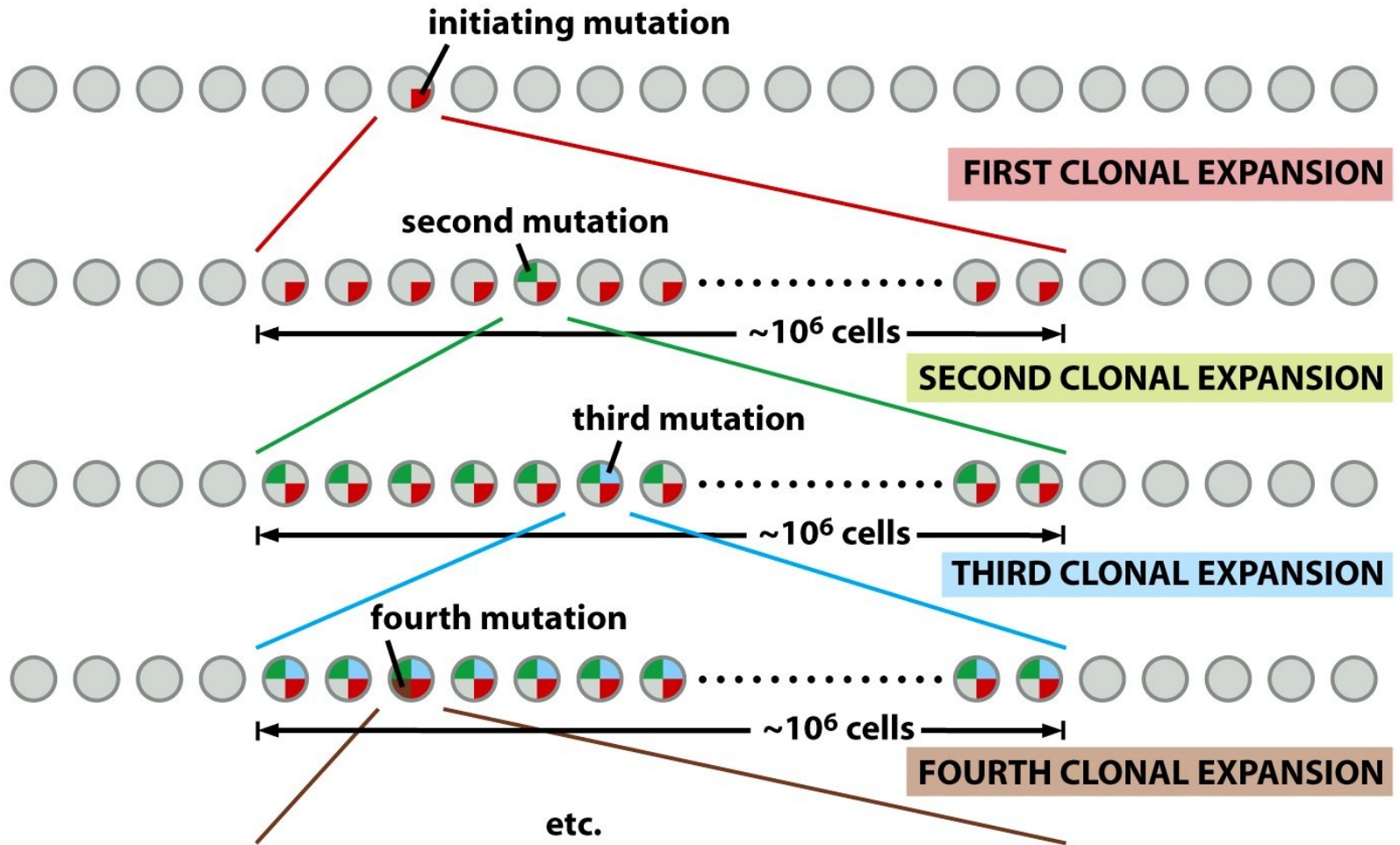
**Překážky omezující růst nádorů:**

- 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**.

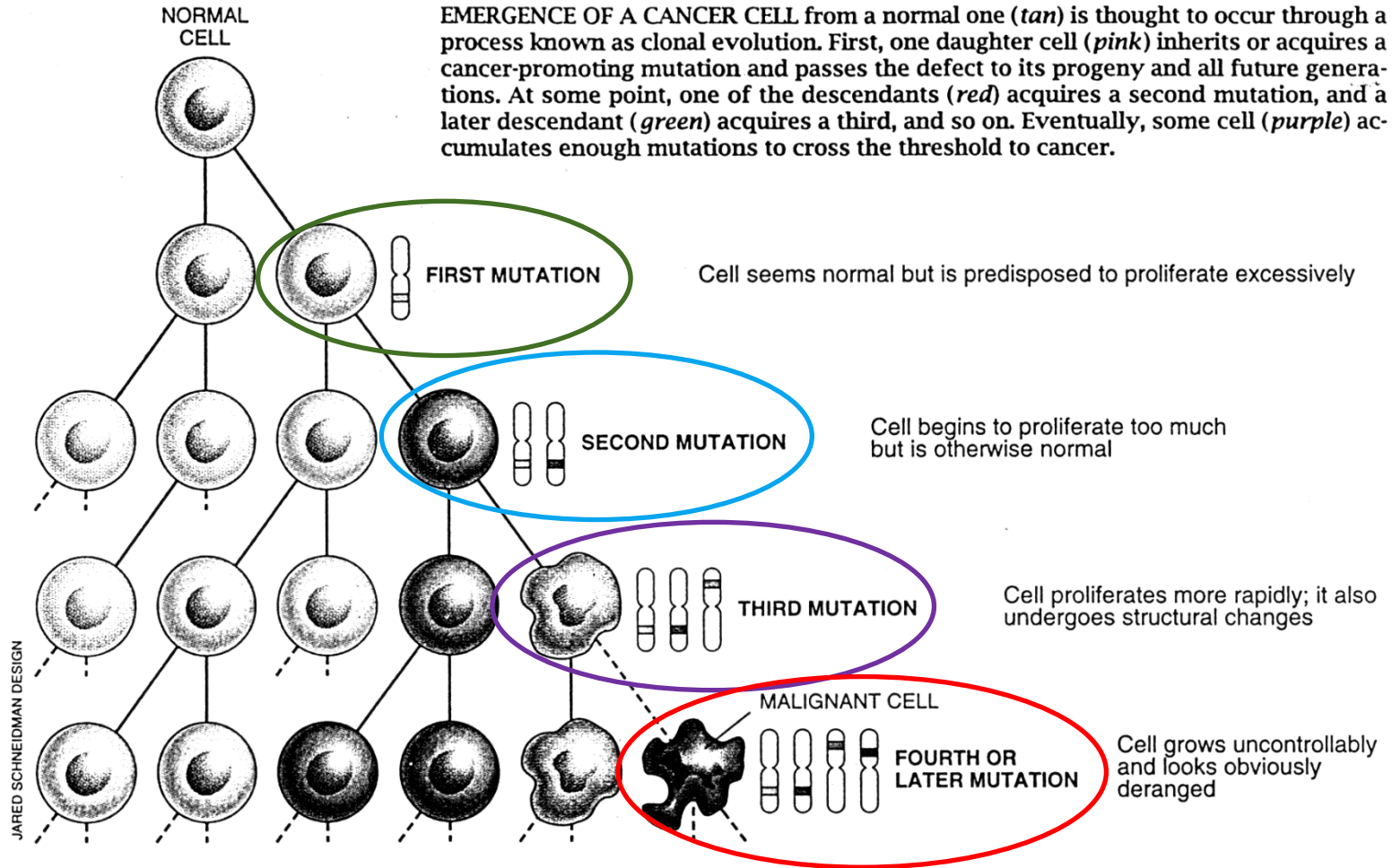
Z každým kolem selekce dochází také ke vzniku dalších mutací.

# Hromadění, selekce a klonální expanze mutací



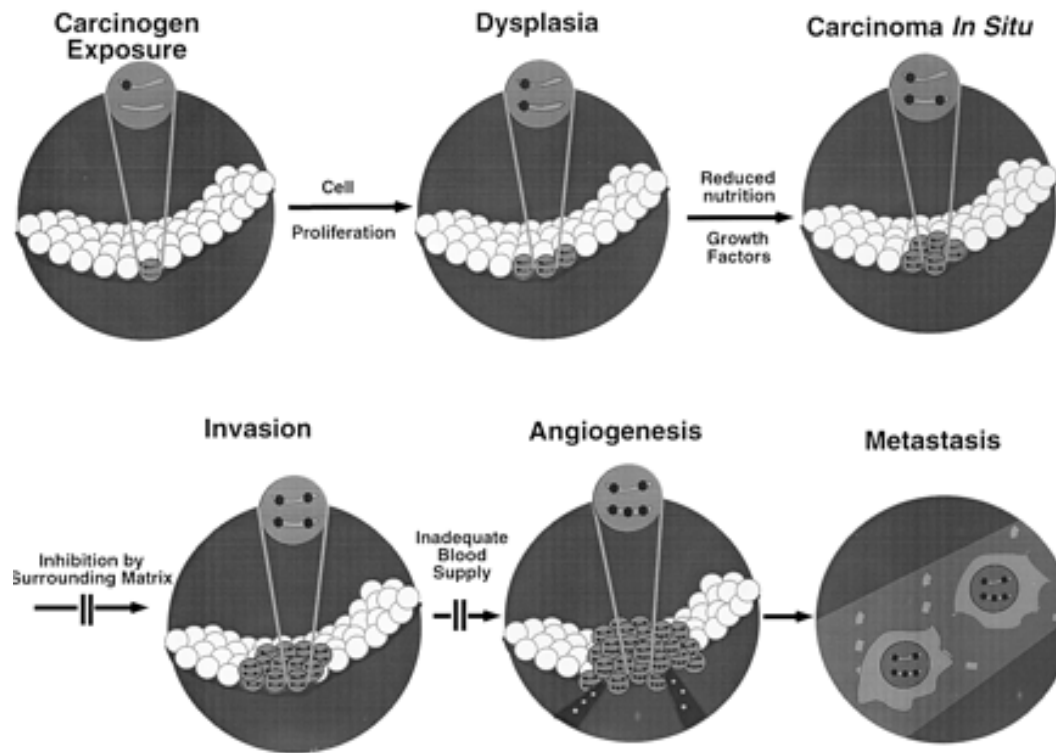


# Vznik nádorové buňky – selekční tlak a klonální evoluce

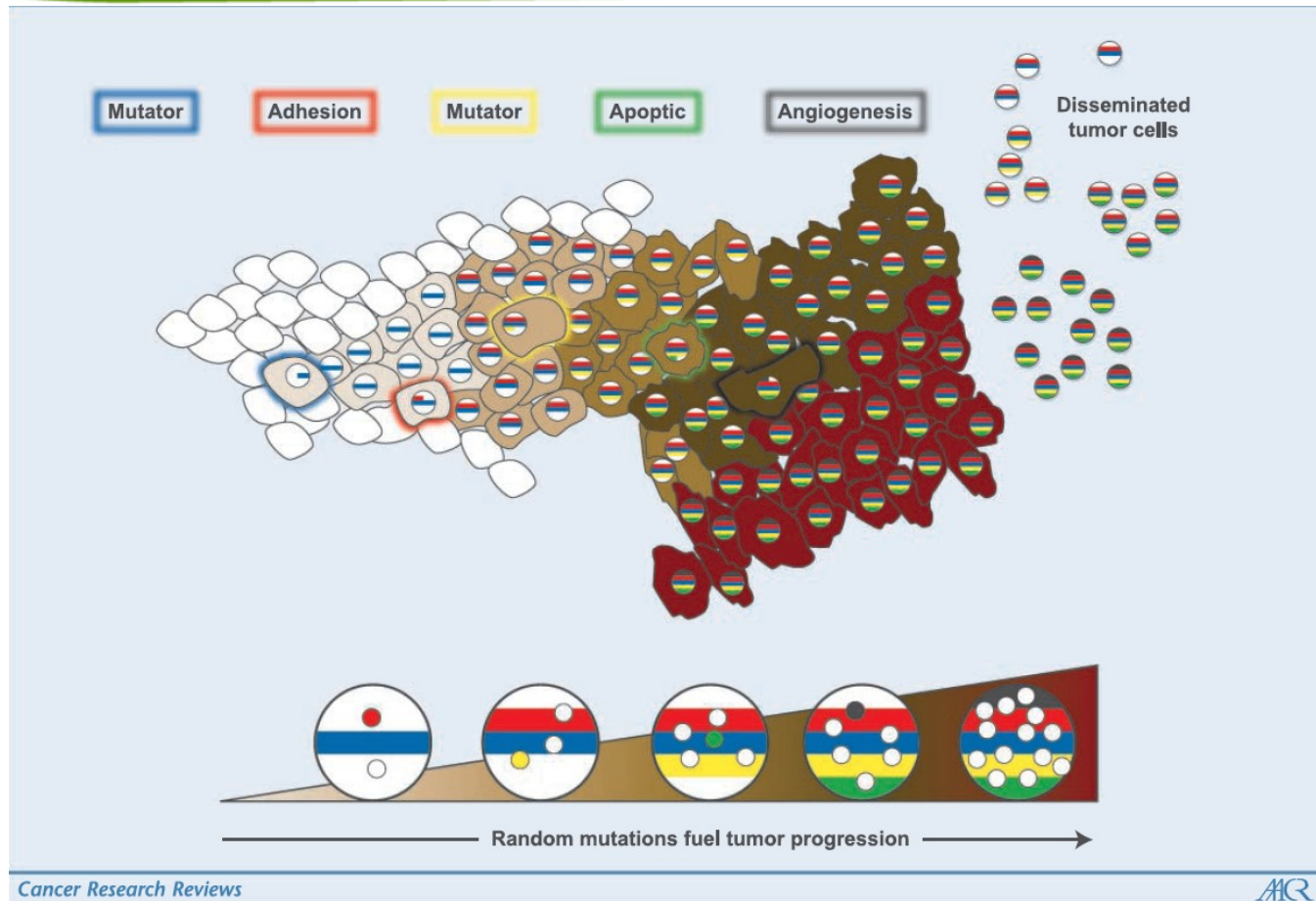


# Vývoj nádoru založený na selekci mutovaného fenotypu

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.



# Akumulace mutací během progresu nádoru

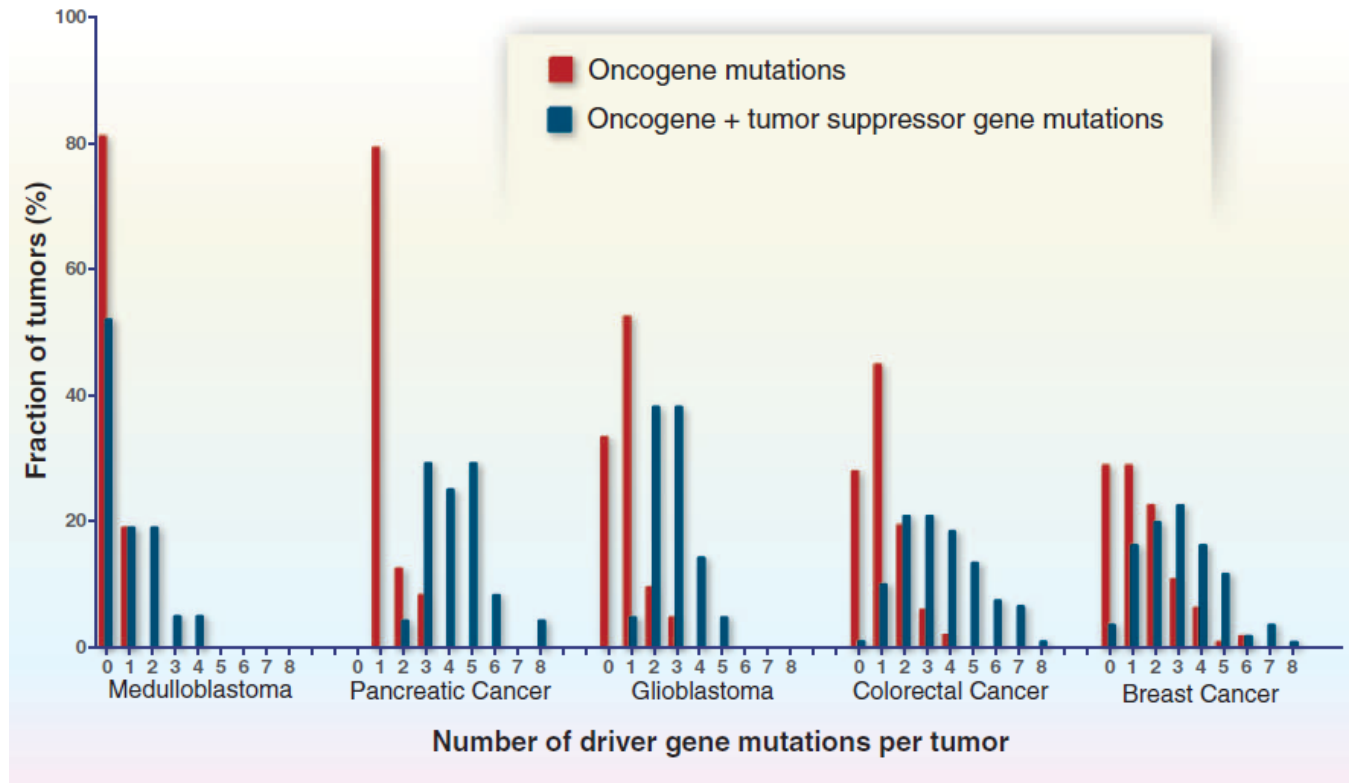


Loeb LA et al Cancer Res 2008, 68 (10)

**Figure 1.** Mutation accumulation during tumor progression. Depicted chronologically are selective pressure (top), cells (middle) and nuclei (bottom) throughout tumor progression. Random mutations result when environmental and endogenous DNA damage exceed the DNA repair capacity of a cell. An early mutation within a mutator gene (blue) increases the rate of mutagenesis, and thus the number of random mutations (white circles) per cell generation available for clonal expansion. In this example, cells that harbor a mutation in a mutator (blue and yellow), cell adhesion (red), anti-apoptotic (green) and later an angiogenic promoting (black) gene are selected and expanded during carcinogenesis. Other than an early mutator mutation, tumor-specific chronologically ordered mutations are not consistent with the mutator phenotype hypothesis, rather random and clonal mutations accumulate stochastically. Additionally, hitchhiker random mutations that exist at other sites throughout the genome get clonally expanded alongside selected causative mutations when present in the same cells. Early- and late- mutator cells can be disseminated from the tumor and form gross metastasis.

# Počet a distribuce „driver gene“ mutací

- „Driver“ versus „passanger“ genové mutace. „Driver geny“ příčinně souvisejí s rozvojem karcinogeneze (poskytují selektivní růstovou výhodu), kdežto „passanger“ geny ne a jsou pouze by-produktem genomové nestability. Jejich rozlišení genomovými analýzami je velmi důležité pro diagnostiku a terapii.



## Význam mikrosatelitů

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***).

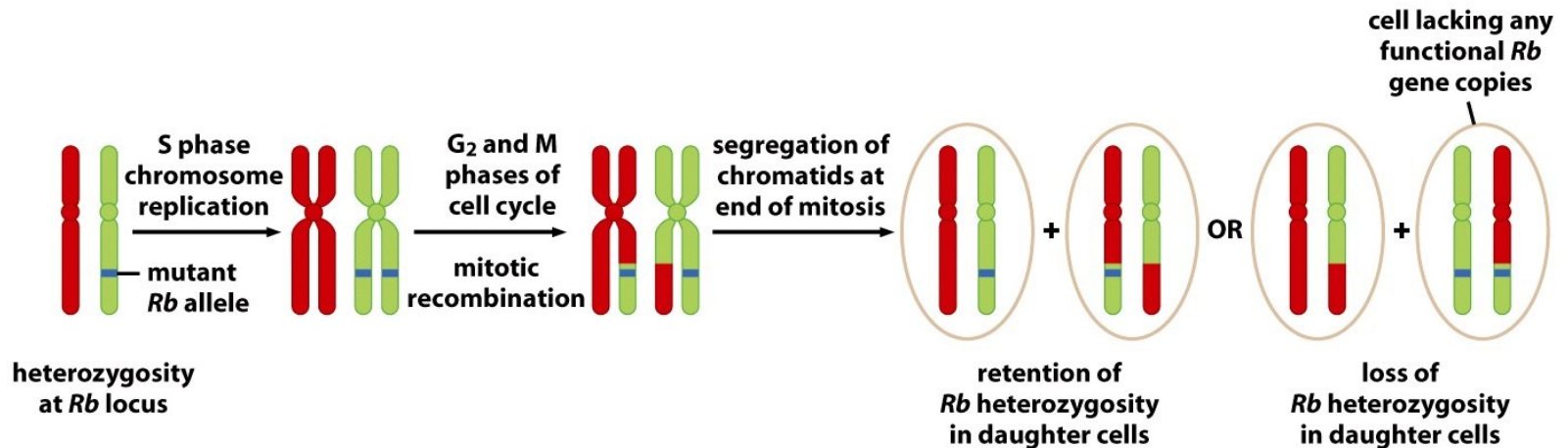
Amplifikace se objevují v pozdních stádiích maligní transformace, jsou spojeny s agresivně rostoucími nádory a signalizují nepříznivý prognostický vývoj.



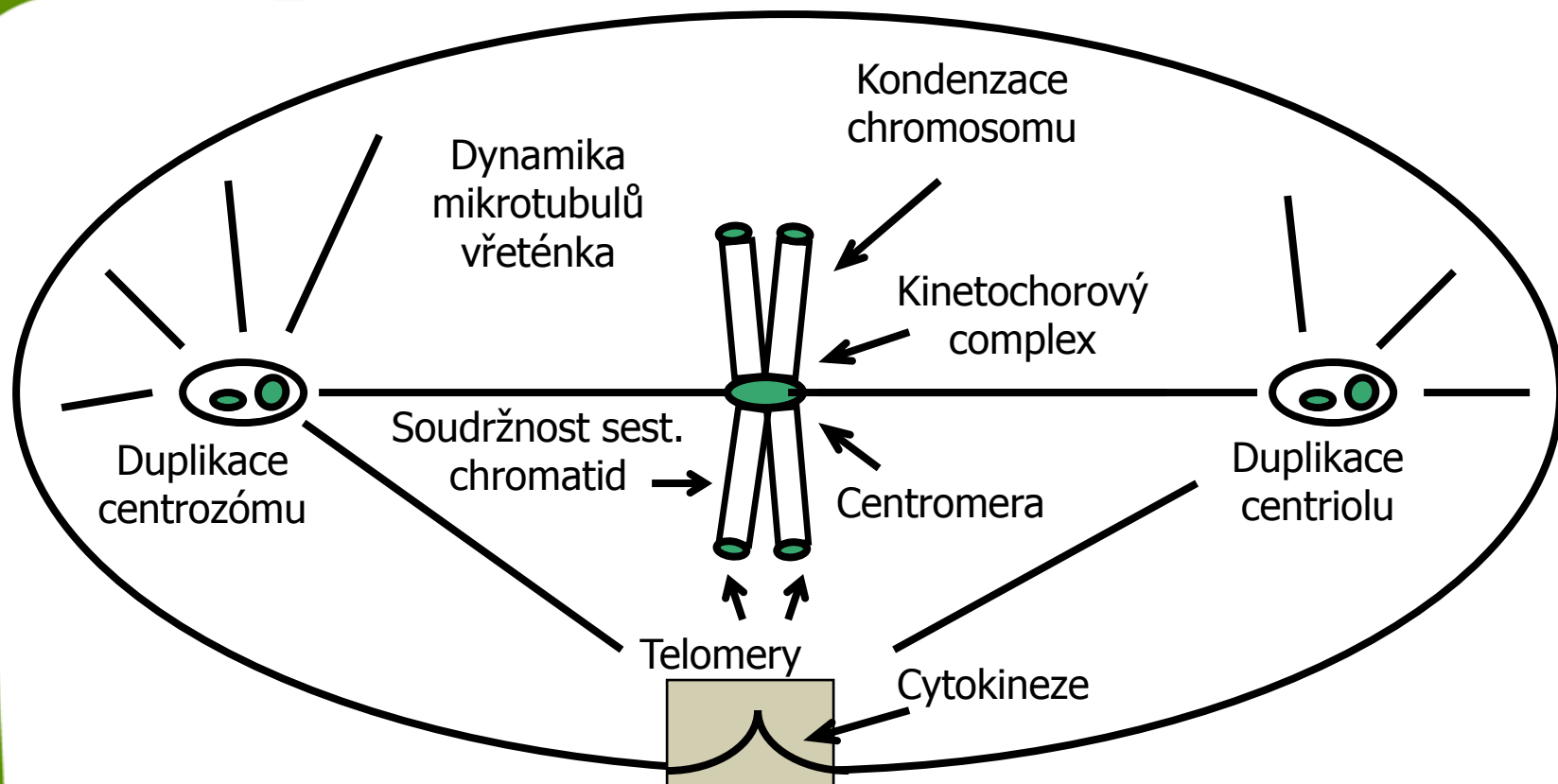
# Ztráta heterozygotnosti - LOH („lost of heterozygosity“)

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).



# 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.

## Vnější faktory vs. genetika

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 dědičné syndromy způsobené dědičnými defekty v reparaci DNA

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

<sup>a</sup>Five 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.

<sup>b</sup>Xeroderma 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  $\eta$ .

<sup>c</sup>Ataxia telangiectasia, small number of cases.

<sup>d</sup>Mutant germ-line alleles of *BRCA1* and *BRCA2* together may account for 10–20% of identifiable human familial breast cancers.

<sup>e</sup>An exonuclease digests DNA or RNA from one end inward; a DNA helicase unwinds double-stranded DNA molecules.

<sup>f</sup>Nine genes have been cloned and at least eleven complementation groups have been demonstrated. Complementation group J encodes the BACH1 protein, the partner of *BRCA1*.

<sup>g</sup>The *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.

# 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 zářením). 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 neurodegenerativní 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**.

# Kontrolní otázky k tématu

- Jaké základní fáze rozeznáváme v procesu karcinogeneze a čím jsou charakterizovány?
  - Vyjmenuj faktory, které mohou způsobit iniciaci buňky.
  - Jak se uplatňují v rozvoji nádorů tzv. negenotoxické faktory a mechanismy?
  - Co znamená kontaktní inhibice růstu buněk?
  - V jakém smyslu se z hlediska růstových signálů mění nádorová populace?
  - Jak funguje autokrinní regulace a jaký je její význam?
  - Jaké jsou základní znaky nádorové populace?
  - Jak je definována mutace?
  - Na jaké úrovni mohou mutace vznikat?
  - V jakém smyslu může být určitý protein změněn mutací?
  - Jaký je rozdíl mezi aktivační a inaktivační mutací?
  - Jaké jsou 2 hlavní mechanismy vzniku mutací v buňkách?
  - Poruchy jakých typů reparace DNA jsou zásadní při vývoji nádorů?
  - Jakou úlohu hrají při vzniku mutací DNA polymerázy?
  - Jak vzniká genetická nestabilita a které mechanismy k ní přispívají?
  - Co jsou to mikrosatelity a jakou úlohu hrají v nádorech?
  - Co je to genová amplifikace a její význam?
  - Co je aneuploidie a co k ní přispívá?
  - Jakou roli hraje ztráta heterozygotnosti u nádorového onemocnění?
  - Vysvětlete pojem klonální selektivita a jeho význam v rozvoji nádoru?
  - Které základní vlivy a jejich interakce se uplatňují při vzniku a rozvoji nádorového onemocnění?
  - Charakterizujte lidské dědičné syndromy predisponující k nádorům způsobeným UV zářením.
- Jaký je mechanismus vzniku nádorů u takto postižených jedinců?
- V jakých buňkách se nacházejí mutace v případě dědičných nádorů?