

# Úvod do nádorové biologie

**Masarykův onkologický ústav, Brno**



**Roman Hrstka**

hrstka@mou.cz

# 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:

## (A) podle schopnosti infiltrovat se do jiné tkáně

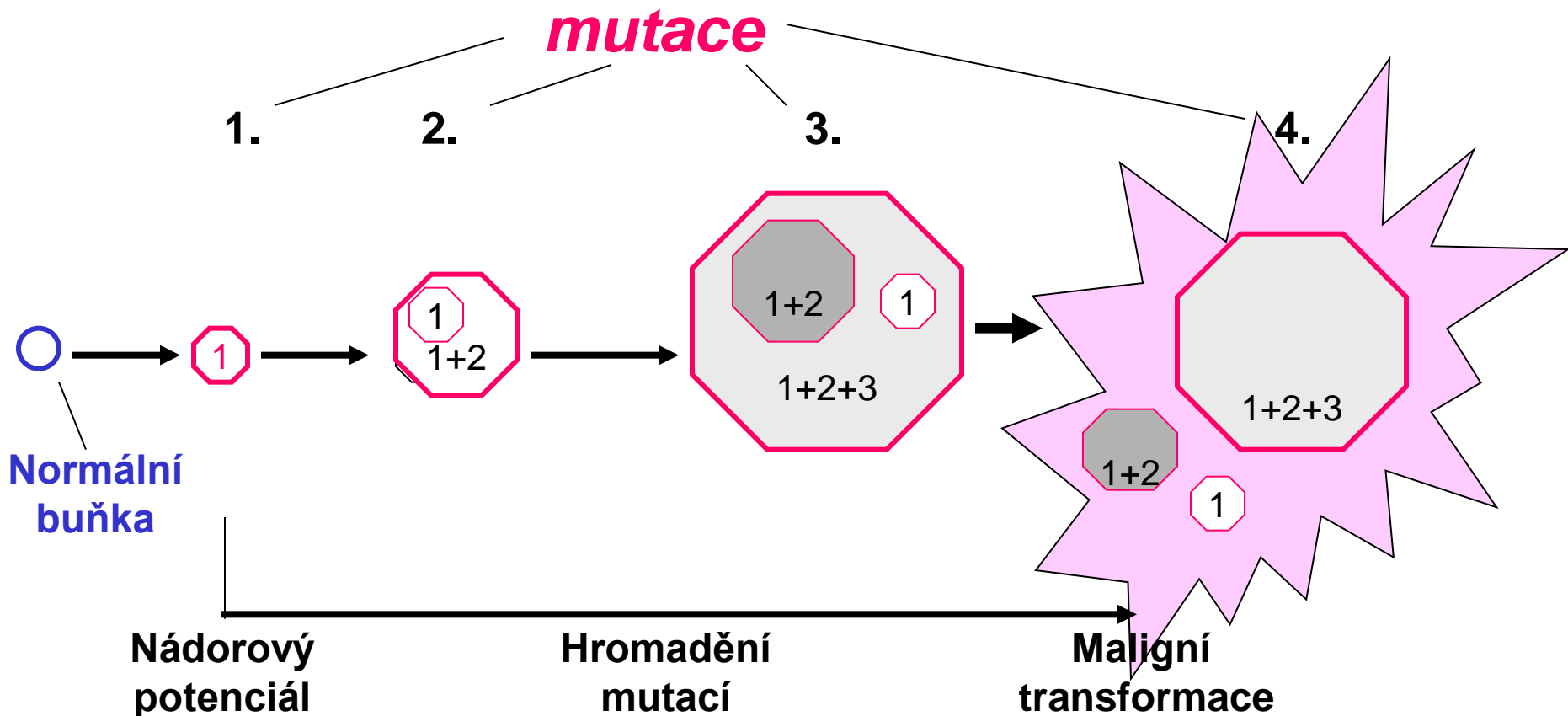
- **Pseudotumory:** růstem napodobují tumory (cysty, hyperplasie, polypy)
- **Prekancerózy:** morfologicky alterovaná tkáň s vyšším rizikem vzniku nádoru (CIN, Barretův epitel)
- **Benigní (nezhoubné):** zůstávají v místě svého vzniku, nemigrují, neinvadují jiné tkáně.
- **Maligní (zhoubné):** pronikají do okolních tkání a prostřednictvím krevního a lymfatického systému do celého těla, v nových tkáních vyvolávají tvorbu sekundárních nádorů (metastází)

## (B) podle původu

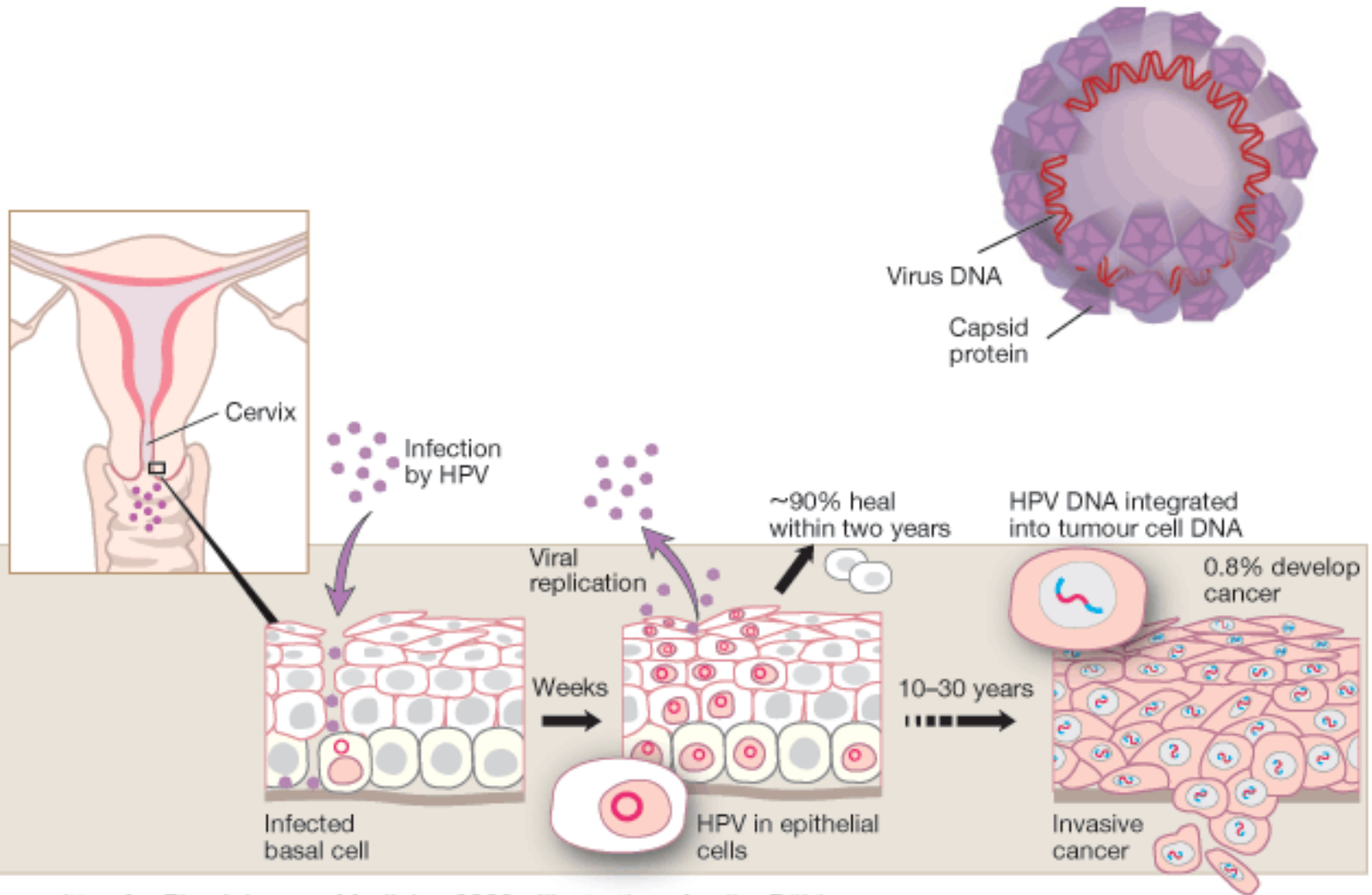
- **Karcinomy:** z epiteliálních buněk (~ 90% nádorů)
- **Sarkomy:** z pojivových tkání (< 1% onemocnění)
- **Leukemie:** z hematopoetických buněk

# Kancerogeneze

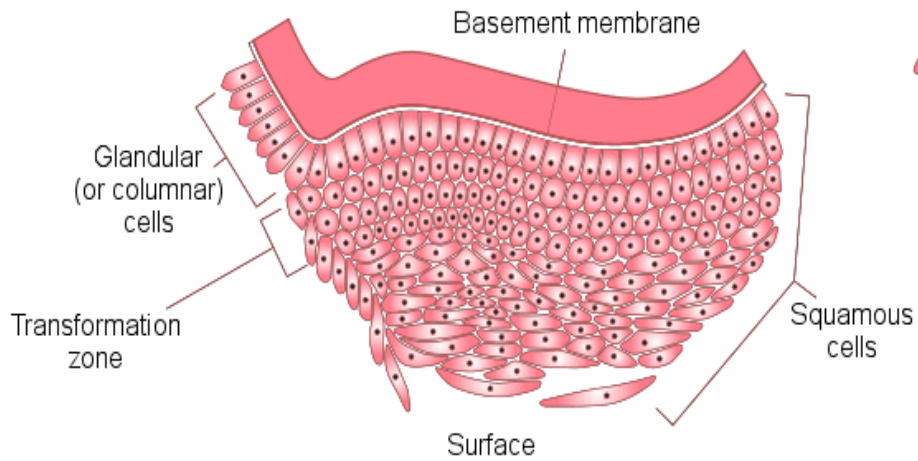
- je proces vzniku a vývoje nádoru
- je vícestupňový proces
- podstatou kancerogeneze je postupné hromadění genetických (a epigenetických) změn



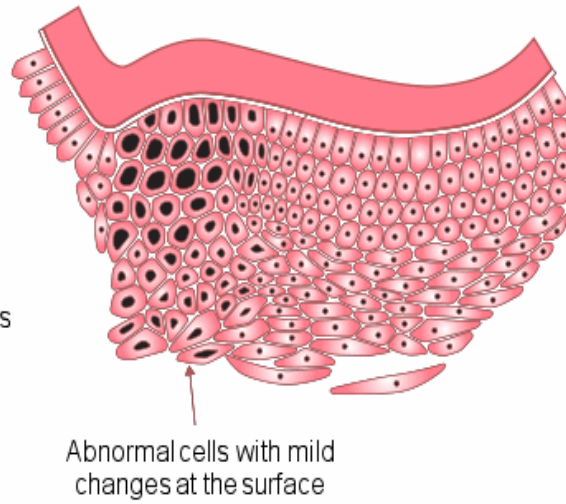
# Produktivní versus transformující infekce



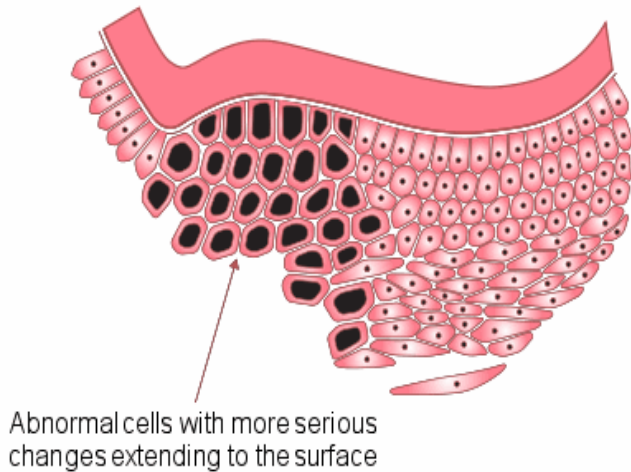
### Normal cells



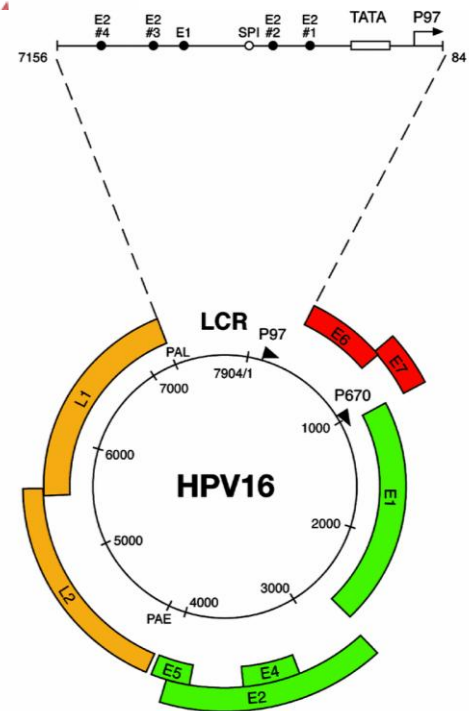
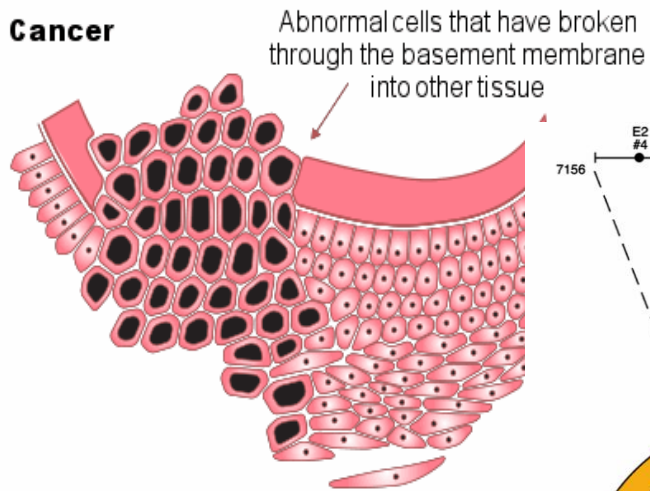
### Low-grade changes



### High-grade changes

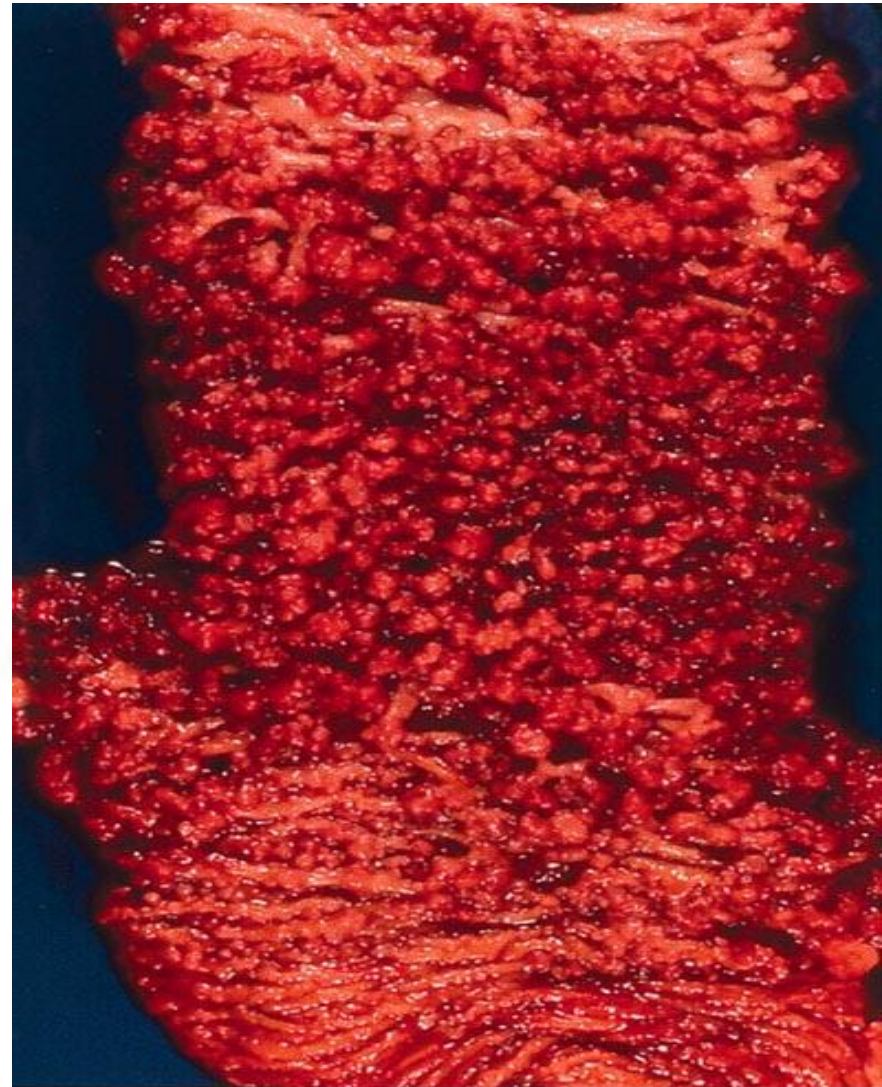
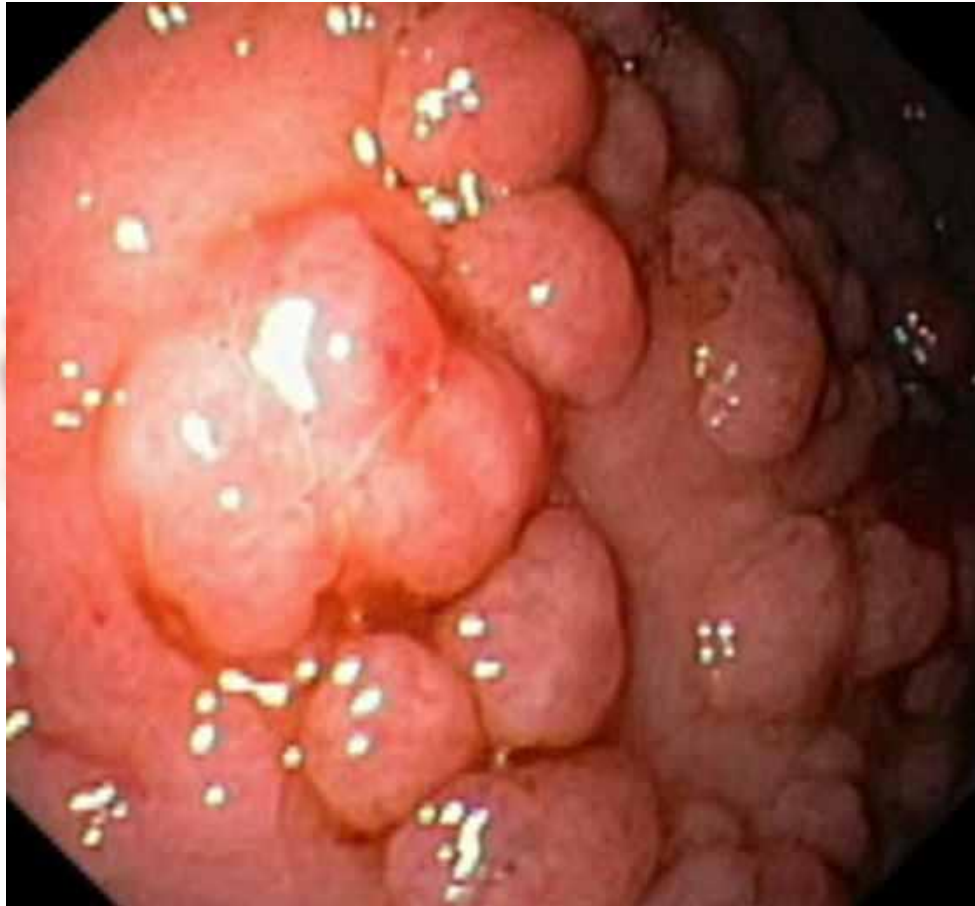


### Cancer

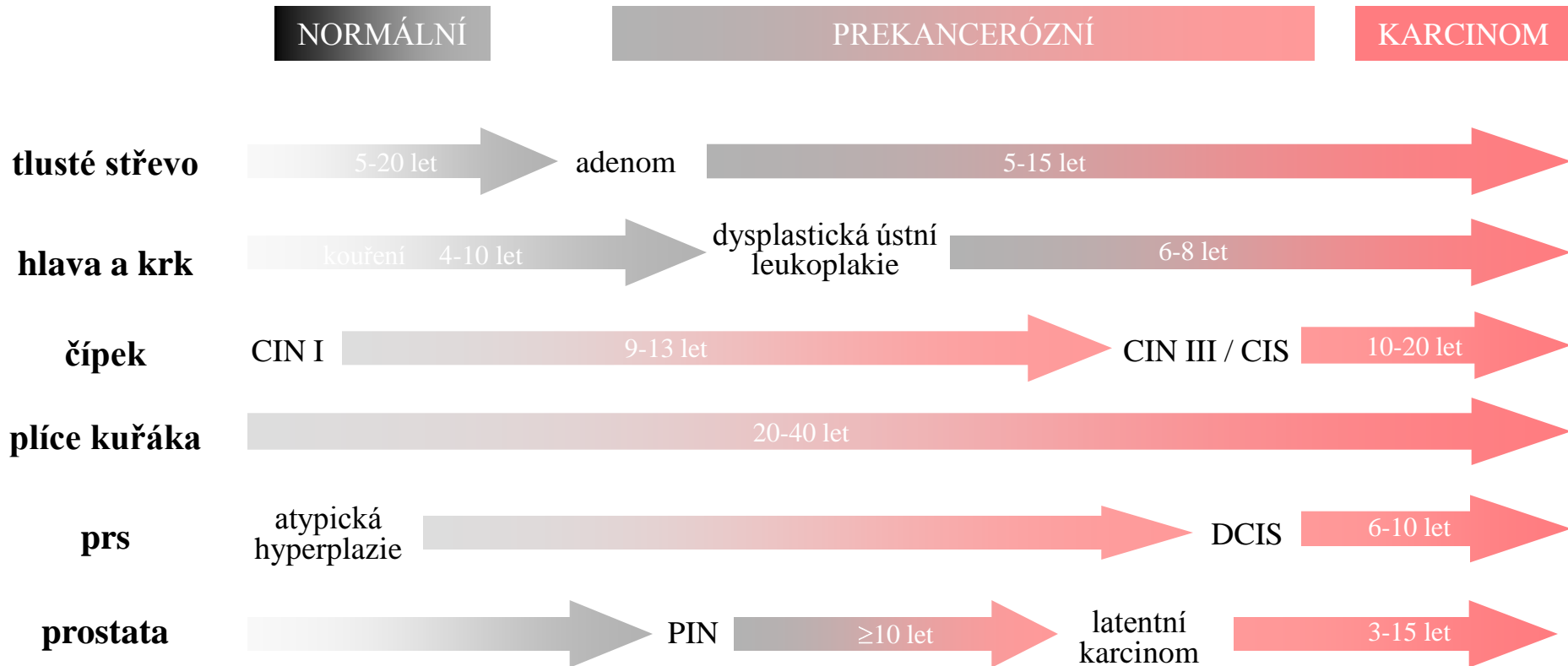
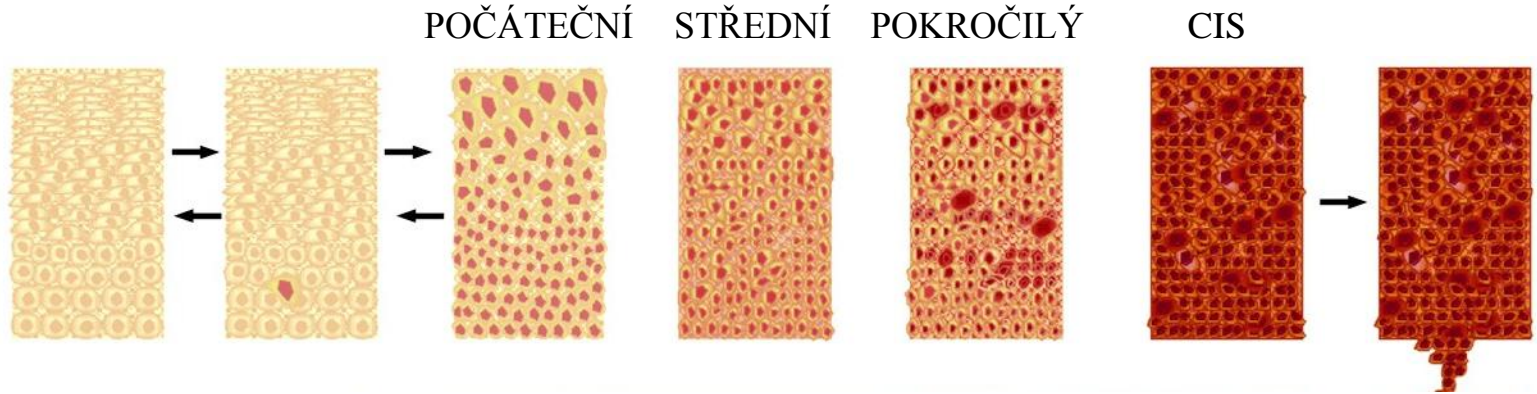




# Molekulární model iniciace nádoru (familiární adenomatózní polypóza)

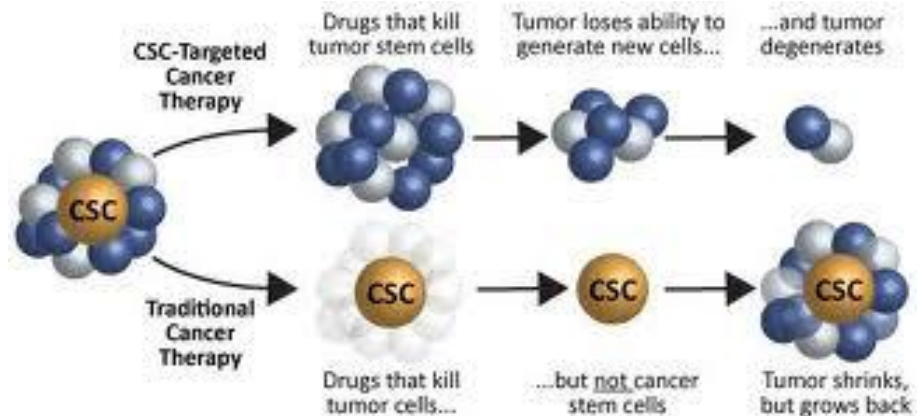
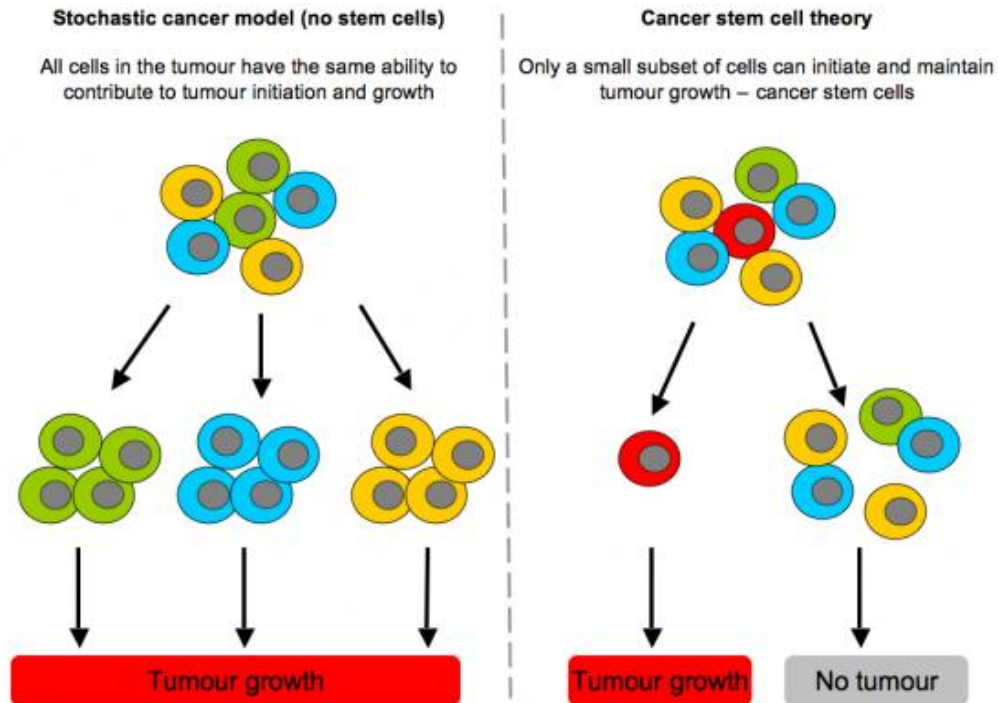


# Neoplastická transformace





# Klonalita nádorů - CSC



# Onkogeny

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

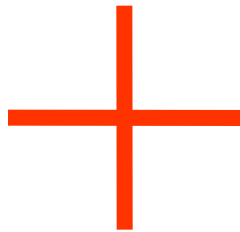
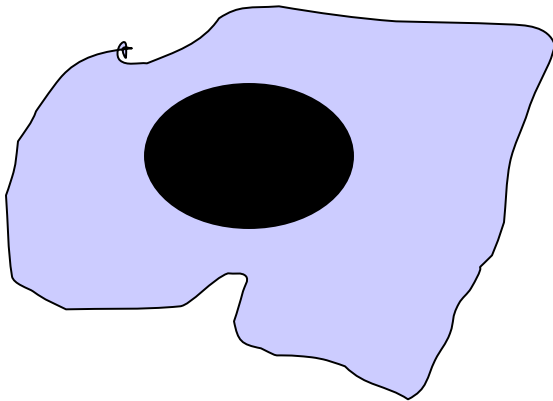
**Onkogen** je protoonkogen pozměněný nebo aktivovaný tak, že vyvolává neoplastickou transformaci buňky.

**Mutace protoonkogenů** jsou:

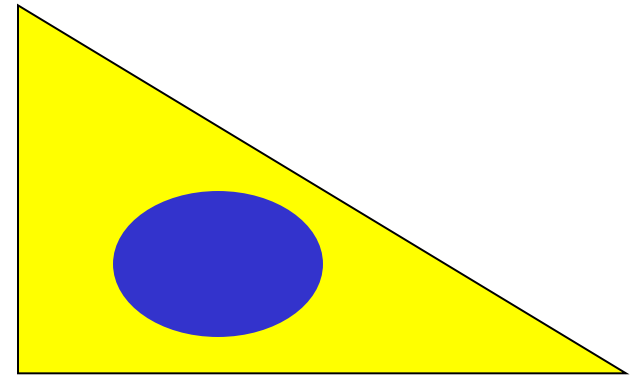
- aktivující
- dominantní
- vyskytují se v somatických buňkách a jen výjimečně v zárodečných buňkách [Vrozená citlivost k medulárnímu thyroïdnímu karcinomu (MTC) je typickým příkladem hereditárního karcinomu způsobeného mutací *RET* protoonkogenu. → prediktivní genetické vyšetření]

# I. Fúze buněk

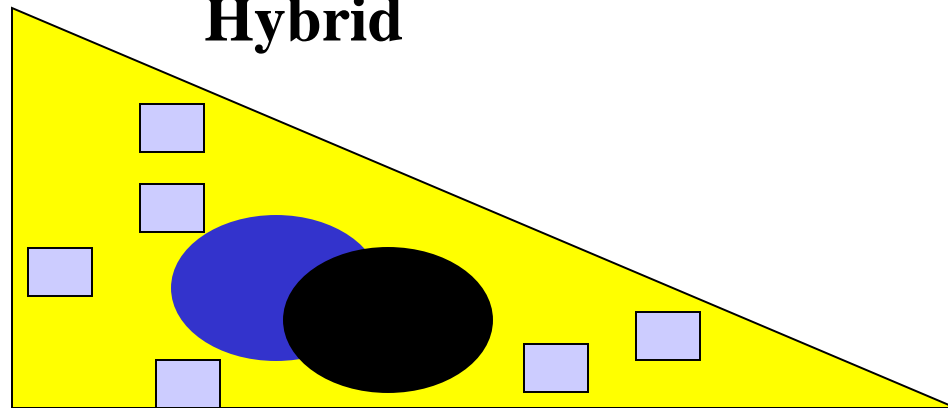
**Nádorová buňka**



**Normální buňka**



**Hybrid**



# Nádorové supresory

Produkty genů pro nádorové supresory

(**antionkogeny**) v normálních buňkách nevyvolávají proliferaci, ale naopak ji potlačují a udržují buňky ve stádiu 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



# Objevení proteinu p53

(Reprinted from Nature, Vol. 278, No. 5701, pp. 261-263, March 15, 1979)

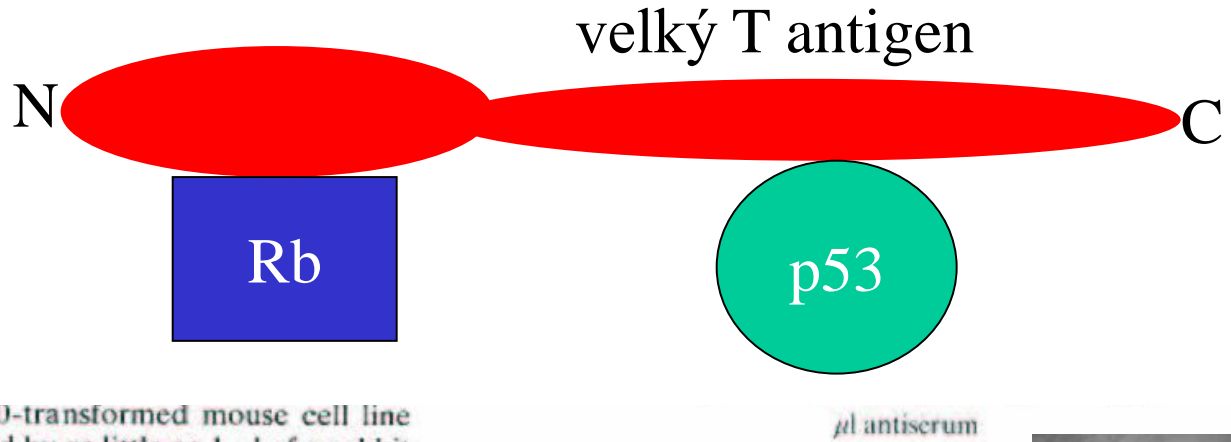
© Macmillan Journals Ltd., 1979

## T antigen is bound to protein in SV40-transformed cells

THE early region of the small SV40 (SV40), is known to code for the T and t antigens ('small t' and 'large t') which are expressed in cells transformed by SV40.



SV40-transformed mouse cell line  
detected by as little as 1  $\mu$ l of a rabbit



Virology. **1979 Oct 30**; 98(2):308-18.

The SV40 A gene product is required for the production of a 54,000 MW cellular tumor antigen. Linzer DI, Maltzman W, Levine AJ.

# Proč nebyla od počátku objevení proteinu p53 jasná jeho funkce?

MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, Feb. 1988, p. 531-539  
0270-7306/88/020531-09\$02.00/0  
Copyright © 1988, American Society for Microbiology

1988

Vol. 8, No. 2

## Activating Mutations for Transformation by p53 Produce a Gene Product That Forms an hsc70-p53 Complex with an Altered Half-Life

C. A. FINLAY,<sup>1</sup> P. W. HINDS,<sup>1</sup> T.-H. TAN,<sup>1</sup> D. ELIYAHU,<sup>2</sup> M. OREN,<sup>2</sup> AND A. J. LEVINE<sup>1\*</sup>

*Department of Molecular Biology, Princeton University, Princeton, New Jersey 08544,<sup>1</sup> and Weizmann Institute of Science, Rehovot 76,100, Israel<sup>2</sup>*

Received 21 September 1987/Accepted 31 October 1987

The 11-4 p53 cDNA clone failed to transform primary rat fibroblasts when cotransfected with the *ras* oncogene. Two linker insertion mutations at amino acid 158 or 215 (of 390 amino acids) activated this p53 cDNA for transformation with *ras*. These mutant cDNAs produced a p53 protein that lacked an epitope, recognized by monoclonal antibody PAb246 (localized at amino acids 88 to 110 in the protein) and preferentially bound to a heat shock protein, hsc70. In rat cells transfected with p53 cDNAs, two populations of p53 proteins were detected, PAb246<sup>+</sup> and PAb246<sup>-</sup> p53, respectively. The PAb246<sup>-</sup> p53 had a half-life 4- to 20-fold longer than free p53 (PAb246<sup>+</sup>). This difference was observed in the transformation process. cDNAs for p53 derived from rat cells in cooperation with the *ras* oncogene and produced recombinant clones produced between a Meth A cDNA and a p53 cDNA. A single amino acid substitution at residue 132 in the transformation process. These studies have identified a region of the p53 cDNA which, when mutated, can activate the p53 cDNA. These studies have identified a region of the wild-type sequence is and whether a wild-type p53 gene c

### REVIEW

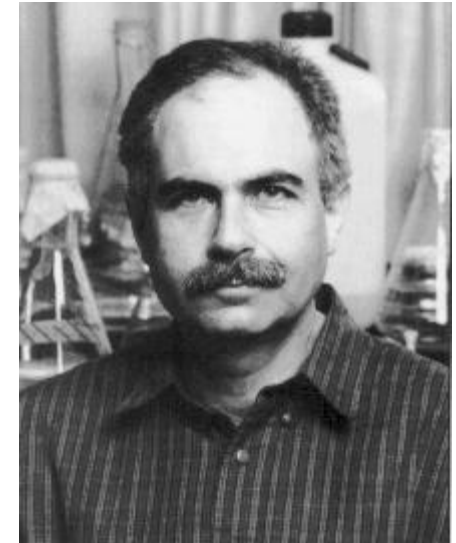
## p53: oncogene or anti-oncogene? 1990

David P. Lane<sup>1</sup> and Sam Benchimol<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Imperial Cancer Research Fund, Clare Hall Laboratories, South Mimms, Potters Bar, Herts EN6 3LD UK; <sup>2</sup>The Ontario Cancer Institute, University of Toronto, Toronto, Ontario, M4X 1K9 Canada

*The products of two groups of DNA tumor viruses bind to p53*

p53, a 375-amino-acid nuclear phosphoprotein, was first detected because it formed a tight complex with the SV40 large-T antigen (Lane and Crawford 1979; Linzer and Levine 1979) and therefore was coimmunoprecipitated with anti-T antibodies from extracts of SV40-transformed cells. This observation revealed the first example of such a complex between a viral oncogene and a host protein and served as a precedent for the discovery of a large number of protein-protein interactions between the products of oncogenes and other proteins. For



frog, chicken, and bony fish. The frog and rodent proteins bind tightly to SV40 large-T antigen, whereas the human and monkey proteins form a much less stable complex. Comparison of the amino acid sequences of all these p53 proteins reveals five blocks of particularly highly conserved sequence (for review, see Jenkins and Sturzbecher 1988). Several of these blocks are important for the interaction with large-T antigen, leading to the suggestion that they may represent sites of interaction with host cell proteins that are mimicked by large-T antigen.

# TP53 is a Tumor Suppressor Gene

**% mice with tumor**



**p53+/+**



**1% at 18 months**



**p53+/-**



**2% at 9 months**



**p53-/-**



**75% at 6 months**

Donehower LA, Harvey M, Slagle BL et al. Nature (1992)

# TP53 a vývoj embrya



**p53 +/+**  
**mdm2 +/+**



**p53 +/+**  
**mdm2 -/-**



**p53 -/-**  
**Mdm2 +/+**



**p53 -/-**  
**Mdm2 -/-**





# Gen a protein p53

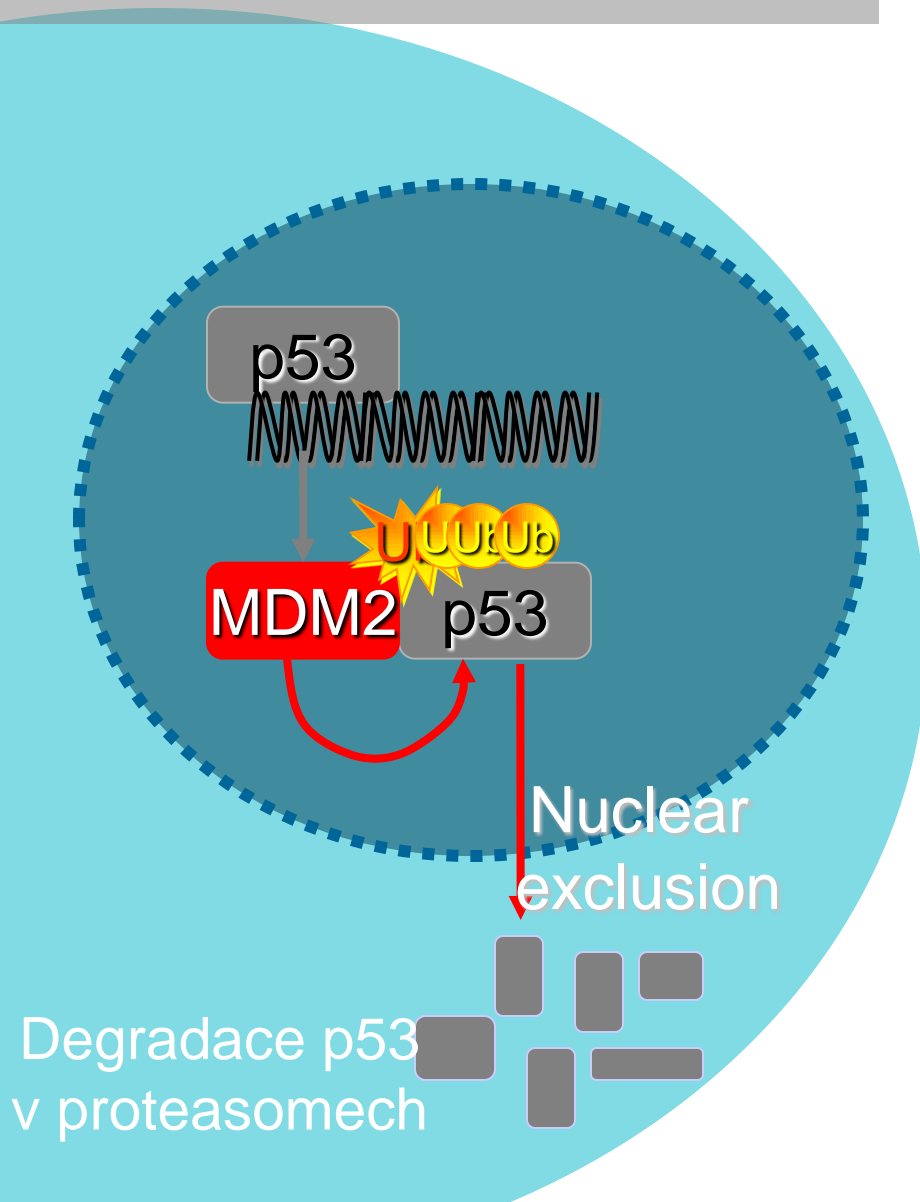
Gen leží na chromozomu 17 (17p13) a má 11 exonů (z nichž první se neexprimuje).

Protein je jaderný fosfoprotein, 393 AA, 53 kDa.

- poprvé popsán jako protein interagující s LT SV40
- jedná se o transkripční faktor
- funguje jako tetramer
- konsensus sekvence: 5' - Pu-C(A/T)(A/T)G-Py - 3'
- mutace u cca 40% všech lidských nádorů

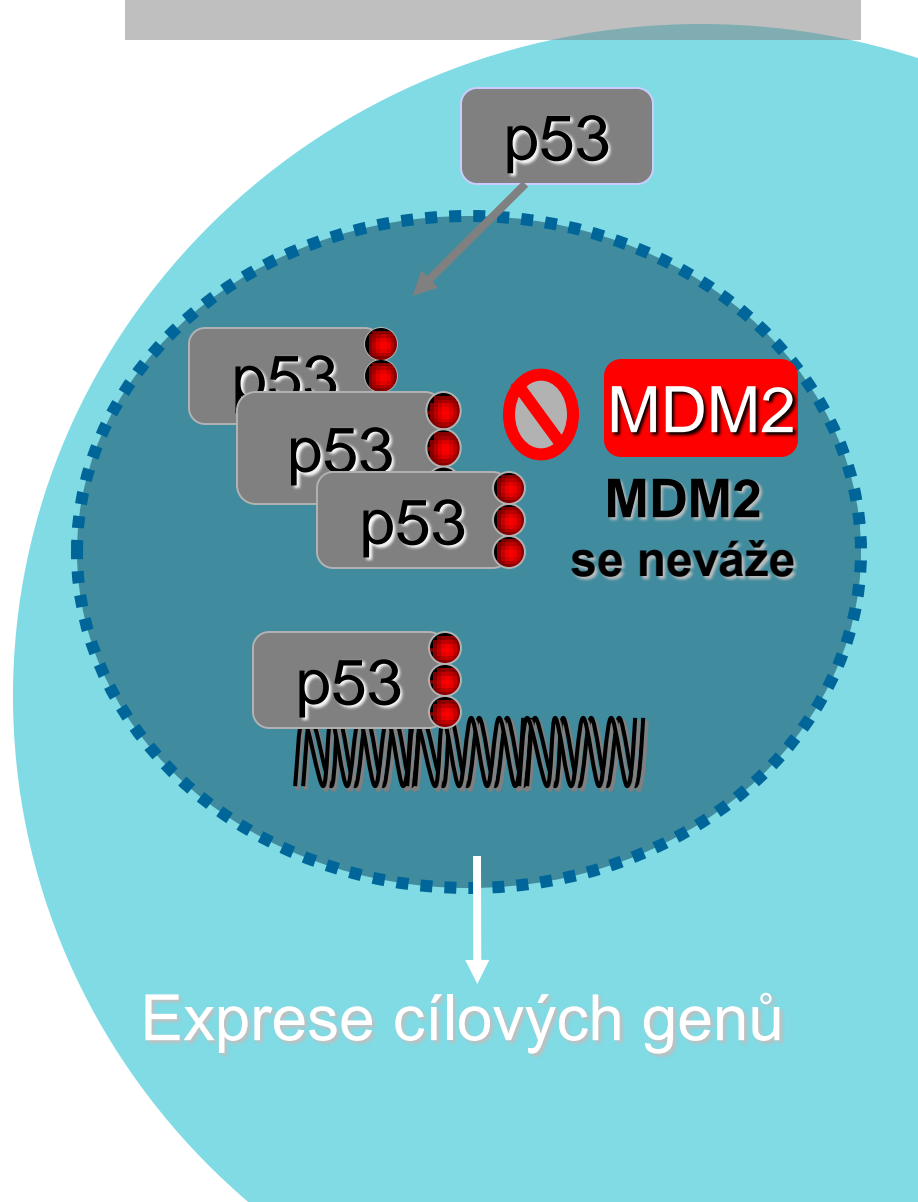
# Fyziologické podmínky

Nízká hladina p53 v jádře

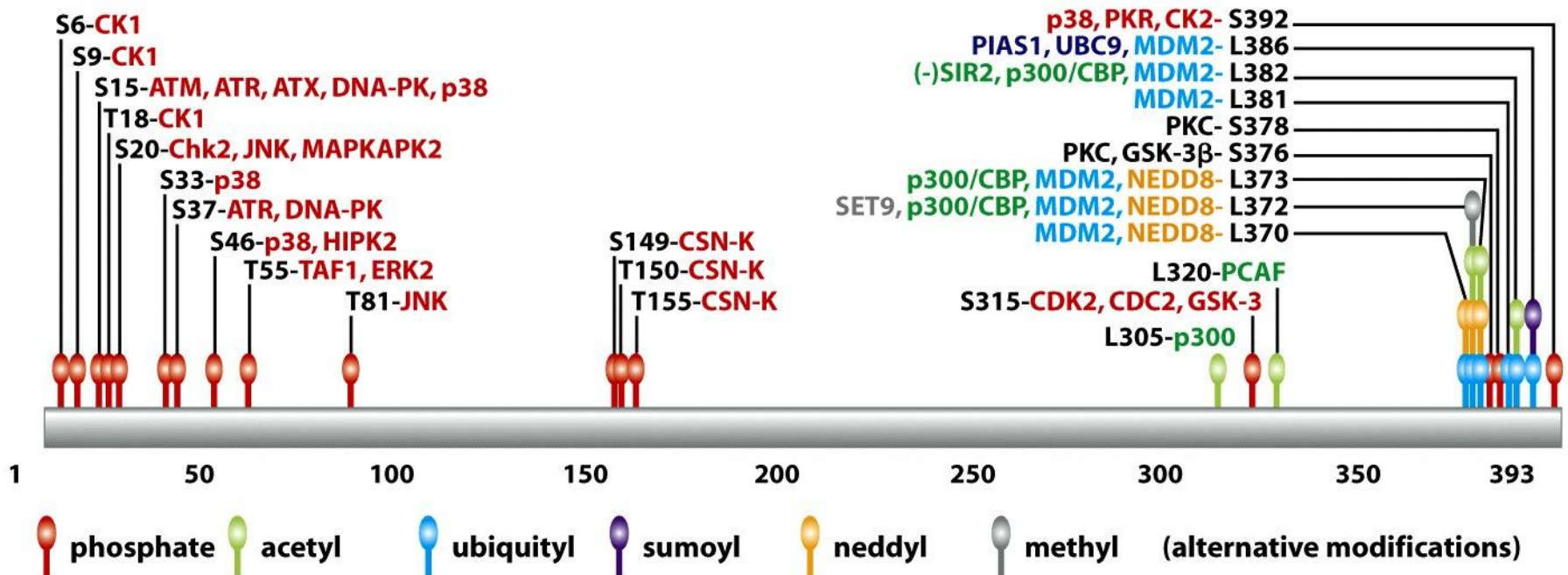


# Stresové podmínky

Zvýšení hladiny p53

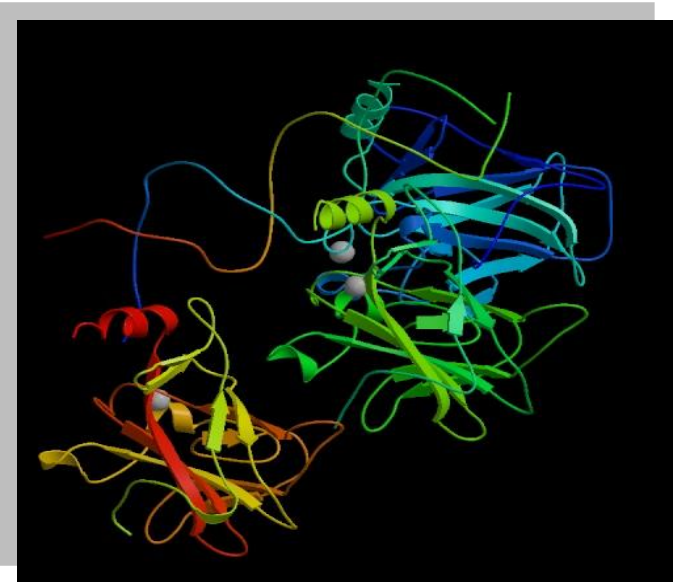
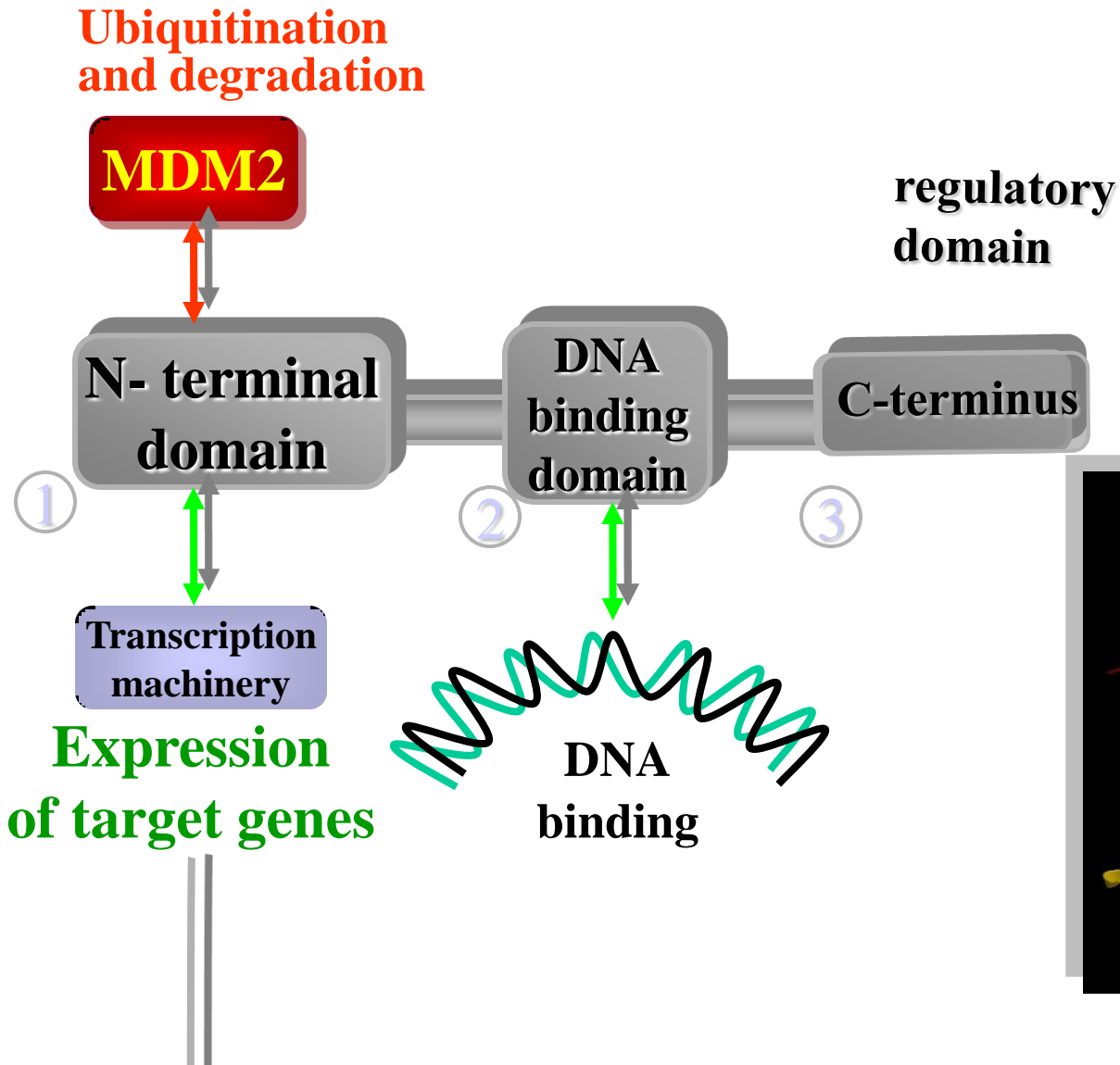


# Posttranslační modifikace p53



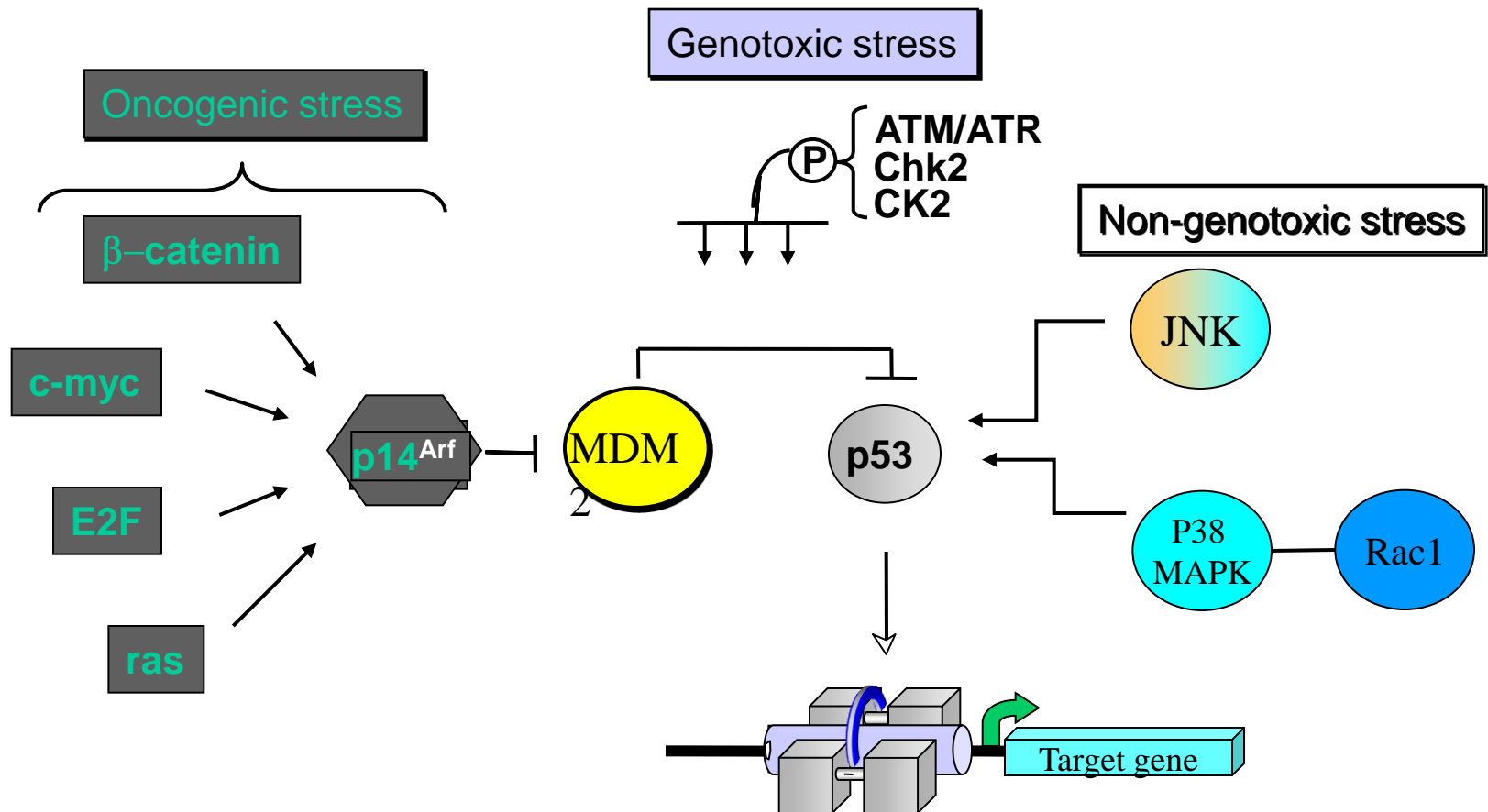
Posttranslační modifikace souvisejí s regulací aktivity a také stability p53.

# Struktura proteinu p53





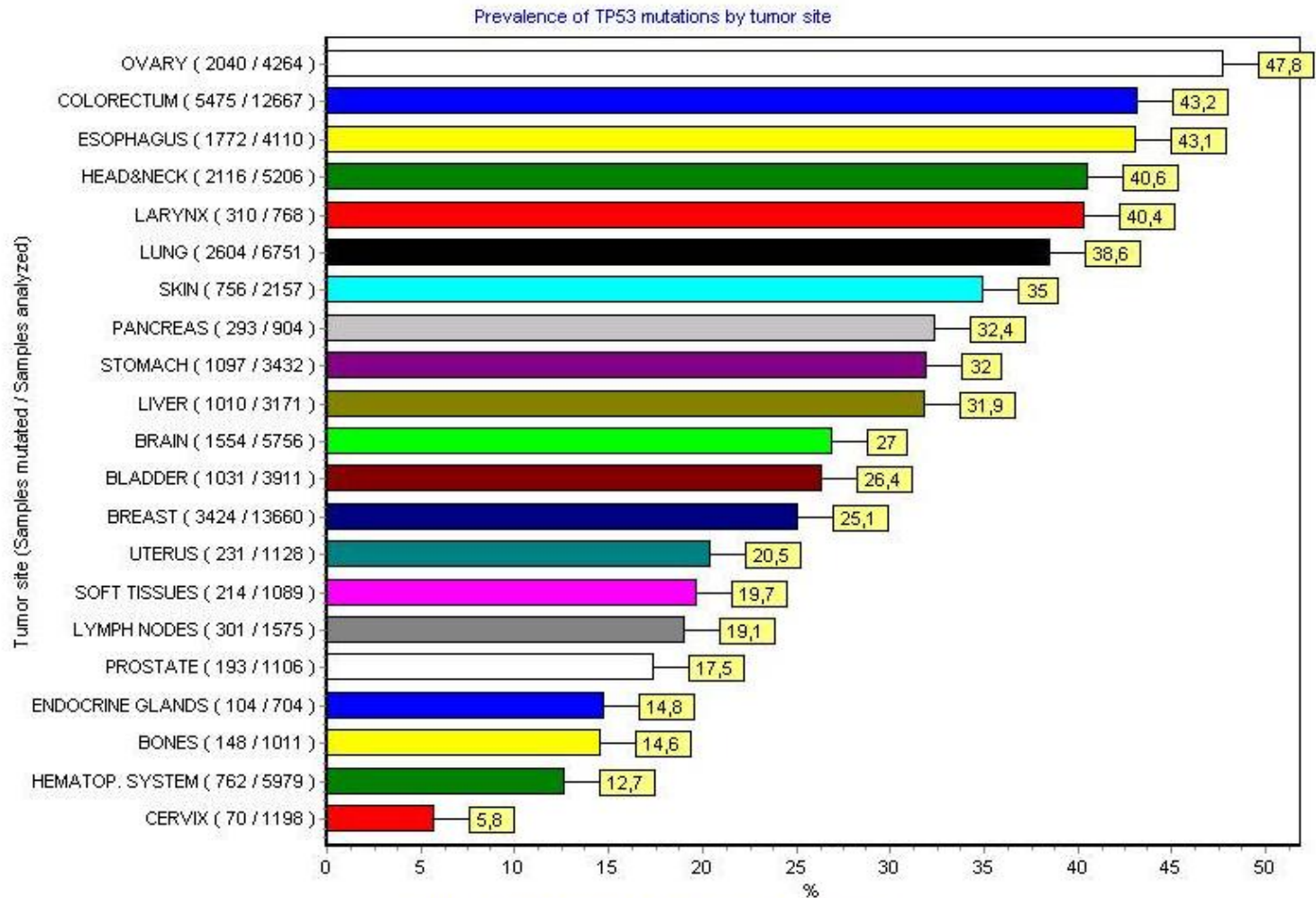
# Pathways of p53 Activation



# Inaktivace p53 v nádorech

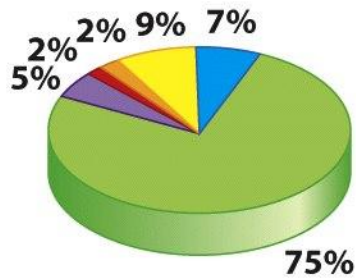
- **Mutace**
- **Jaderná exkluze** (37% zánětlivých karcinomů prsu, více než 90% nediferencovaných neuroblastomů)
- **Interakce s virovými onkoproteiny** (LT SV40, E1B, E6)
- **Amplifikace *mdm2*** (neuroblastomy), případně *mdmX* (gliomy)

# Frekvence mutací p53 v nádorech

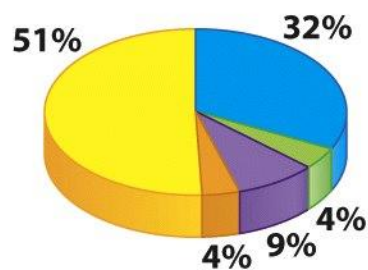


# Typy mutací p53

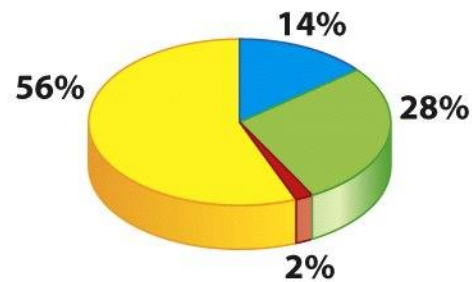
- především bodové missense mutace
- krátké delece a inserce (více v okrajových částech genu)



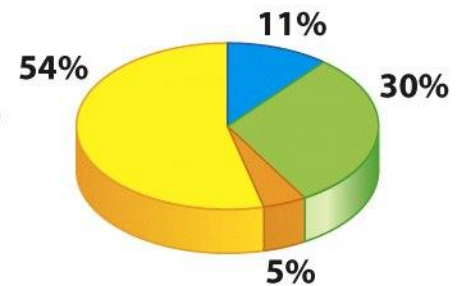
*p53* (n = 15,122)



*APC* (n = 15,451)



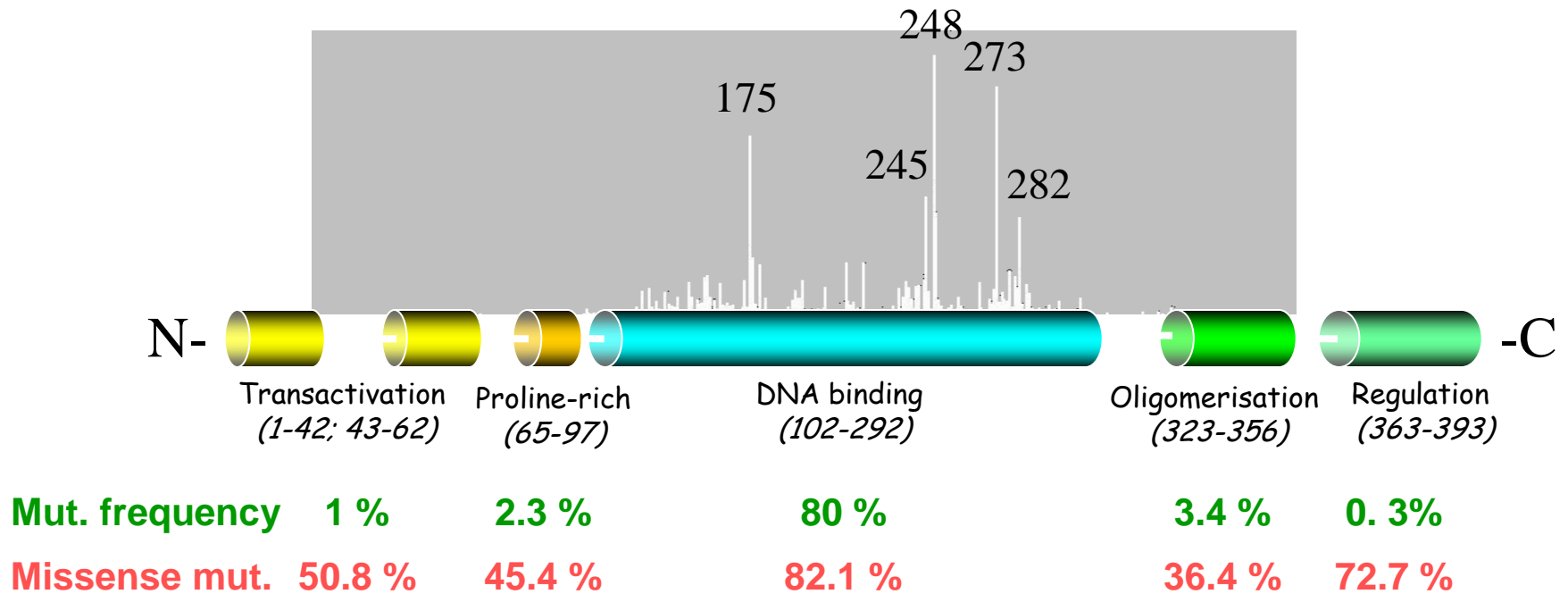
*ATM* (n = 617)



*BRCA1* (n = 3,703)



# Missense Mutations are Clustered in the DNA-binding Domain

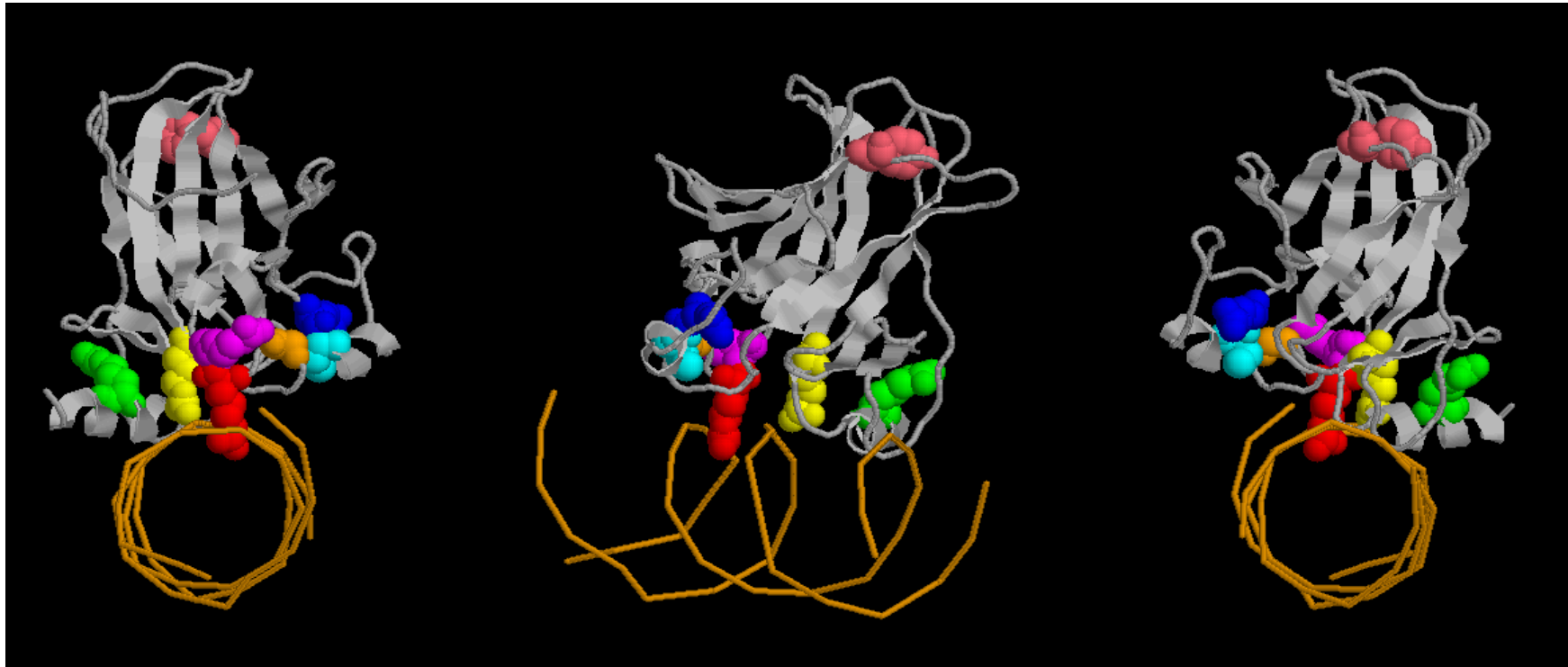


# Most Frequent Mutations Are In The Loops That Make Contact With DNA

0°

90°

180°



Codon:

175

>

248

>

273

>

282

>

249

>

245

>

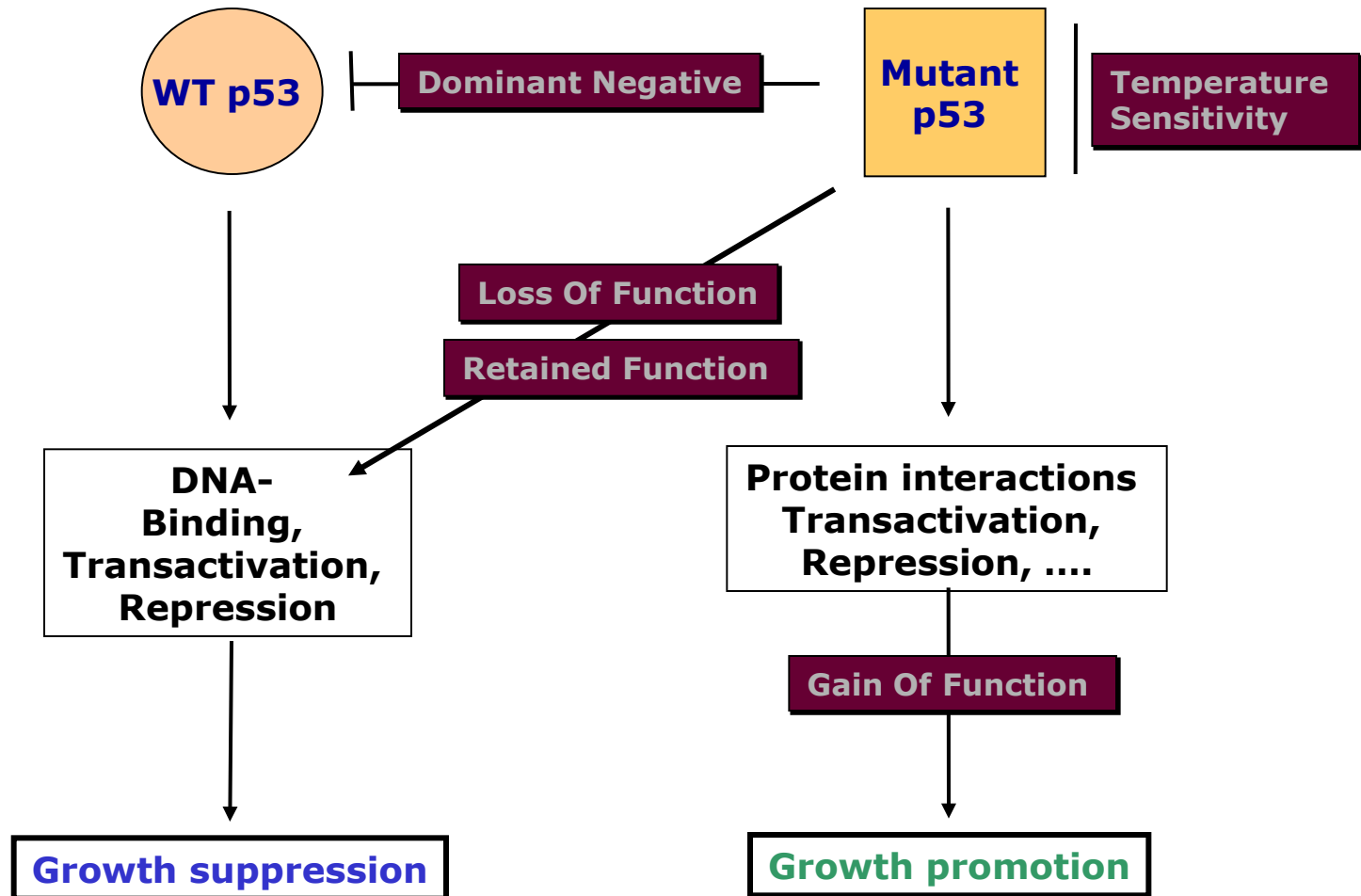
220

>

176

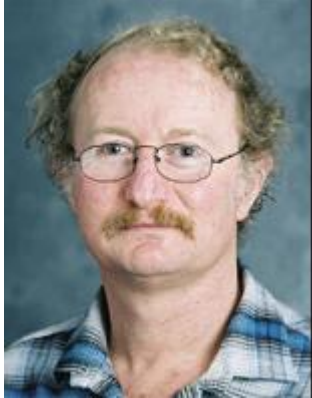


# Biologická aktivita TP53 Mutantů





# První zmínka o pojmu „Gain of Function“ proteinu p53



Different Tumor-Derived p53 Mutants Exhibit  
Distinct Biological Activities

1990

ORNA HALEVY, DAN MICHALOVITZ, MOSHE OREN\*

In its wild-type form, the protein p53 can interfere with neoplastic processes. Tumor-derived cells often express mutant p53. Full-length mutant forms of p53 isolated so far from transformed mouse cells exhibit three common properties in vitro: loss of transformation-suppressing activity, gain of pronounced transforming potential, and ability to bind the heat shock protein cognate hsc70. A tumor-derived mouse p53 variant is now described, whose site of mutation corresponds to a hot spot for p53 in human tumors. While absolutely nonsuppressing, it is only weakly transforming and exhibits no detectable hsc70 binding. The data suggest that the ability of a p53 mutant to bind endogenous p53 is not the sole determinant of its oncogenic potential. The data also support the existence of gain-of-function p53 mutants.

# Definitivní ustálení pojmu „Gain of Function“ pro protein p53

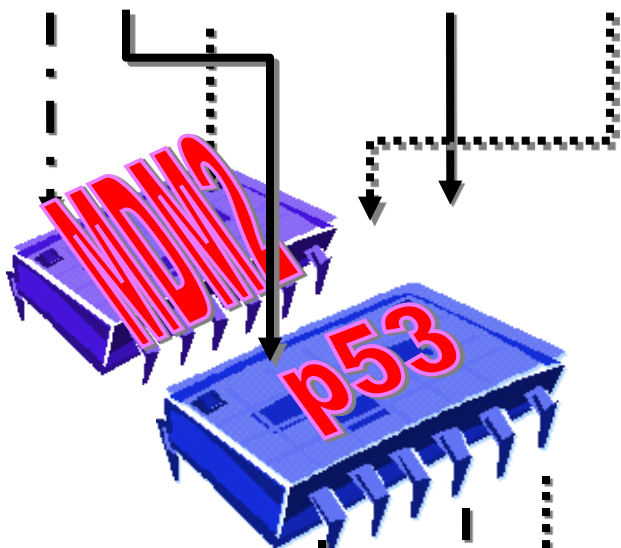


*Nature Genetics* 4, 42 - 46 (1993)

**Gain of function** mutations in p53

Dirk Dittmer<sup>1</sup>, Sibani Pati<sup>1</sup>, Gerard Zambetti<sup>1</sup>, Shelley Chu<sup>1</sup>,  
Angelika K. Teresky<sup>1</sup>, Mary Moore<sup>1</sup>, Cathy Finlay<sup>1</sup> & Arnold J.  
Levine<sup>1</sup> <sup>1</sup>Department of Molecular Biology, Princeton  
University, Princeton, New Jersey 08544-1014, USA

ARF ATM ATR Chk2 Chk1



**Apoptóza**

**Zástava dělení  
Reparace poškození**

**Nekontrolovaná proliferace  
Insuficientní apoptóza**



Hladina p53  
schopnost indukce

Stav genu  
mutace, delece, LOH  
izoformy

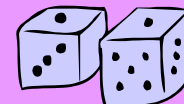
Posttranslační modifikace  
fosforylace  
acetylace

Konformace

DNA vazebná  
kapacita

Interakce s proteiny:  
transkripční aparát  
stresové proteiny  
inhibiční proteiny

**Možnost predikce ?**



**Terapie založená na stavu p53**

# TERAPIE ZALOŽENÁ NA STAVU p53

p53 mutovaný ?

**+** ANO

NE **-**

jaké jsou vlastnosti mutace ?

### Terapie založená na aktivaci p53

chemoterapie  
radioterapie...

p53

posttranslační modifikace

Aktivovatelný

Neaktivovatelný

### Stabilizace struktury proteinu

p53 → p53

PRIMA  
Amifostin  
+  
posttranslační modifikace

### Inhibice HSPs

p53 → p53

Hsp90

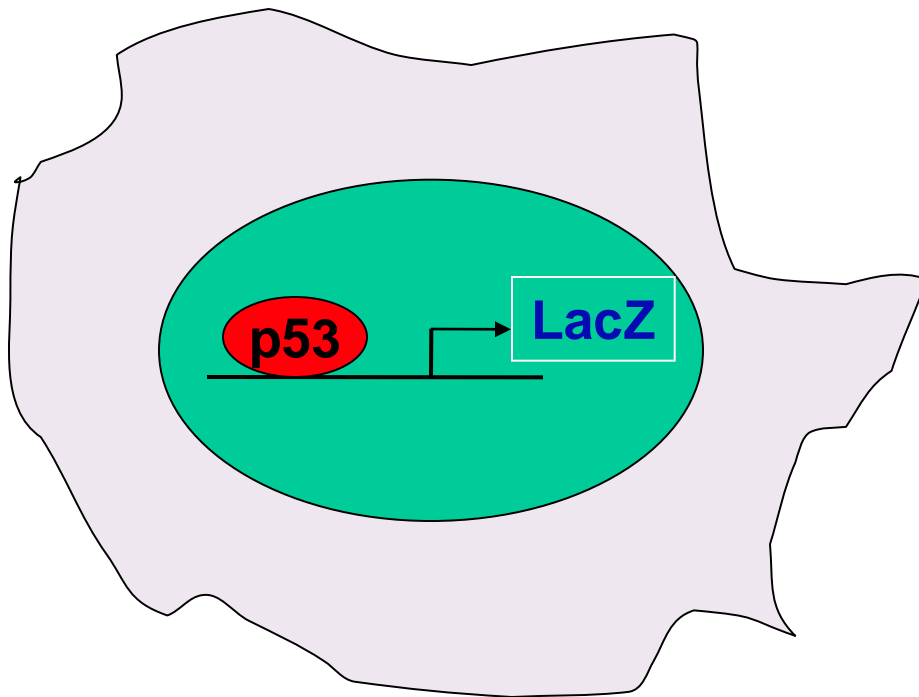
Geldanamycin  
17-allyl-aminogeld.

### Genoterapie

Adenovirus + upravený p53

Snížení  
Gain of function,  
Inhibice HSPs

# Screening malých molekul, které aktivují p53



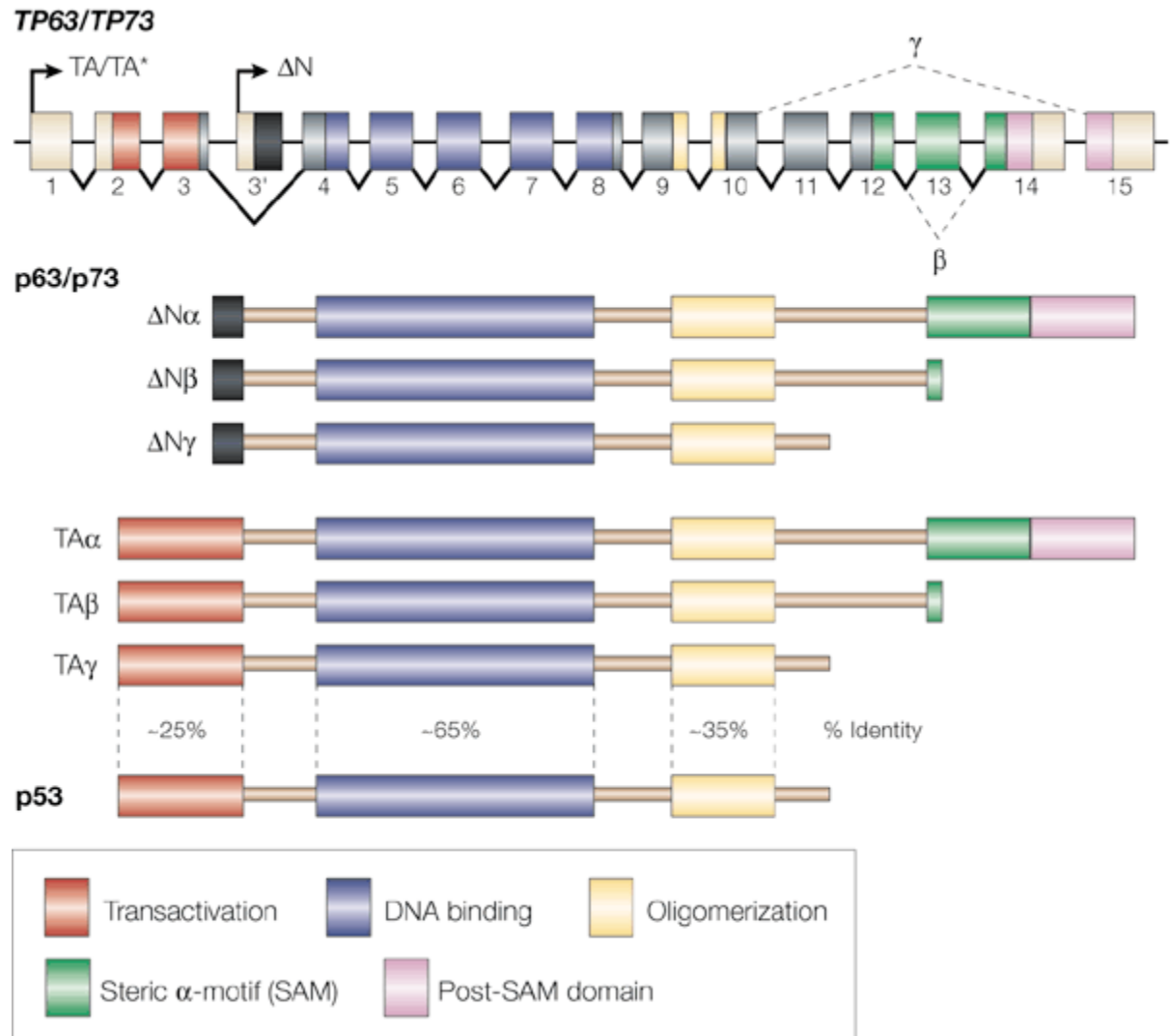
p53 activity

**Over 130,000 compounds screened**

**Lain S., Hollick JJ. et al. Cancer cell (2008)**

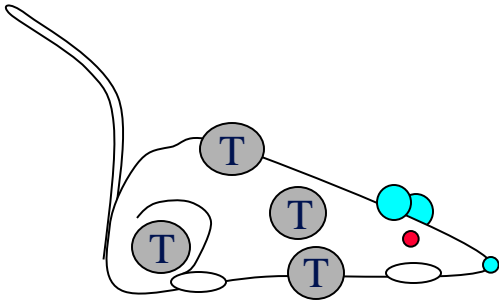


# p63 & p73 isoforms alternativní sestřih a promotory



Yang and McKeon, Nat Rev Mol Cell Biol. (2000)

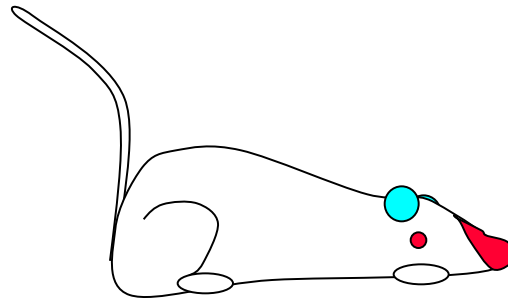
# TP53 rodina: rozdílné funkce



**TP53**

17p13

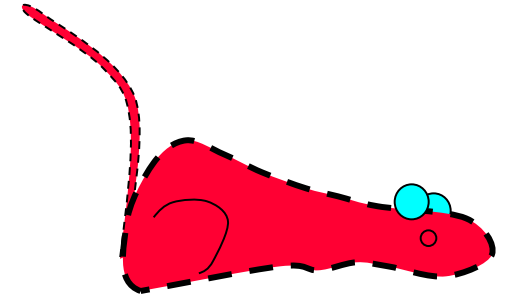
**Zvýšená citlivost ke  
spontánní  
kancerogenezi**



**TP73**

1p36

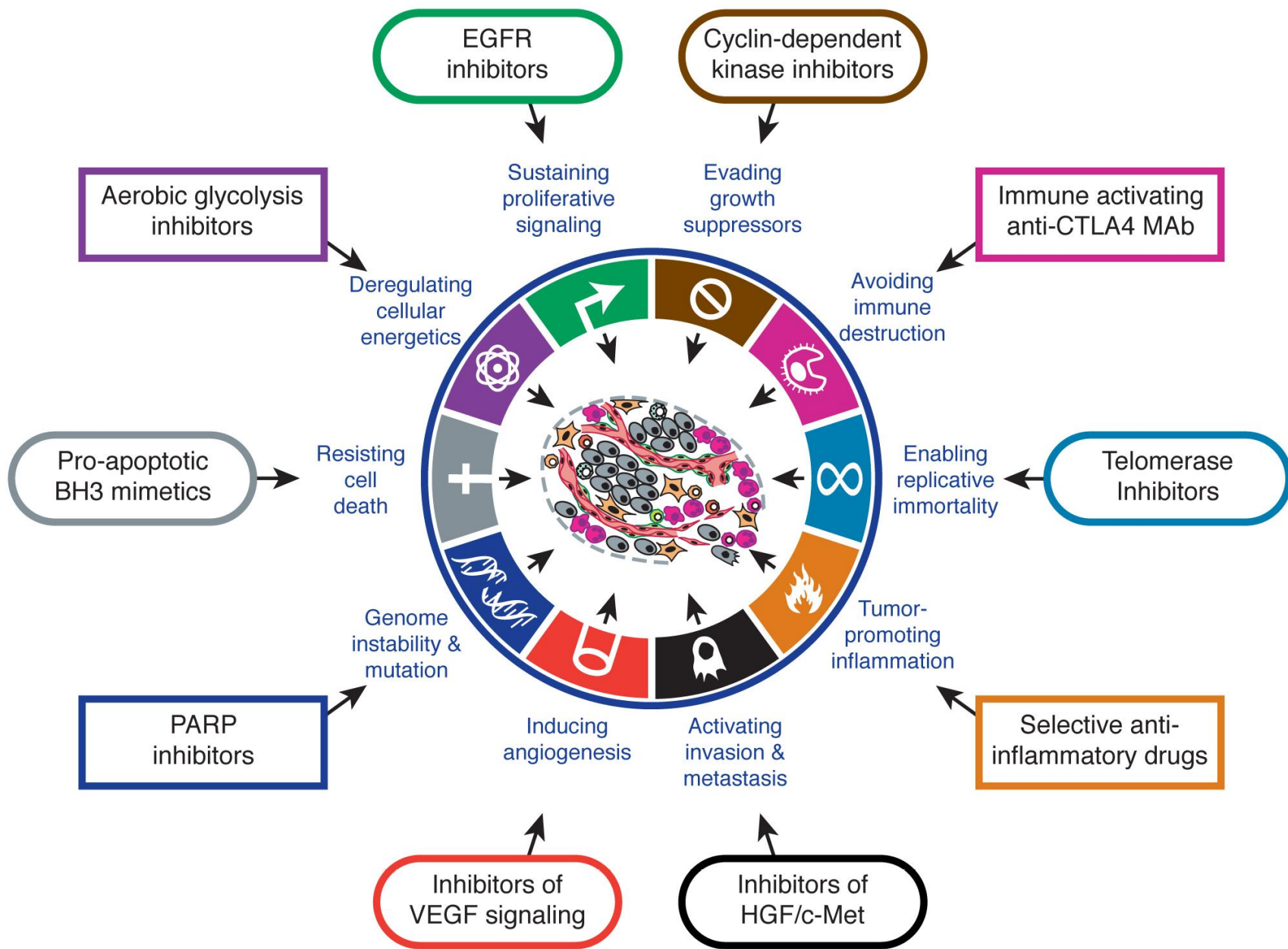
**vážné neurologické defekty  
(hypokampální malformace,  
hydrocefalus) chronické  
infekce a záněty, postižení  
feromonových sensorických  
drah  
Není zvýšená citlivost ke  
spontánní kancerogenezi**



**TP63**

3q27-28

**zkrácené končetiny,  
nemají vlasové folikuly,  
zuby, prsní, slzné a  
slinné žlázy**



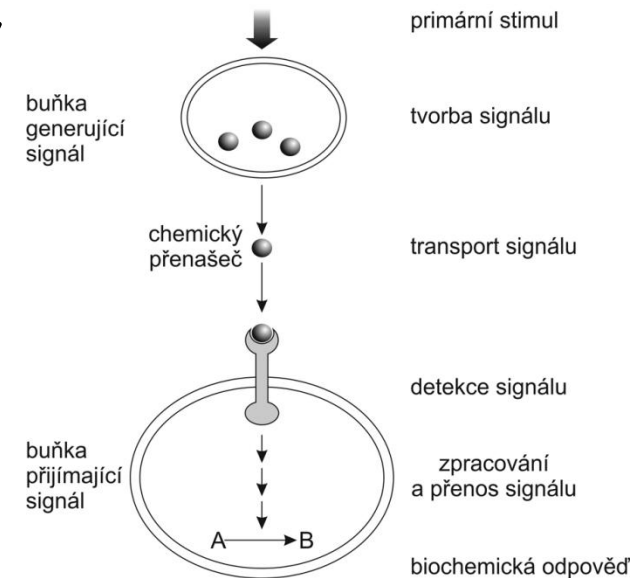
Hanahan and Weinberg, 2011

# I. Soběstačnost při tvorbě růstových signálů

Normální buňka vyžaduje mitogenní růstové signály

x

Nádorová buňka vykazuje výrazně redukovanou závislost na exogenních růstových stimulech.

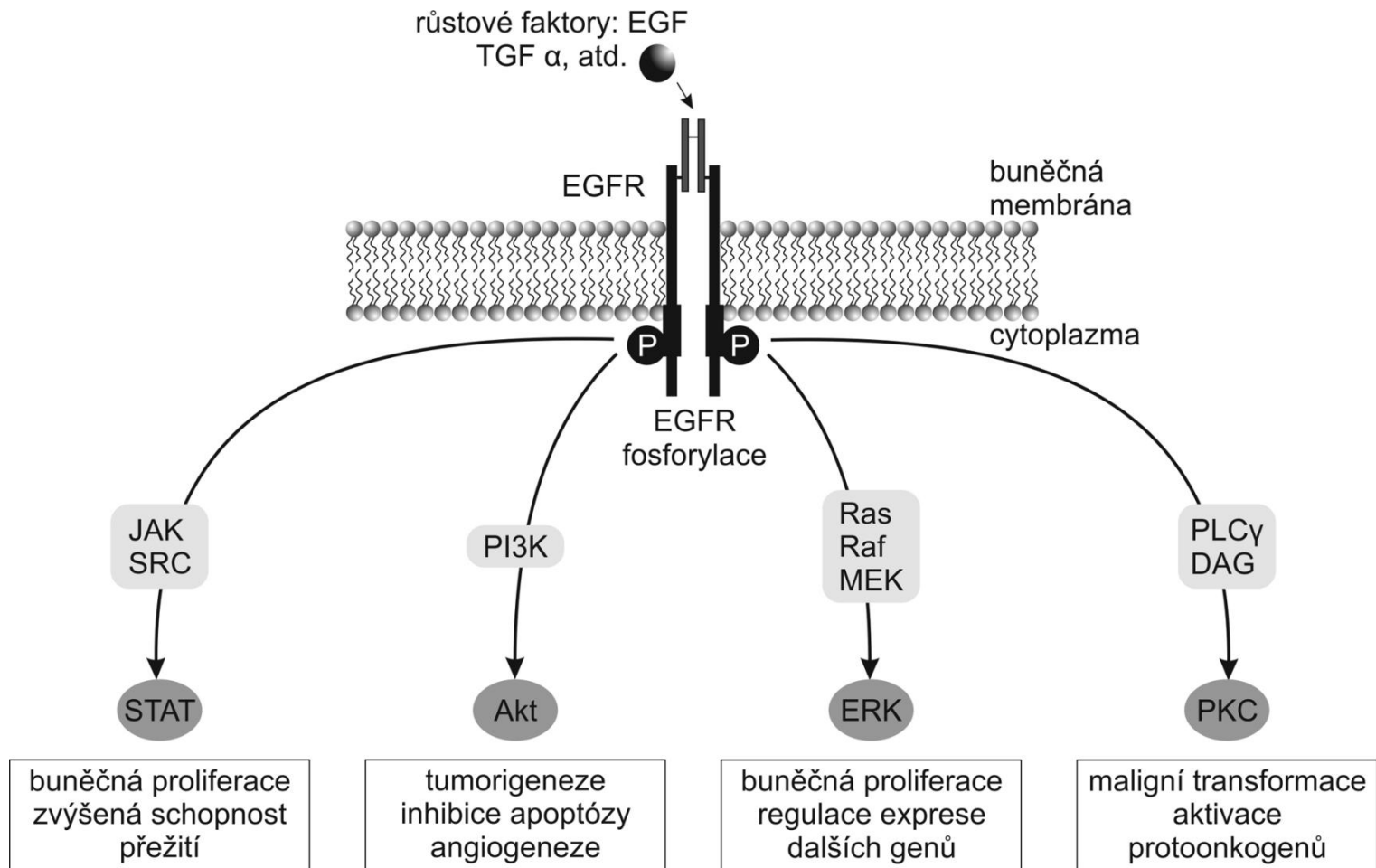


## Strategie:

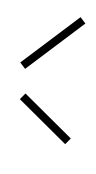
- Tvorba vlastních růstových faktorů
  - Receptory na buněčném povrchu
  - Alterace v „downstream“ signalizaci
- Zesílená exprese  
Strukturní změny  
„Přepnutí“ integrinů

# Receptory růstových faktorů

Receptory po vazbě příslušného specifického faktoru přenášejí růstový signál jednou nebo více kaskádami signální transdukce. Některé povrchové buněčné receptory mají jako integrální součást tyrozinkinázu ve své cytoplasmatické doméně. Geny těchto receptorů se stávají onkogenními, když po mutaci zůstávají receptory aktivní i v nepřítomnosti navázaného ligandu.



# Hormonální receptory

- Na povrchu buněk (transmembránové) i uvnitř  
peptidové (G-spřážené receptory)
- Dělíme na  steroidní (obv. solubilní proteiny)

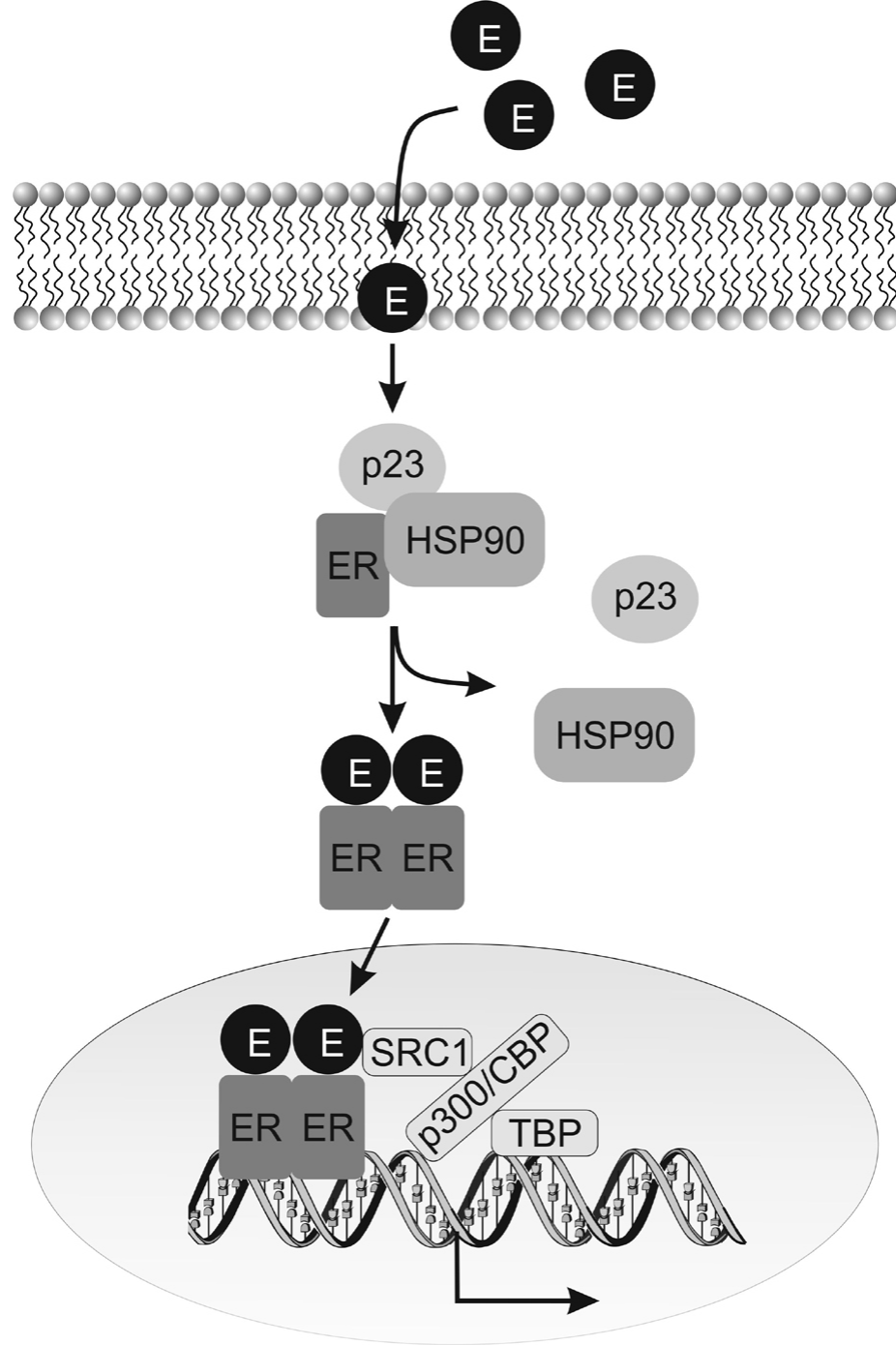
## Estrogenní receptory:

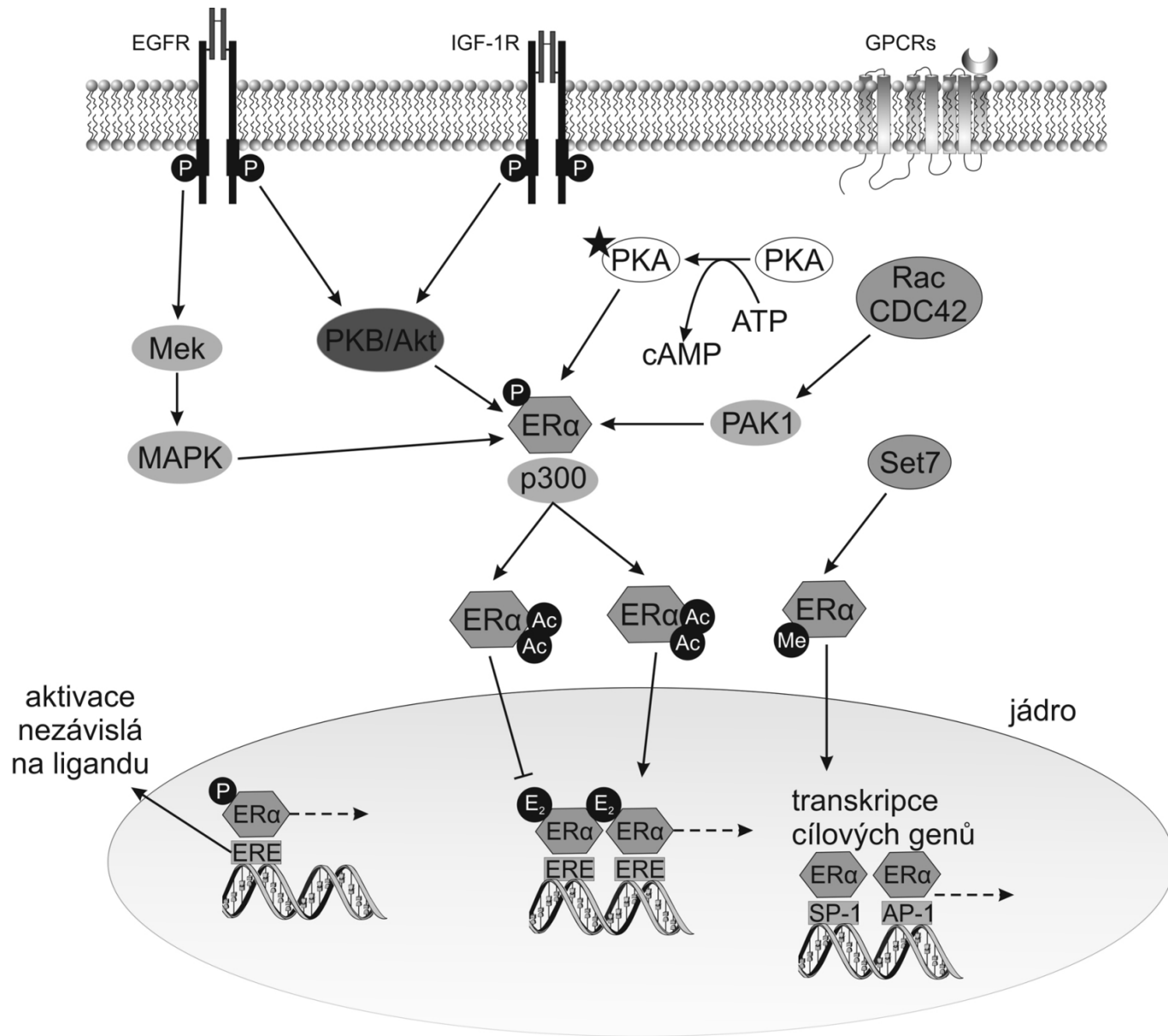
2 varianty: - G-spřážený receptor (GPR30) - syntéza PIP3  
- nukleární hormonální receptor

**Genomicky**  
vazba na ERE,  
iniciace transkripce

**Negenomicky**  
komplexy s G prot., TK →  
MAPK, PI3K/AKT







<b>E<sub>2</sub></b> estrogen	<b>Ac</b> acetylce	-----> transkripce
<b>Me</b> metylace	<b>P</b> fosforylace	

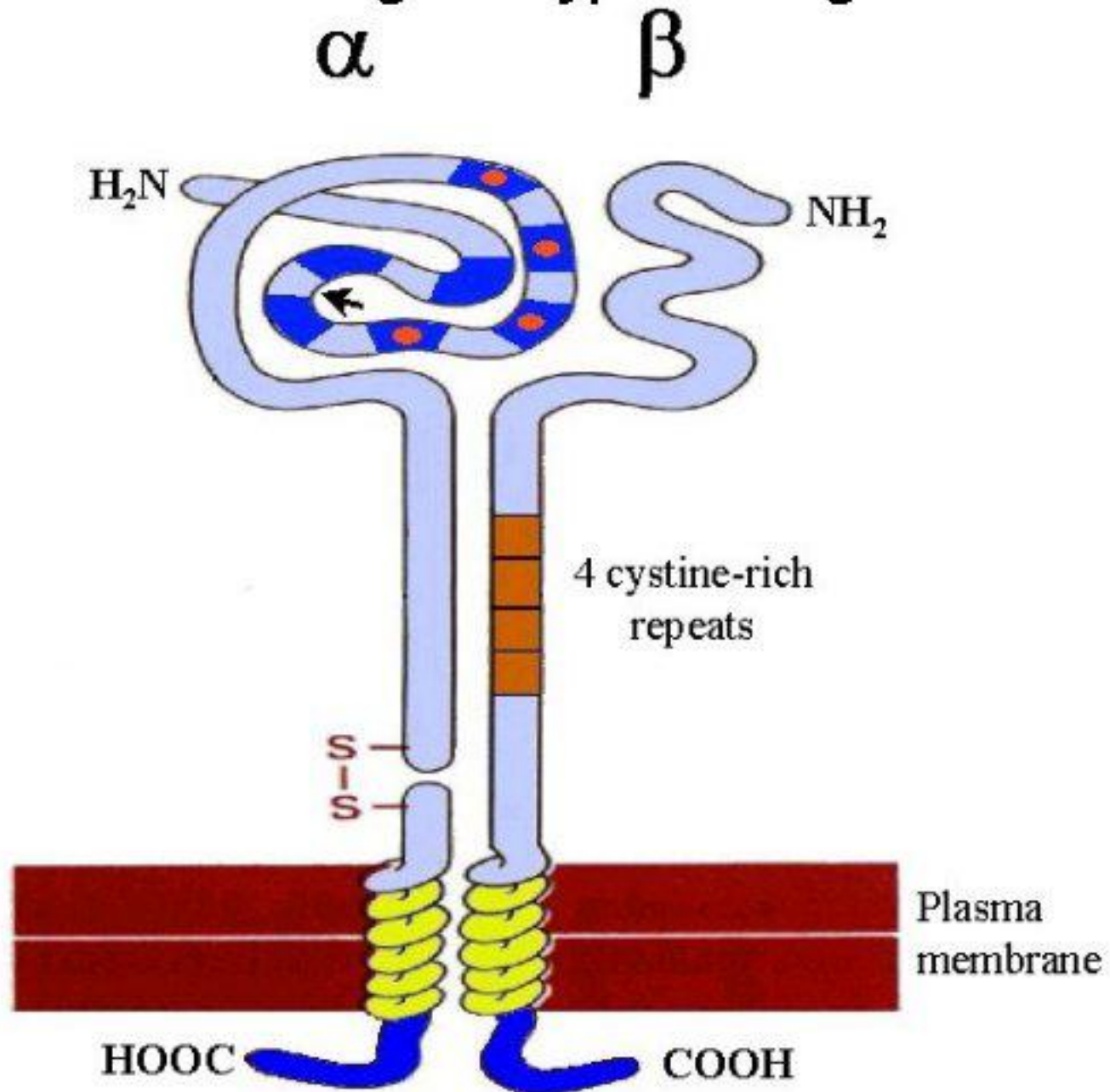
# Extracelulární matrix (ECM)

- Pletivo makromolekul vně buněk (bílkoviny, glykoproteiny, proteoglykany a polysacharidy)
- Poskytuje mechanickou podporu pro buňky
- Ovlivňuje chování, proliferaci a diferenciaci buněk, které jsou s ní v kontaktu
- Hlavními receptory buněk, které zprostředkovávají interakci buněk s ECM jsou integriny

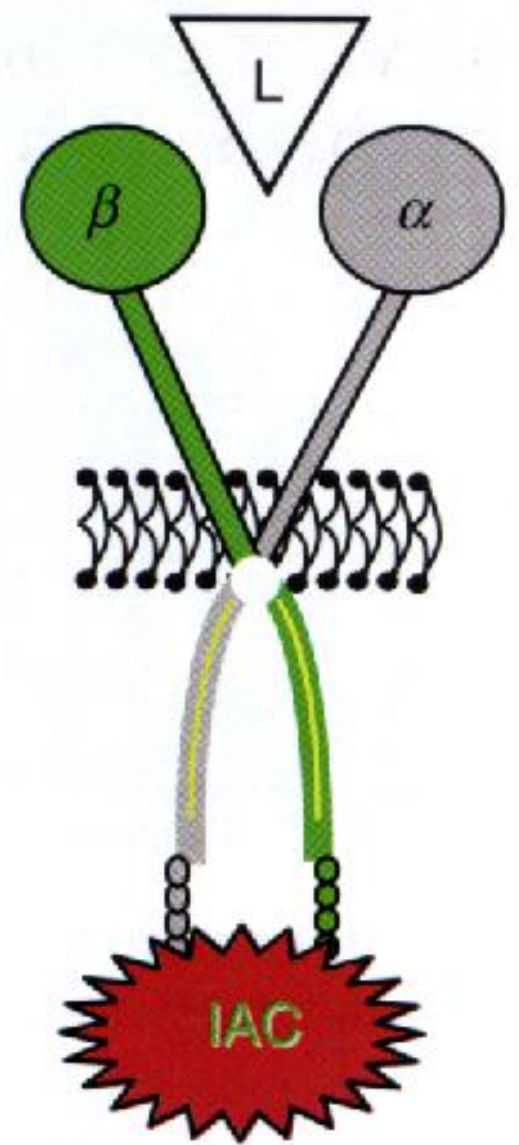
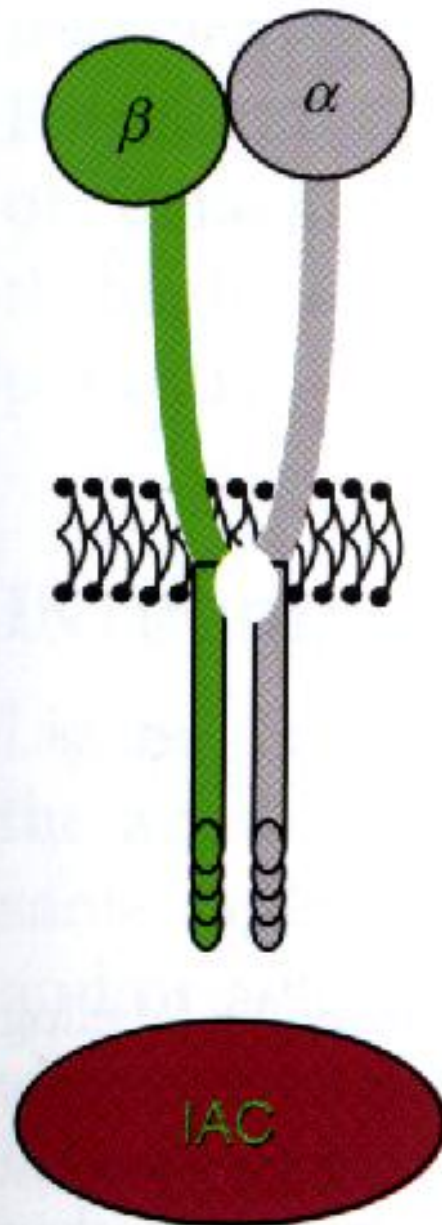
# Integriny

- Nepostradatelné komponenty všech Metazoi (od mořských hub po člověka)
- Členy velké rodiny transmembránových proteinů, které jsou receptory pro adhesivní sekvence molekul extracelulární matrix
- Zprostředkují přichycení buňky k ECM nebo k jiné buňce a umožňují přenos signálu (informace) mezi ECM a buňkou. Signalizace probíhá jak z ECM do buňky (outside-in signaling), tak z buňky do extracelulárního prostoru (inside-out signaling)
- Heterodimerní molekula v které jsou  $\alpha$  a  $\beta$  podjednotky spolu nekovalentně vázány

# Schematic drawing of a typical integrin dimer



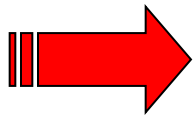
# Integrin "activation"





## II. Ztráta citlivosti k signálům zastavujícím buněčný růst a proliferaci

- Buňka je „přepnuta“ antiproliferačními signály z proliferace do G0 fáze, ale je stále připravena působením dalších extracelulárních signálů opět proliferovat
- V buňce dojde k permanentnímu zablokování schopnosti proliferovat vstupem do tzv. postmitotické fáze, respektive dojde k terminální diferenciaci



Nádorová buňka musí obejít tento kontrolní mechanismus: vyřazením pRb dráhy

- kóduje tzv. retinoblastoma 1 protein (RB1, pRb) - reguluje buněčný cyklus
- v případě mutace --> retinoblastom (sporadický x dědičný, „two hits“ hypotéza)
- brání buňkám v replikaci poškozené DNA - G1 blok

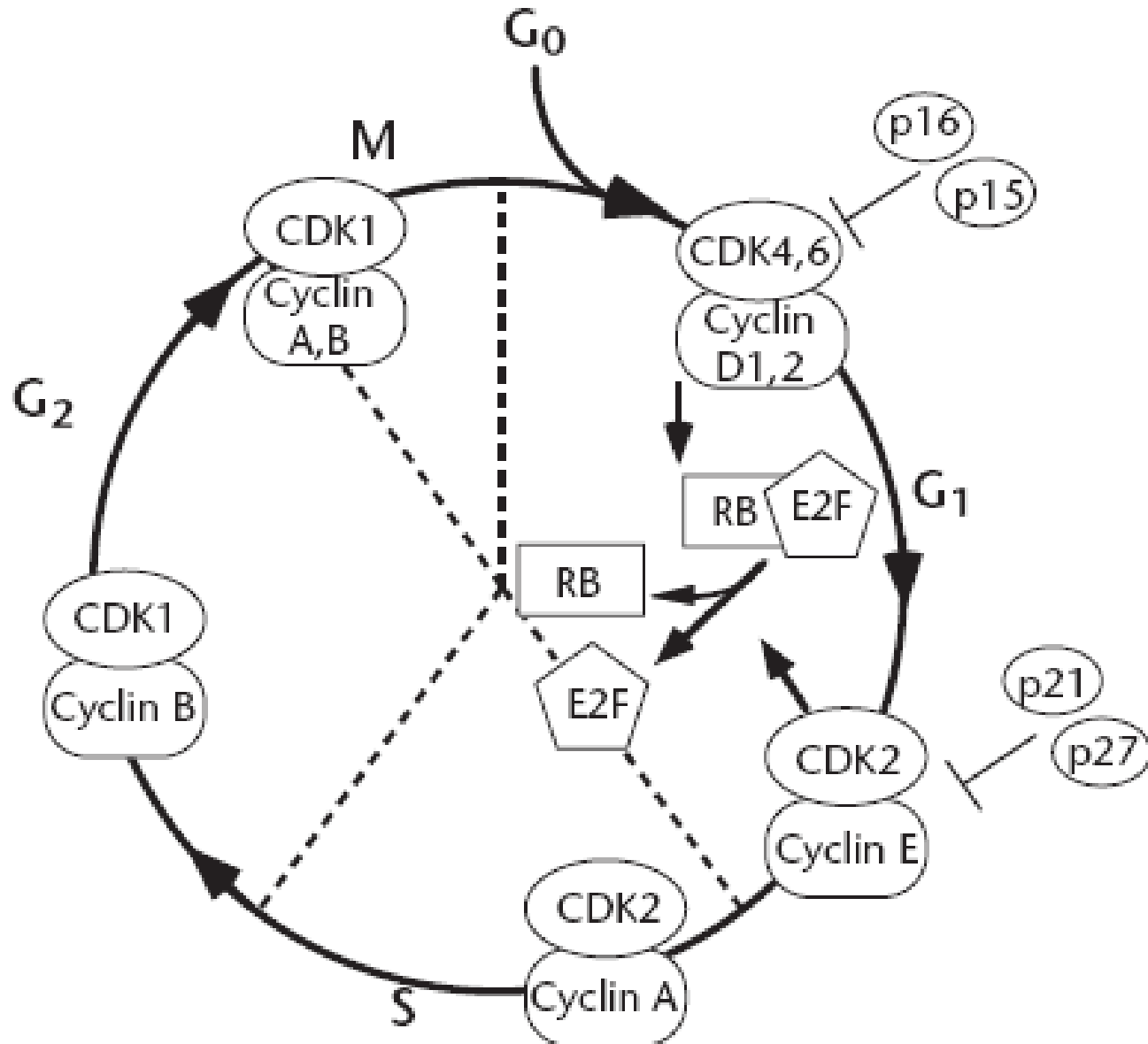
# Výjimky („two hits“)

- Haploinsuficience - jedna funkční alela není dostatečná
- Imprinting - 1-2% lidských genů, kdy jen 1 rodičovská alela aktivní. Např. IGF-2, obvykle exprese otcovské alely, při ztrátě imprintingu a overexpresi --> Wilmsův tumor, hepatoblastom, rhabdomyosarkom,... Přibližně 10% populace konstitutivní ztráta IGF-2 imprintingu (hypometylace) = zvýšené riziko ca kolorekta.

<http://www.geneimprint.com>

- Dominantně negativní mutace - vedou ke vzniku proteinu, který neplní správně svoji funkci a navíc interaguje s proteinem tvořeným funkční alelou a tím ho inaktivuje.

# Buněčný cyklus a nádory



# Deregulace b.cyklu u nádorů

1. aberantní exprese pozitivních regulátorů (cykliny)
2. ztráta funkce negat. regulátorů (CDKI)

Table 1 Cell cycle regulators and cancer

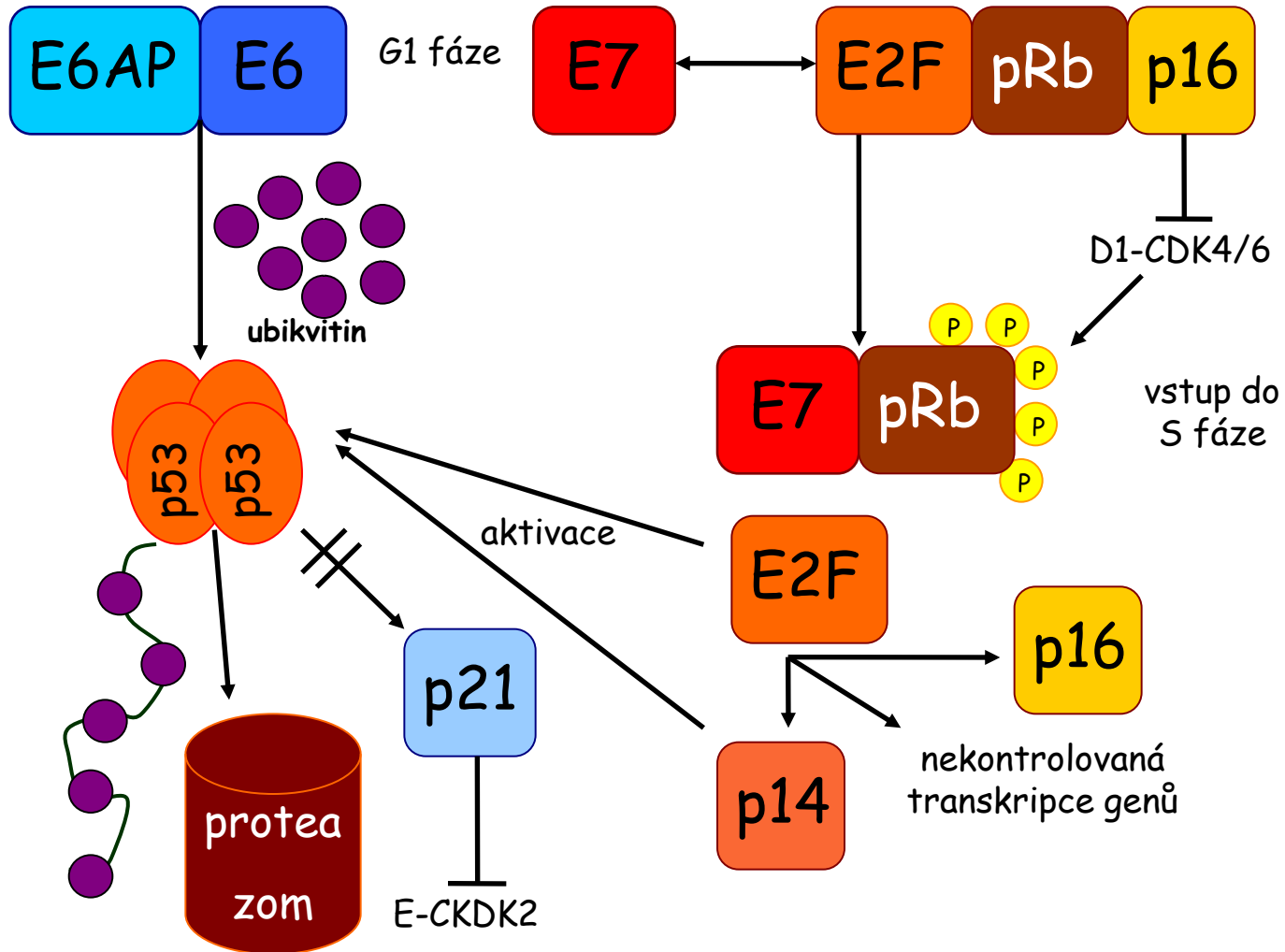
Protein	Chromosome	Function	Relevance in human cancer
Cyclin A	4(q25–q31)	Complexed with CDK2 and 1 to regulate S phase and G <sub>2</sub> –M	Overexpressed in some breast carcinoma, hepatocellular carcinoma
Cyclin B1	5(q13–qter)	Complexed with CDK1 to regulate G <sub>2</sub> –M	Overexpressed in some breast carcinoma
Cyclin D1	11q13	Complexed with CDK4/6 to regulate early G <sub>1</sub>	Overexpressed in multiple tumors, for example, breast cancer, lymphoma, parathyroid adenoma
Cyclin D2	12p13	Complexed with CDK4/6 (in some cell types) to regulate early G <sub>1</sub>	Overexpressed in some colorectal cancers
Cyclin E	19q12	Complexed with CDK2 to regulate late G <sub>1</sub> and the G <sub>1</sub> –S transition	Overexpressed in multiple tumors including leukemias, carcinomas of the breast, colon, prostate
CDK1	10	Complexed with cyclin B1 to regulate G <sub>2</sub> –M	Overexpressed in some breast cancers
CDK4	12q13	Complexed with D-type cyclins to regulate early G <sub>1</sub>	Amplified in brain tumors, infrequently mutated in melanomas

**Table 2** Cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitors and cancer

Protein	Chromosome	Function	Role in human cancer	Mouse knockout models
p21CIP1	6p21	Binds to and inhibits multiple CDK/cyclin complexes and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) to block G <sub>1</sub> and S phase; induced by p53	Rare mutations in prostate, bladder and breast carcinomas	No spontaneous tumors, defective DNA damage G <sub>1</sub> -S checkpoint; no tumor suppressor
p27KIP1	12p13	Binds to and inhibits multiple CDK/cyclin complexes to induce G <sub>1</sub> arrest	Loss of heterozygosity not uncommon; variable loss of protein expression in many malignancies	Gigantism, organomegaly, pituitary hyperplasia/adenoma; haploinsufficient tumor suppressor
p57KIP2	11p15.5	Binds to and inhibits multiple CDK/cyclin complexes to induce G <sub>1</sub> arrest; imprinted	Few inactivations identified; mutations found in patients with Beckwith-Wiedemann syndrome	Neonatal lethality, developmental defects, adrenal hyperplasia; no spontaneous tumors
p16INK4a	9p21	Binds to and inhibits CDK4/6 to induce G <sub>1</sub> arrest	Frequently inactivated in cancers, especially melanoma, pancreatic adenocarcinomas, lung and bladder carcinomas	Low incidence of spontaneous tumors, carcinogen-induced increase in melanomas; cooperative effects with haploinsufficient p14ARF status
p14ARF	9p21	Blocks MDM2 inhibition of p53, thereby inducing G <sub>1</sub> and G <sub>2</sub> arrest	Few exclusive deletions identified in melanoma cell lines, gliomas; targeted in acute T-cell leukemia	High incidence of spontaneous and induced tumors; p16INK4a <sup>-/-</sup> p19ARF <sup>-/-</sup> show very similar phenotype

# Schéma funkce proteinů E6 a E7 při infekci

proteiny E6 a E7 high risk HPV jsou schopné transformovat zdravou buňku pouze v kooperaci



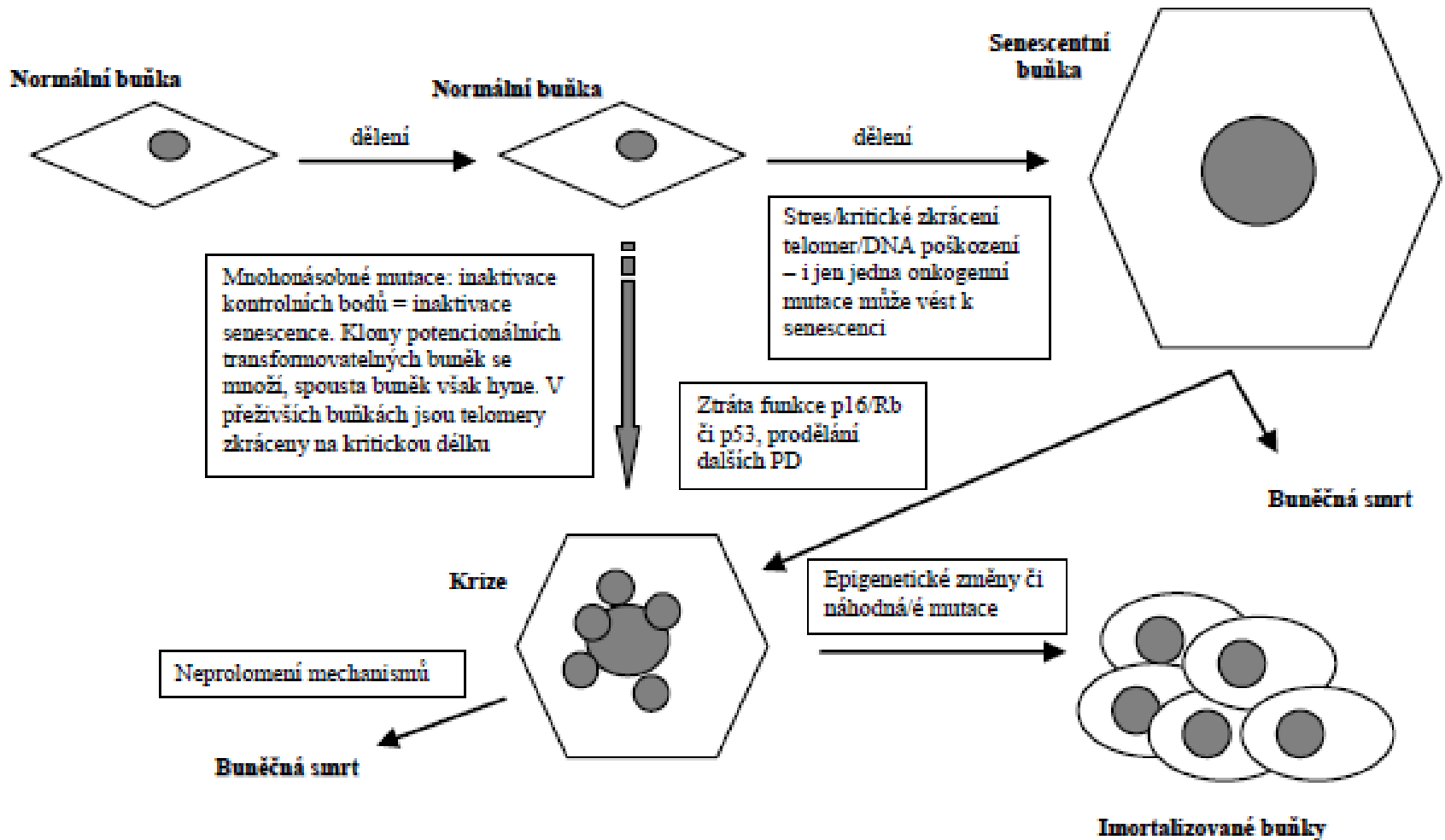
# III. Neomezený replikační potenciál

- Pokusy *in vitro* na normálních lidských diploidních fibroblastech ukázaly, že buněčná kultura má limitovanou životnost - asi po 50-70 děleních se růst zastavuje, avšak buňky mohou v G1 fázi vydržet až několik roků.
- Pokud u dané populace dojde k danému počtu dělení, přestávají se množit = senescence
- Např. inhibicí pRb nebo p53 může dojít k opětovnému dělení buněk → krize (masivní buněčná smrt)

**Nádorové buňky proliferují neomezeně - jsou „nesmrtelné“.**



# Senescence



# IV. Apoptóza

Fyziologický proces udržující rovnováhu mezi buněčným růstem a smrtí buněk

Kaskáda reakcí cysteinových proteáz (kaspázy), vazba na tzv. substráty smrti (proteiny cytoskeletu, proteiny řídící opravu DNA, proteiny zabráňující apoptóze apod., štěpení DNA cca 180bp). V konečném důsledku morfologické změny - srašťování buněk, apoptotická tělíska  
→ fagocytóza

Postupující věk → pokles transkripční aktivity genů vyvolávajících apoptózu → např. Snížená schopnost likvidovat buňky imunitního systému reagující proti vlastním tkáním → autoimunitní onemocnění

Ligandy smrti: TRAIL, FasL, TNF

Vnější signální dráha

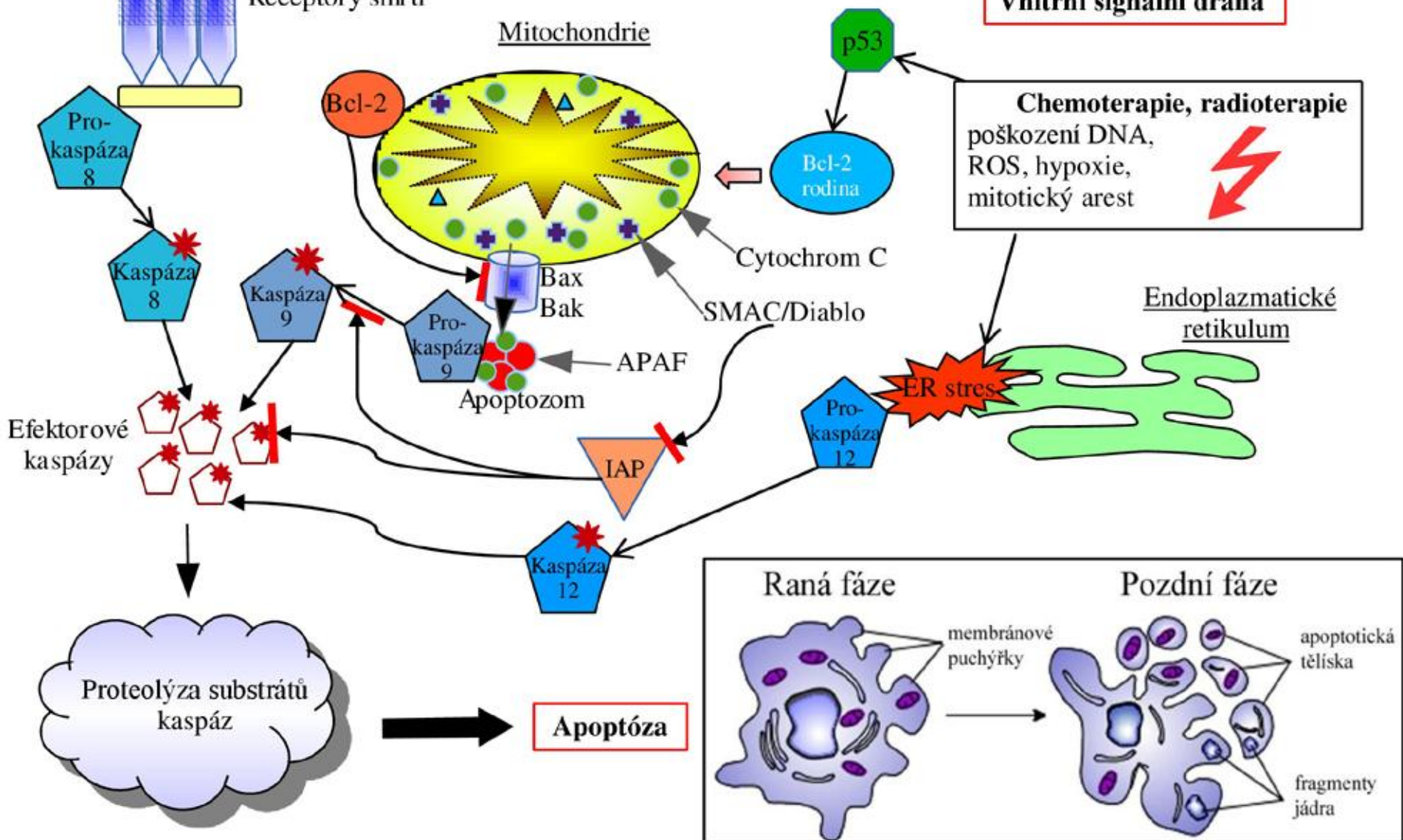
Cytoplazmatická membrána

Receptory smrti

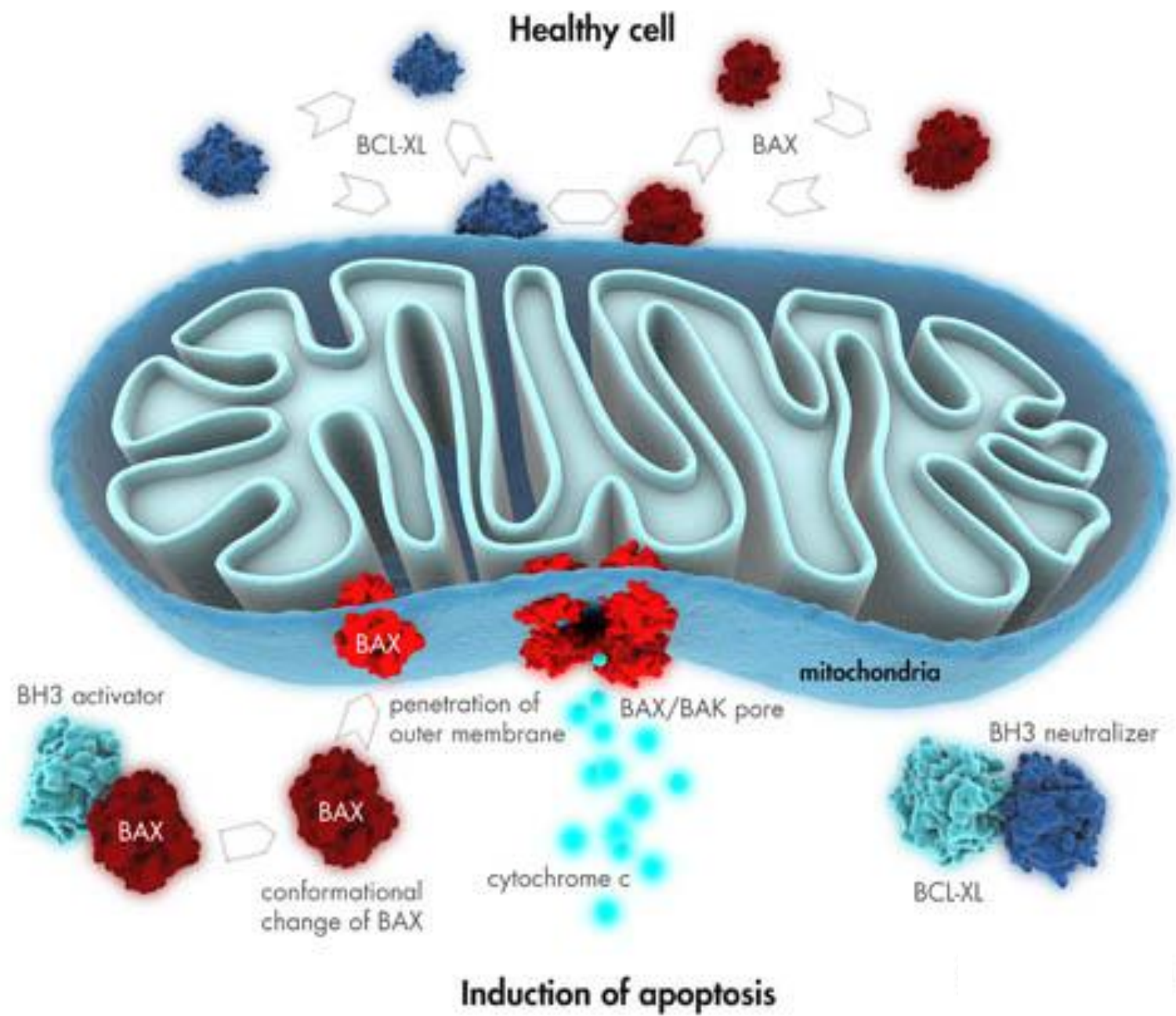
Vnitřní signální dráha

Mitochondrie

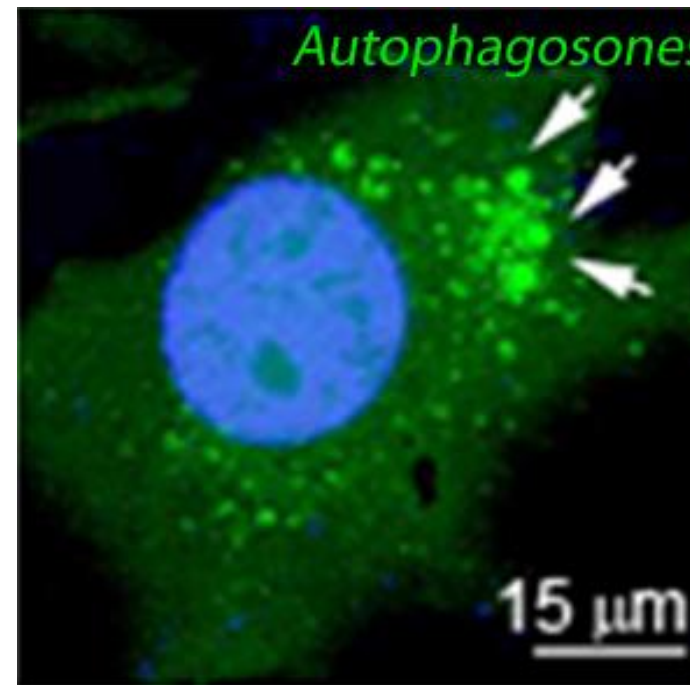
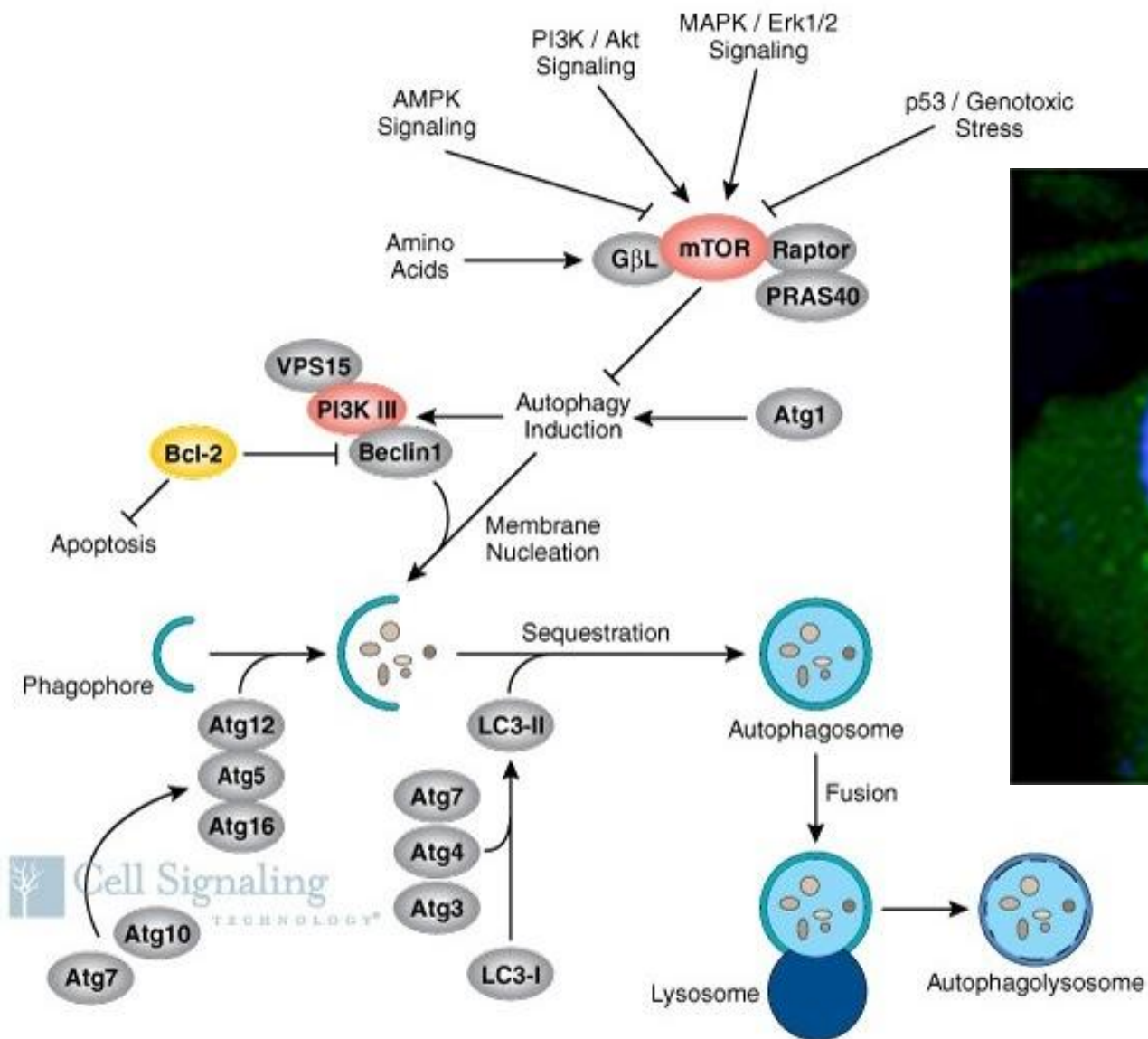
Chemoterapie, radioterapie  
poškození DNA,  
ROS, hypoxie,  
mitotický arrest



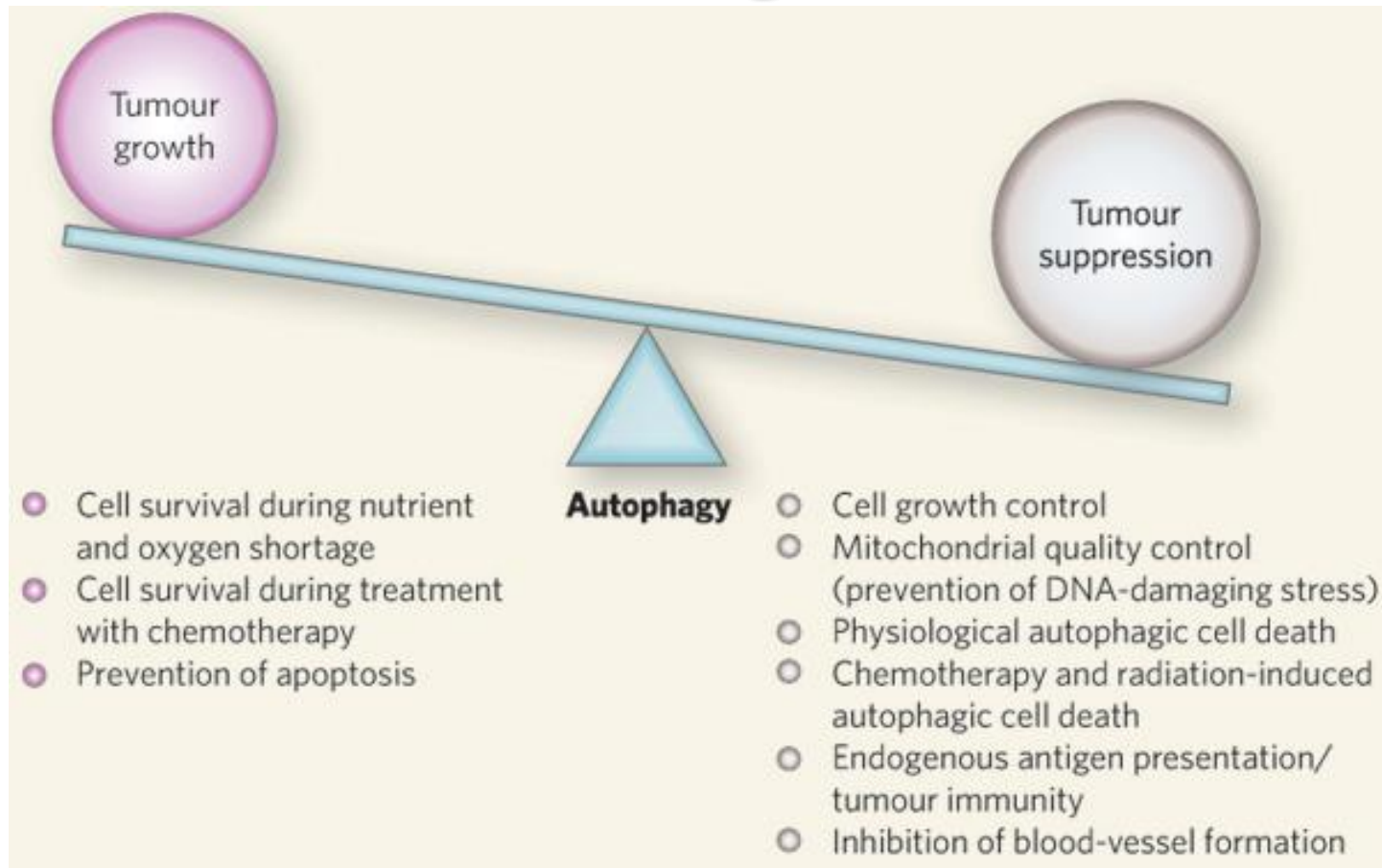
# Regulation of mitochondrial apoptosis







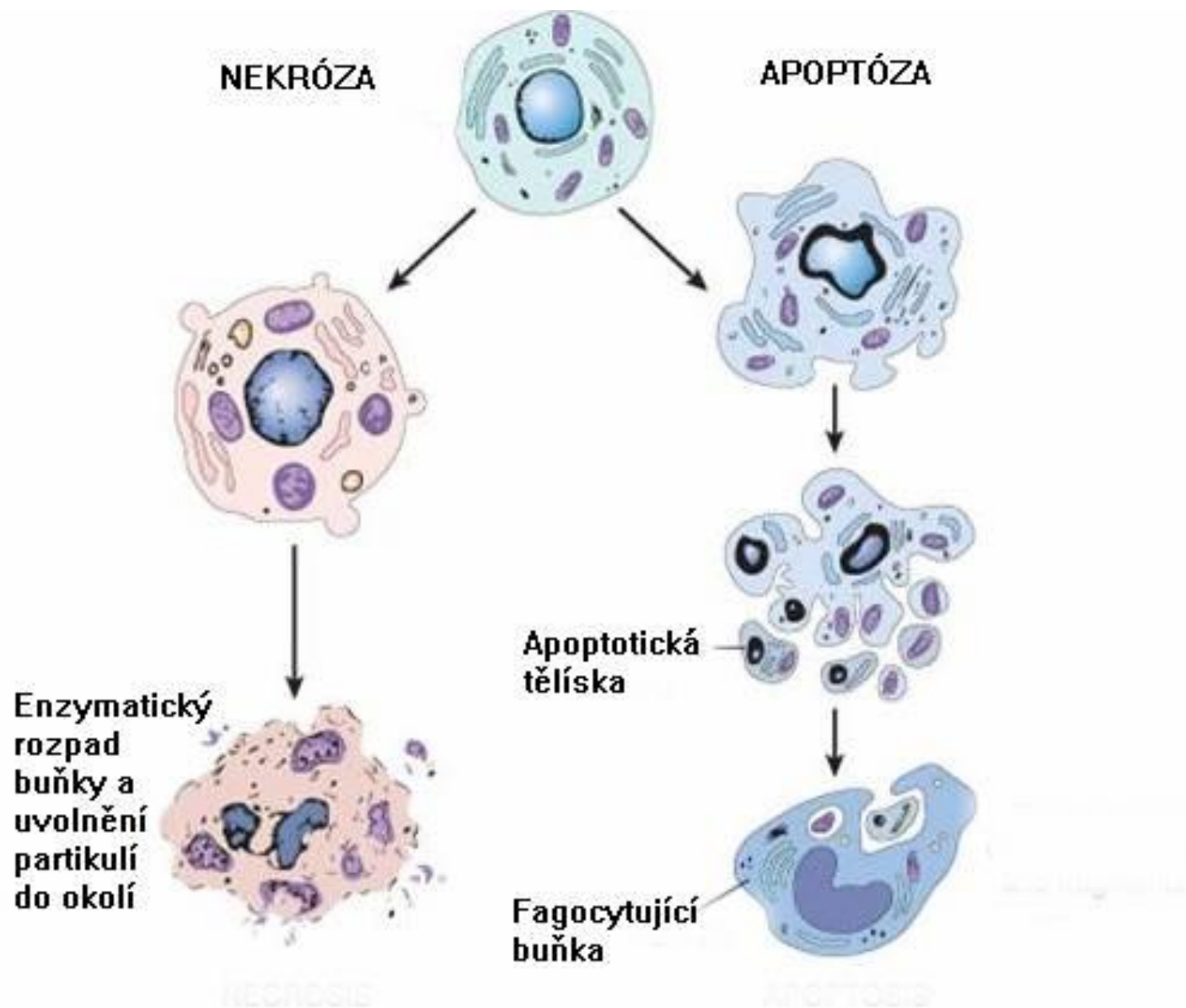
# Autofágie



cytoprotektivní  
mechanismus  
(rezistence k terapii)

X

odstranění poškozených  
organel, redukce chrom.  
nestability

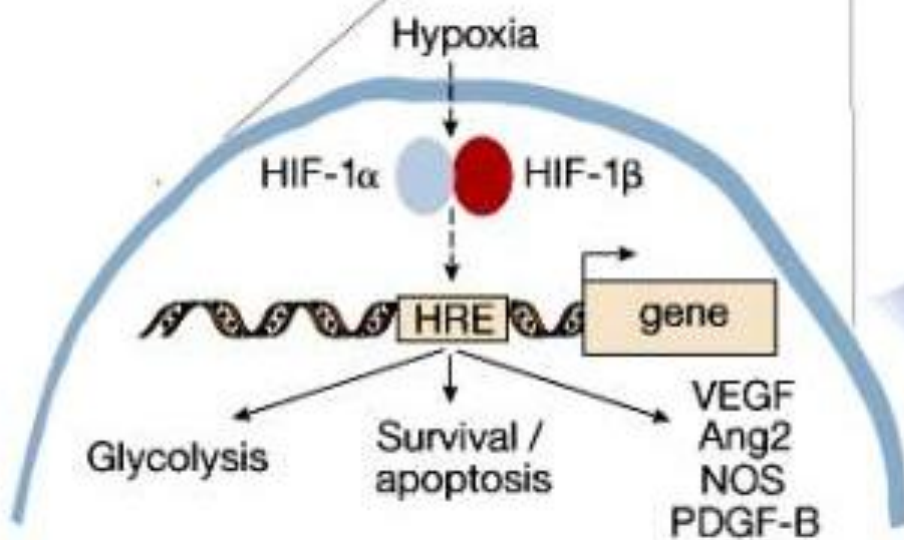
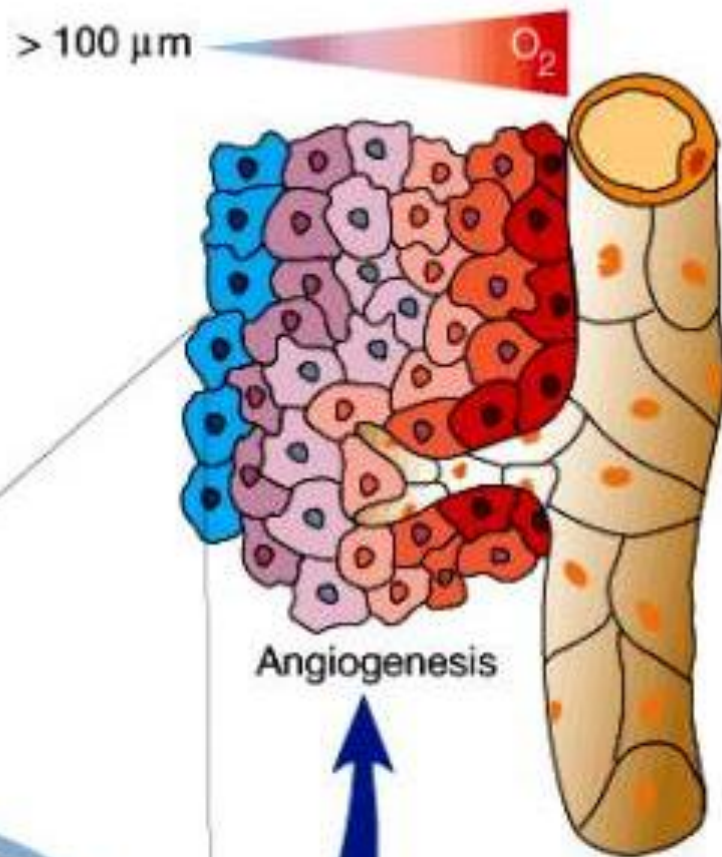
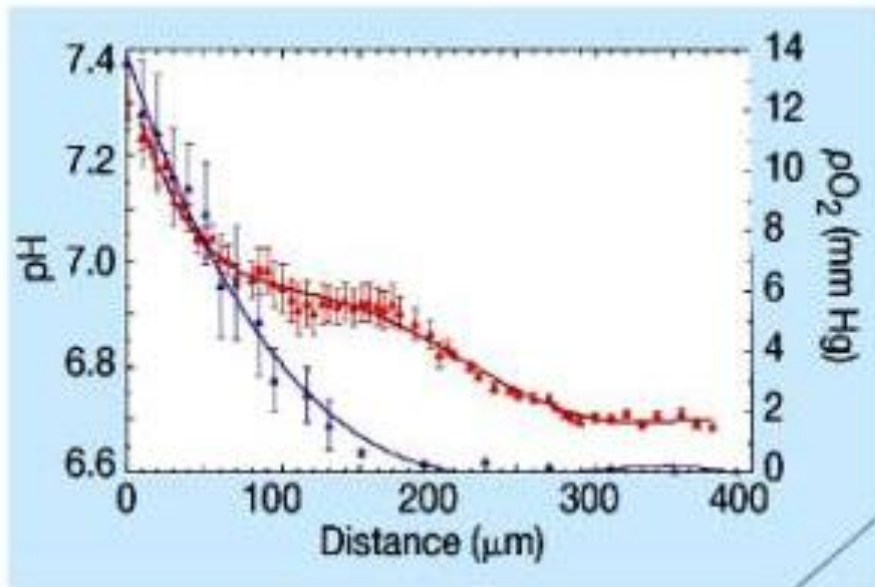


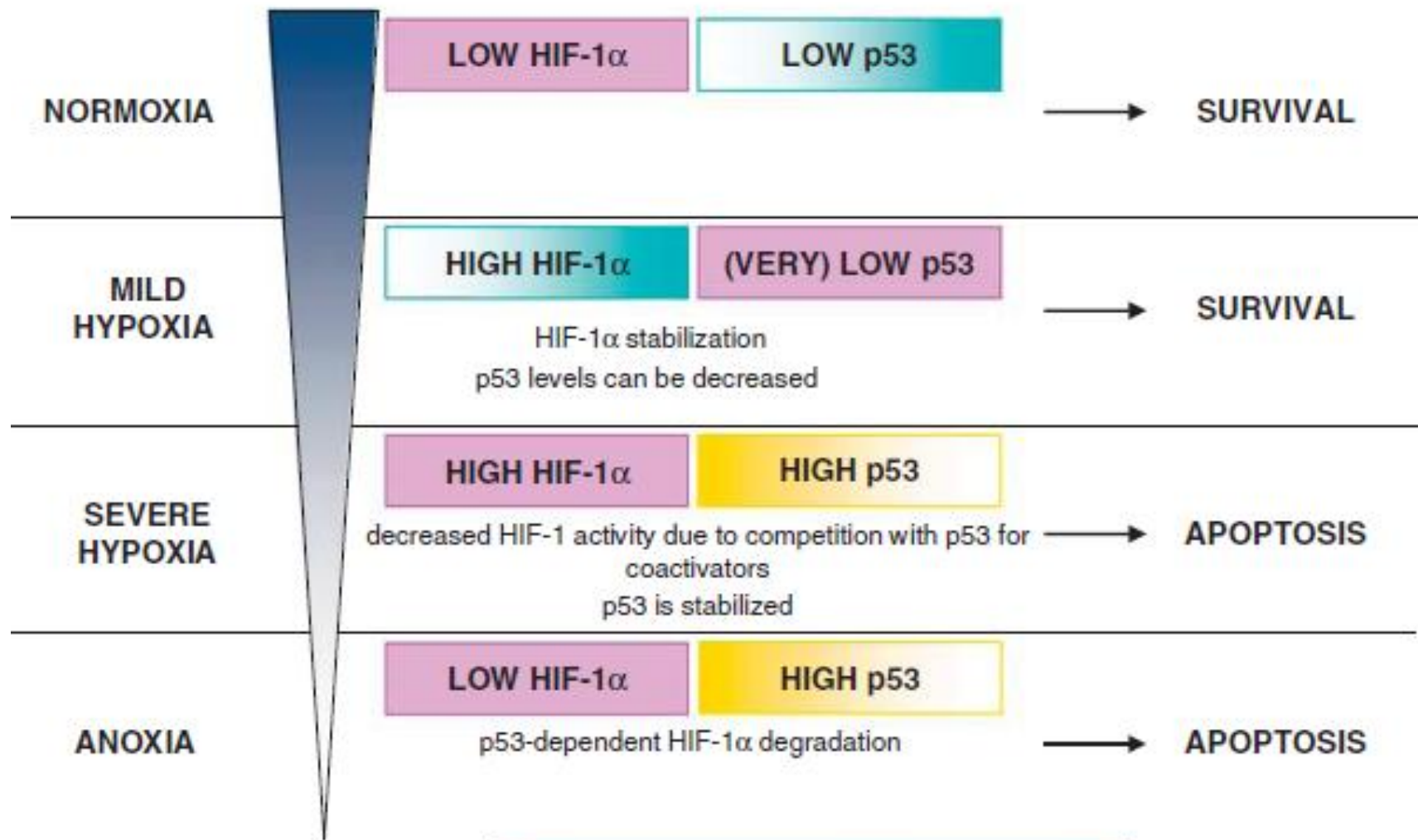


# V. Angiogeneze (neokapilarizace, neovaskularizace)

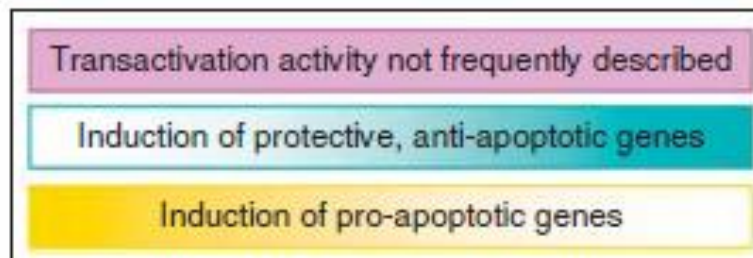
- Proces novotvorby krevních kapilár, díky této schopnosti může nádor stimulovat okolní tkáň k růstu cév, kterými mu je dopravována krev bohatá na živiny a kyslík
- Rostoucí nádorové ložisko může bez cévního zásobení dosáhnout velikosti pouze 1 - 2 mm<sup>3</sup>, kdy přívod kyslíku a živin je možný ještě difuzí z okolní tkáně
- Hypoxie, genetická nestabilita --> „angiogenní switch“ tj. nový fenotyp nádorových buněk, suprese antiangiogenních faktorů (thrombospondinu), zvýšená tvorba angiogenních faktorů. Buňky nádoru a sousední endotélie se v tomto směru vzájemně ovlivňují parakrinní, ale i autokrinní sekrecí angiogenních faktorů.

# Role of hypoxia in Tumor angiogenesis





Decreased  $pO_2$   
Increased duration



## Drosophila jako model angiogeneze

Cévní systém drozofily je málo vyvinut, ale dobrým modelem pro savčí angiogenezi je na molekulární úrovni překvapivě podobný hmyzí tracheální systém. Podobně jako u savčích cév - obecná organizace trachejí drozofily je určena geneticky, ale jejich větvení je určováno tlakem  $O_2$ .

Mutace různých drozofilích genů účastnících se vývoje trachejí a jejich savčí protějšky:

- *trachealess* (homolog HIF),
- *branchless* (FGF),
- *breathless* (FGF receptor),
- *sprouty* (ras interactor)

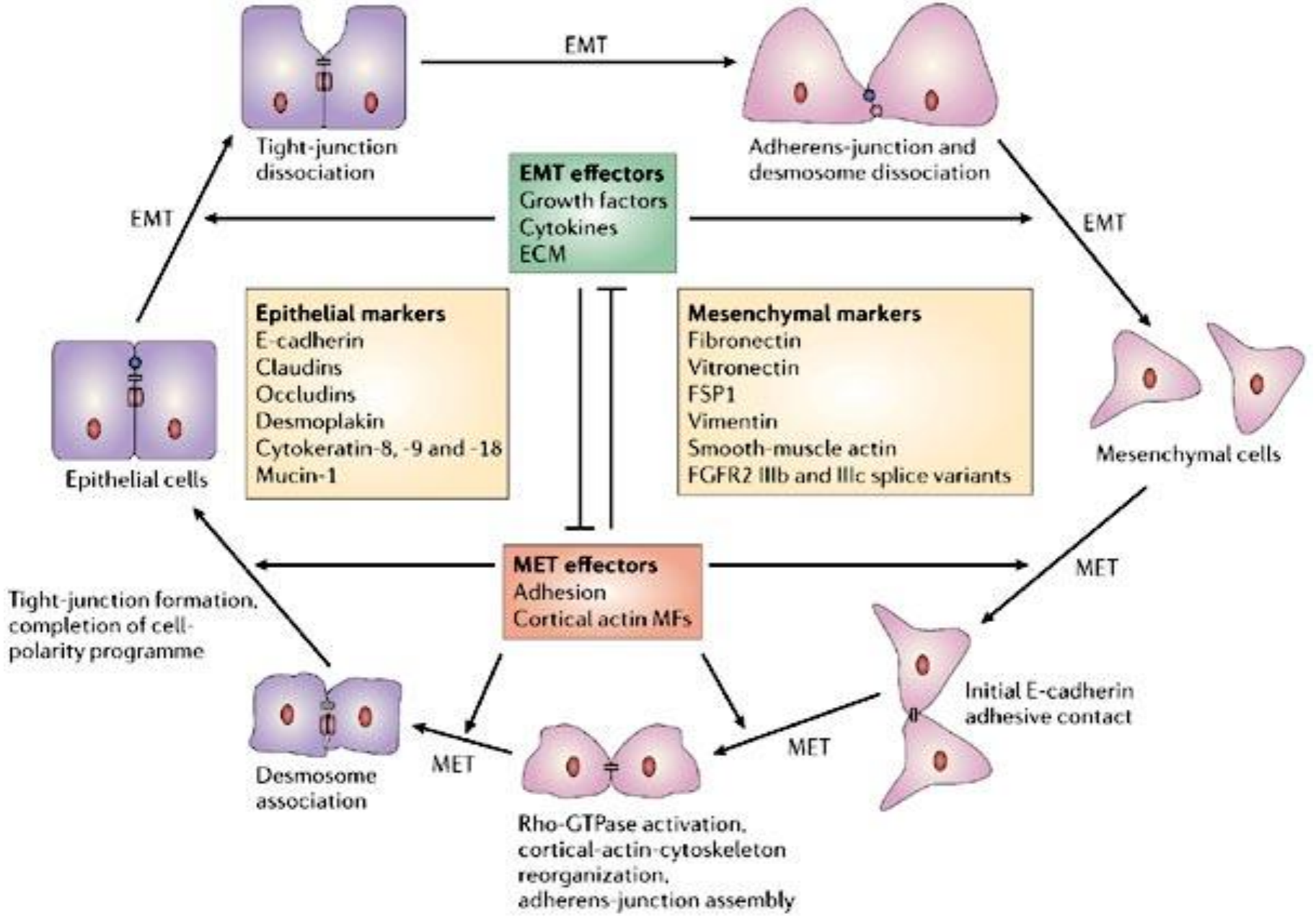
## VI. Invazivita a schopnost metastázovat

- Nejčastější příčina úmrtí
- Schopnost metastázovat je jedním ze základních znaků malignity nádorových onemocnění, řada faktorů (druh nádoru, velikost primárního nádoru, angiogenní procesy)
- Při vzniku metastáz hrají důležitou úlohu chemokiny. Jde o superrodinu prozánětlivých cytokinů, které selektivně přitahují a aktivují různé typy buněk tím, že se váží na specifické povrchové receptory (G-protein)

### Šíření metastáz:

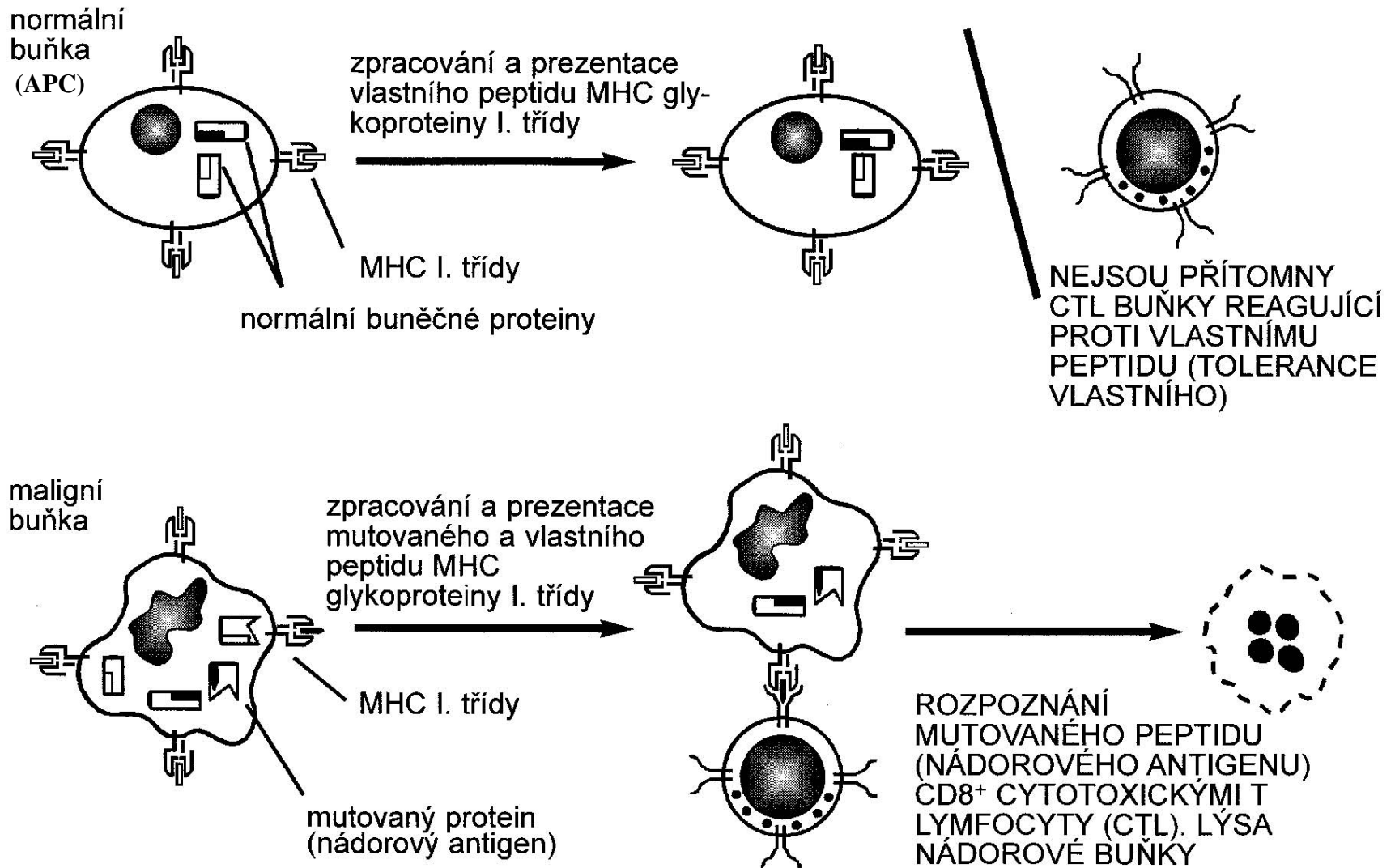
- lymfogenní - nádorové buňky se šíří cestou lymfatických cév do lymfatických uzlin. Nejběžnější způsob šíření epiteliálních nádorů.
- hematogenní - nádorové buňky se šíří krví a zachycují se v kapilárách. Nádory vycházející z pojivových tkání a pokročilé nádory epitelové.
- porogenní (per continuitatem) - nádorové buňky se šíří mechanicky preformovanými dutinami. (nádory mozku nebo vaječníků)





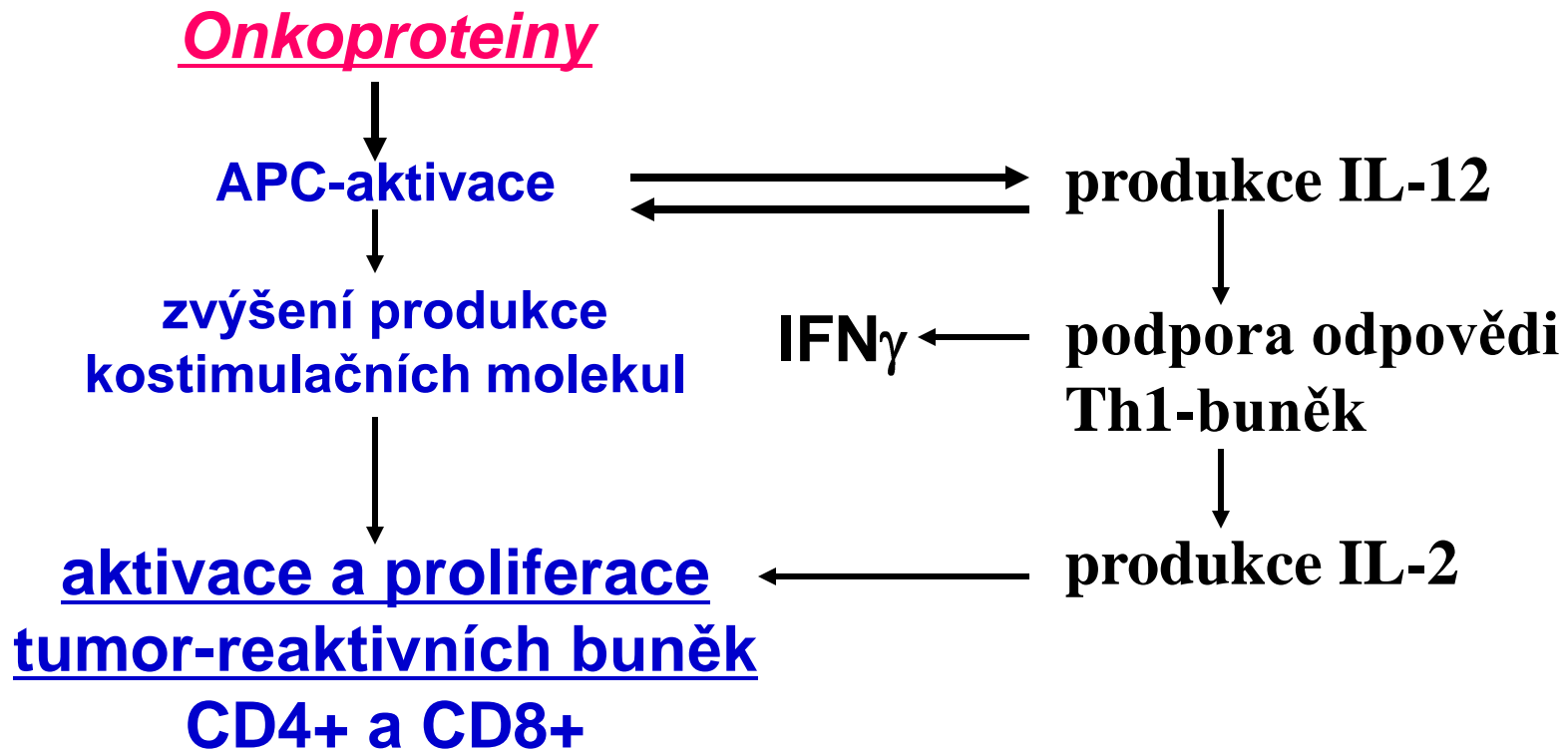
TF: Snail, Slug, Twist, Zeb1/2

# VII. Protinádorová imunitní odpověď

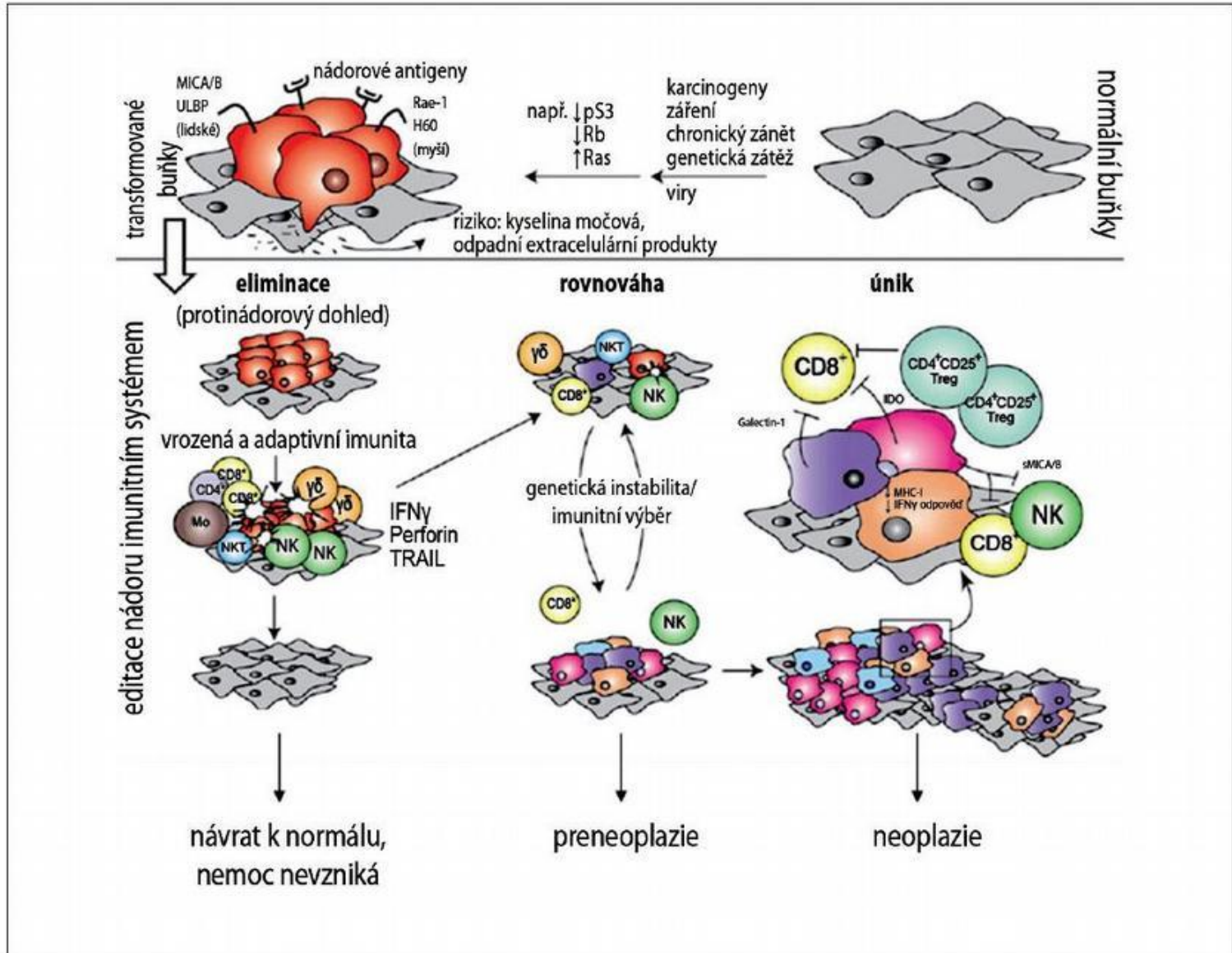




# Protinádorová imunitní odpověď

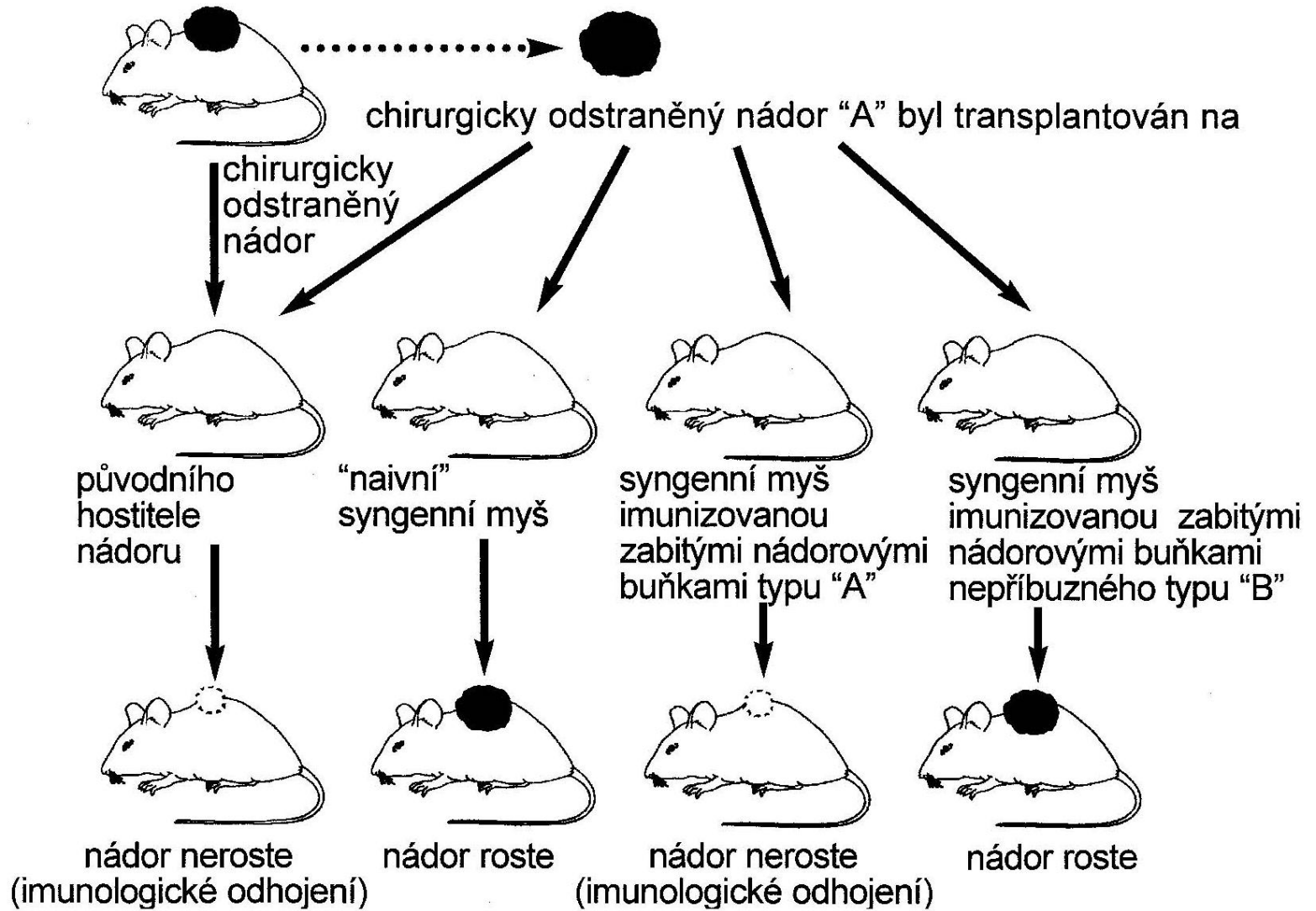


# Teorie protinádorového imunologického dohledu („cancer immunoediting“)



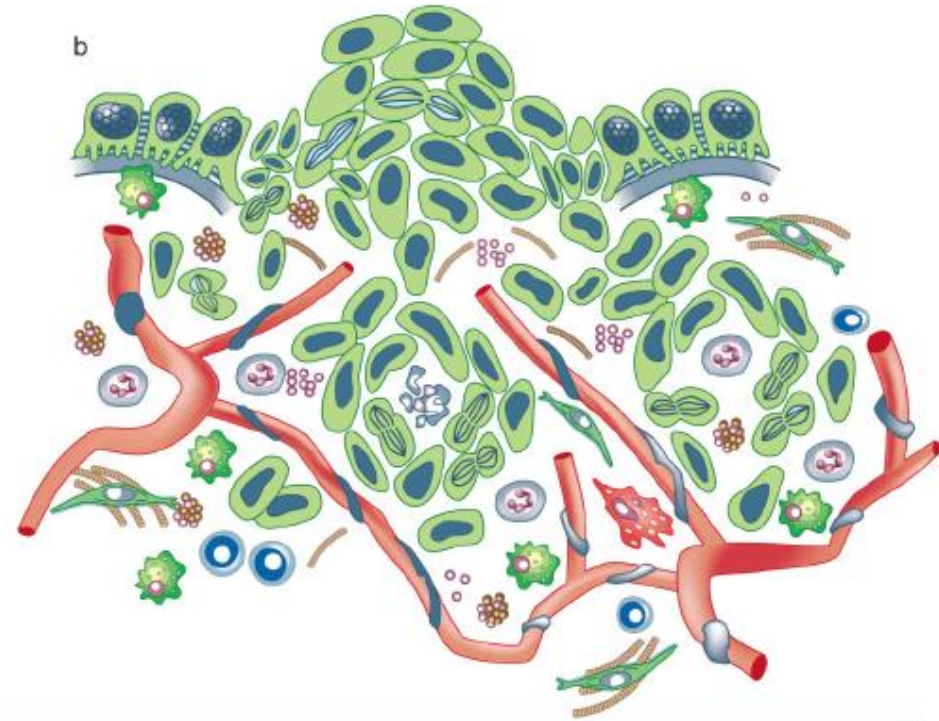
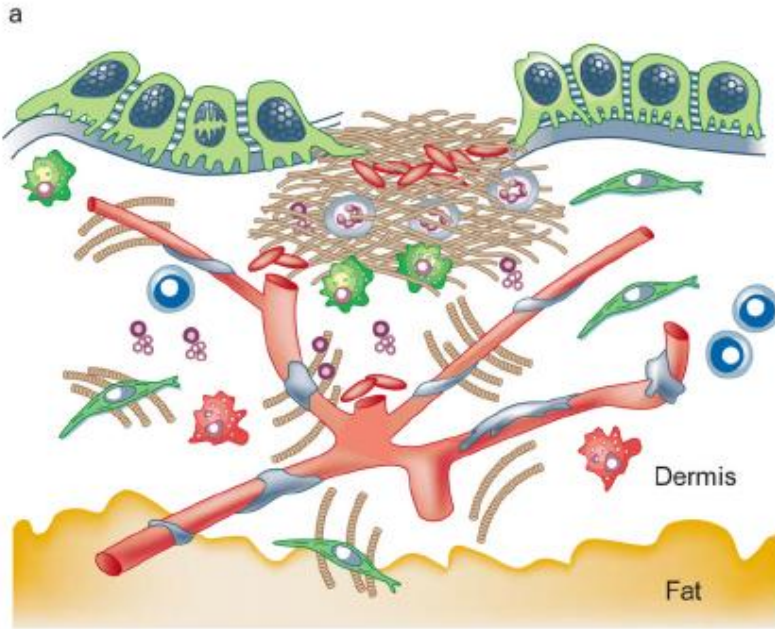
■ *Obz. 1 – Teorie protinádorového dohledu, editace nádoru imunitním systémem a klinický korelát jednotlivých stadií. Převzato a upraveno podle Dunn a kol.*

myš s MCA indukovaným sarkomem "A"



Důkaz: imunokompromitovaní pacienti - 200krát vyšší riziko vzniku nádorového onemocnění

# VIII. Zánět a nádorová onemocnění



Epithelial cell and basement membrane



Neutrophils



Lymphocytes



Macrophage/monocyte



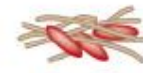
Endothelial cells and capillary support cells  
(pericytes, smooth muscle cells)



Mast cells/eosinophils/basophils



Fibroblasts and fibrillar collagens



Platelets and fibrin clot



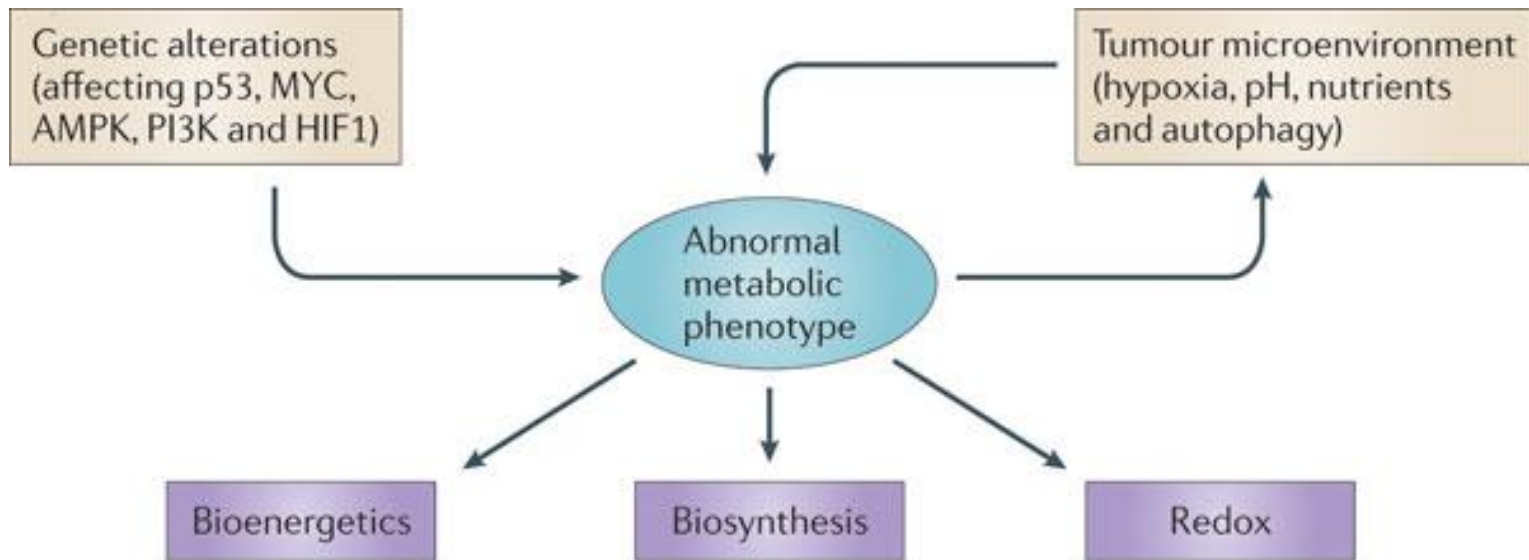
Cytokines/chemokines



Malignant epithelial cells

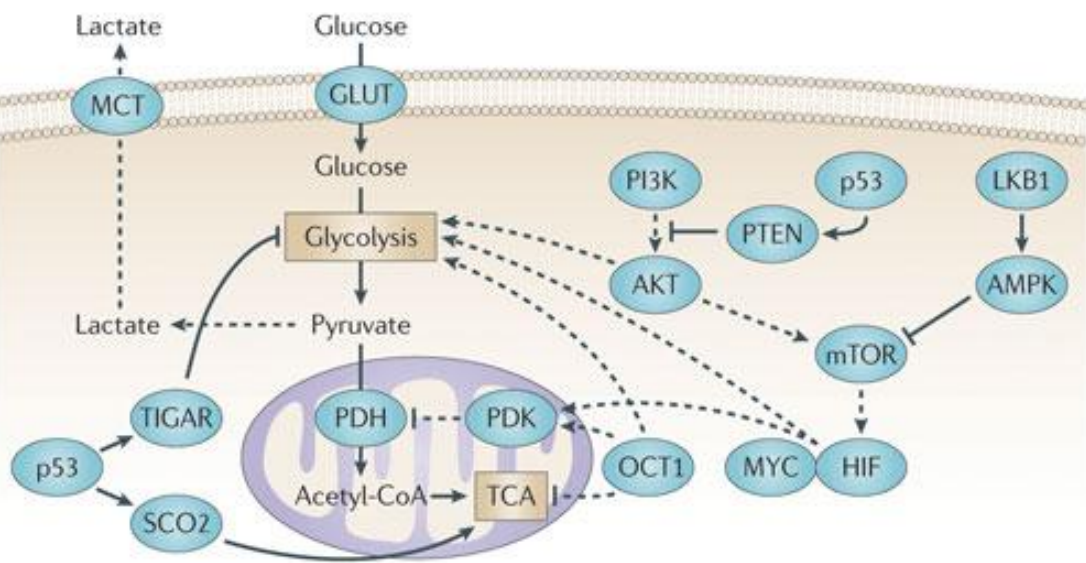
# IX. Změny v metabolické aktivitě

Nekontrolovaná buněčná proliferace je nejen spojená s deregulací kontroly buněčného cyklu, ale má též zvýšené nároky na metabolickou aktivitu



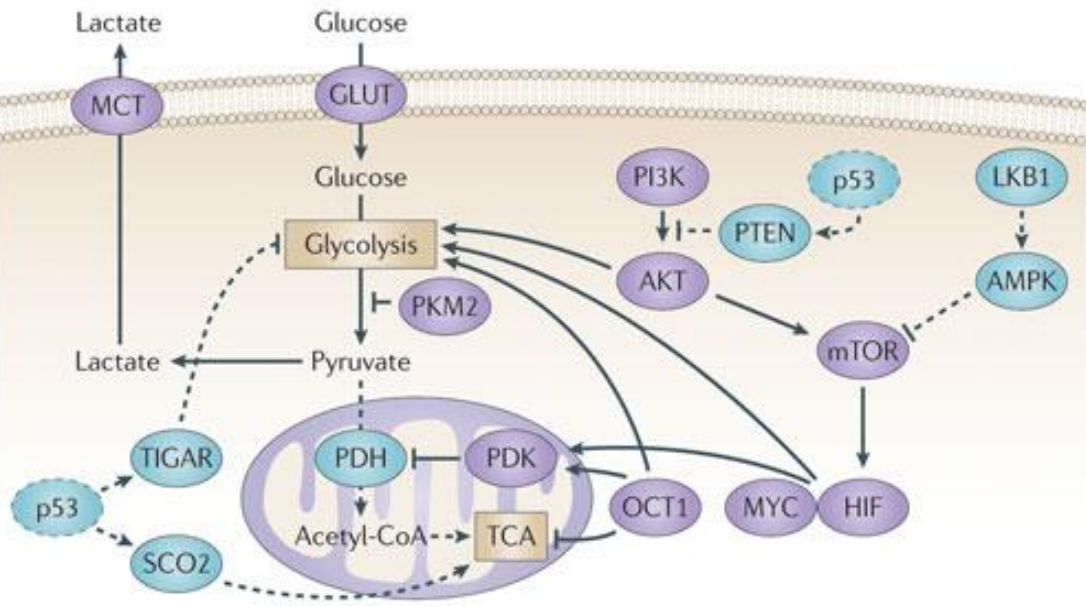


**a Quiescent normal cell**



~ 18x vyšší účinnost

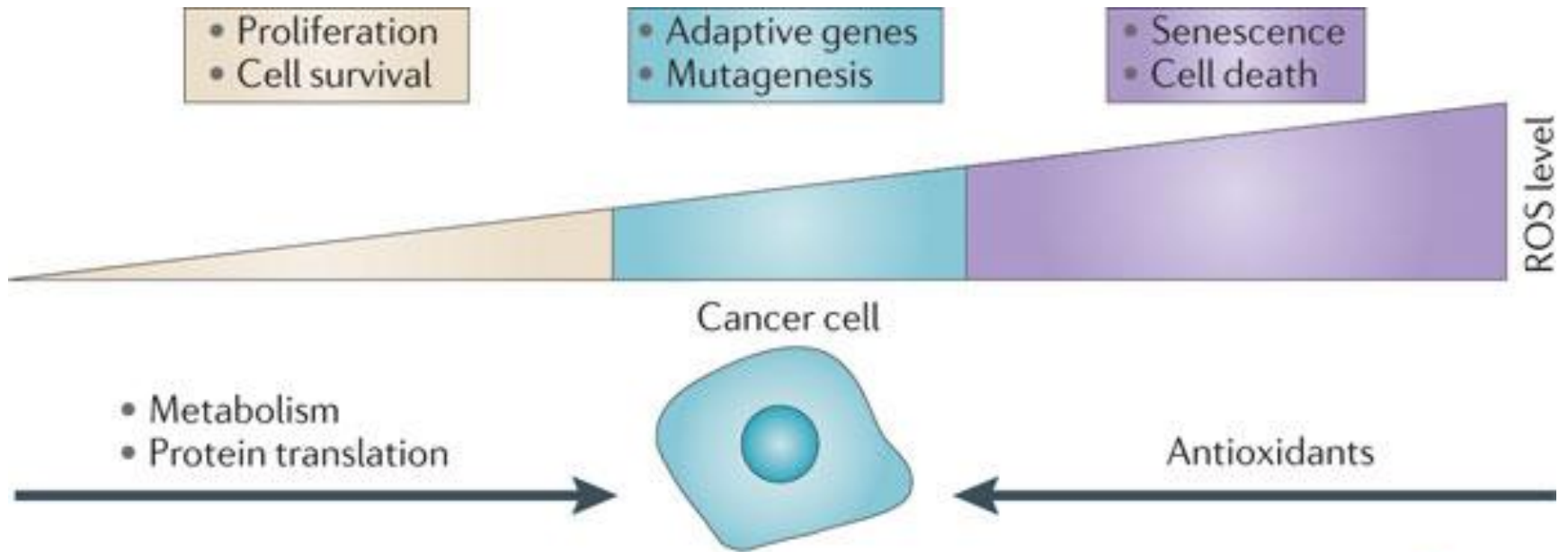
**b Proliferating tumour cell**



Aerobní glykolýza (O. Warburg)

- GLUT1 (PET-FDG)
- Hypoxie
- Glykolytické intermediáty

# ROS vs. antioxidant





## X. Genomová nestabilita

Funkčnost genetických reparačních mechanismů → výskyt spontánních mutací je poměrně nízký → při kancerogenezi musí dojít k vyřazení systému monitorujícího genomovou stabilitu = "caretakers" of the genome (Kinzler and Vogelstein, 1997)

Nejčastěji se jedná o faktory zodpovědné za:

- (1) detekci DNA poškození a aktivaci reparační mašinerie
- (2) přímo se podílející na opravě poškozené DNA
- (3) inaktivující mutagenní molekuly dříve než poškodí DNA

Ztráta telomerické DNA u řady nádorů vede ke karyotypické nestabilitě a s tím spojeným amplifikacím a delecím na chromozomech