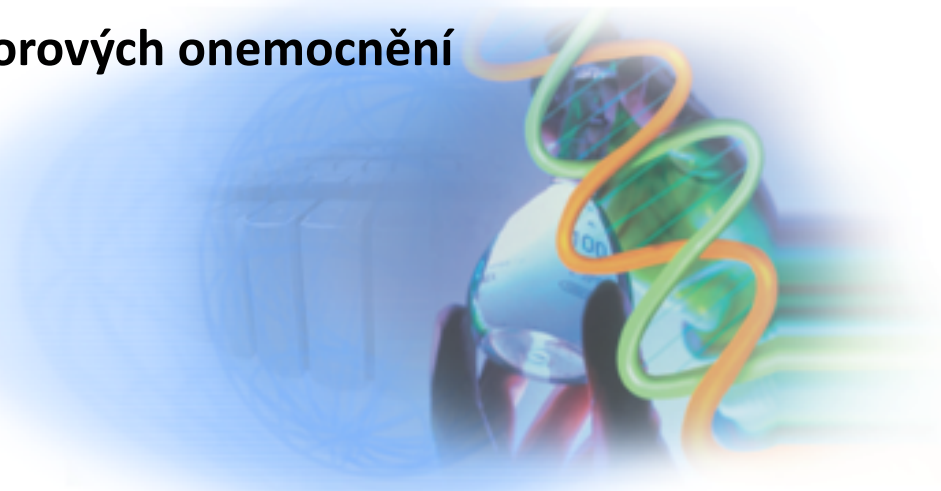


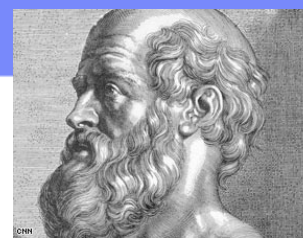
C7188 Úvod do molekulární medicíny 2/12



Molekulární patologie nádorových onemocnění When good cells go bad

RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.
*Masarykův onkologický ústav
Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
CEITEC*



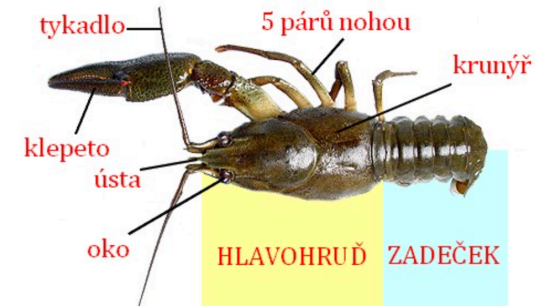
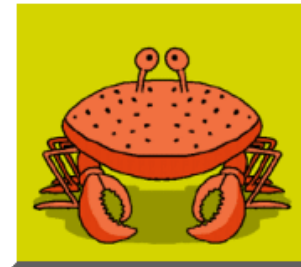


Historie

- Nejstarší popis rakoviny 1600 p.n.l. pochází z Egypta **Papyrus Edwina Smithe** popisuje 8 tumorů nebo ulcerací prsu ošetřovaných kauterizací nástrojem označovaným „the fire drill“. Tato nemoc není léčitelná (termín rakovina nebyl použit)
- 400 p.n.l. **Hippocrates** popsal rakovinu jako dlouhé výběžky (podobné krabím nohám) vybíhajícím do zdravých tkání:
 - řec: karkinos = krab; onkos = masa
 - lat: cancer = krab, rak (Galen)
- popisné (**epidemiologické**) poznatky:
 - 1848 - zvýšený výskyt rakoviny prsu u jeptišek (souvislost s bezdětností a nekojením)
 - snížený výskyt nádorů cervixu
 - 1775 - rakovina šourku u kominíků (souvislost s výskytem škodlivin v sazích; souvislost s hygienickými návyky) – Percival Pott
 - 1902 - souvislost RTG paprsků a vzniku rakoviny
 - poč. 20. stol. - **rodinný výskyt** nádorů

„RAKOVINA“ – NE!!!!!!!, NADOROVÉ ONEMOCNĚNÍ - ANO

Historie molekulární biologie nádorů viz přednáška 1/12



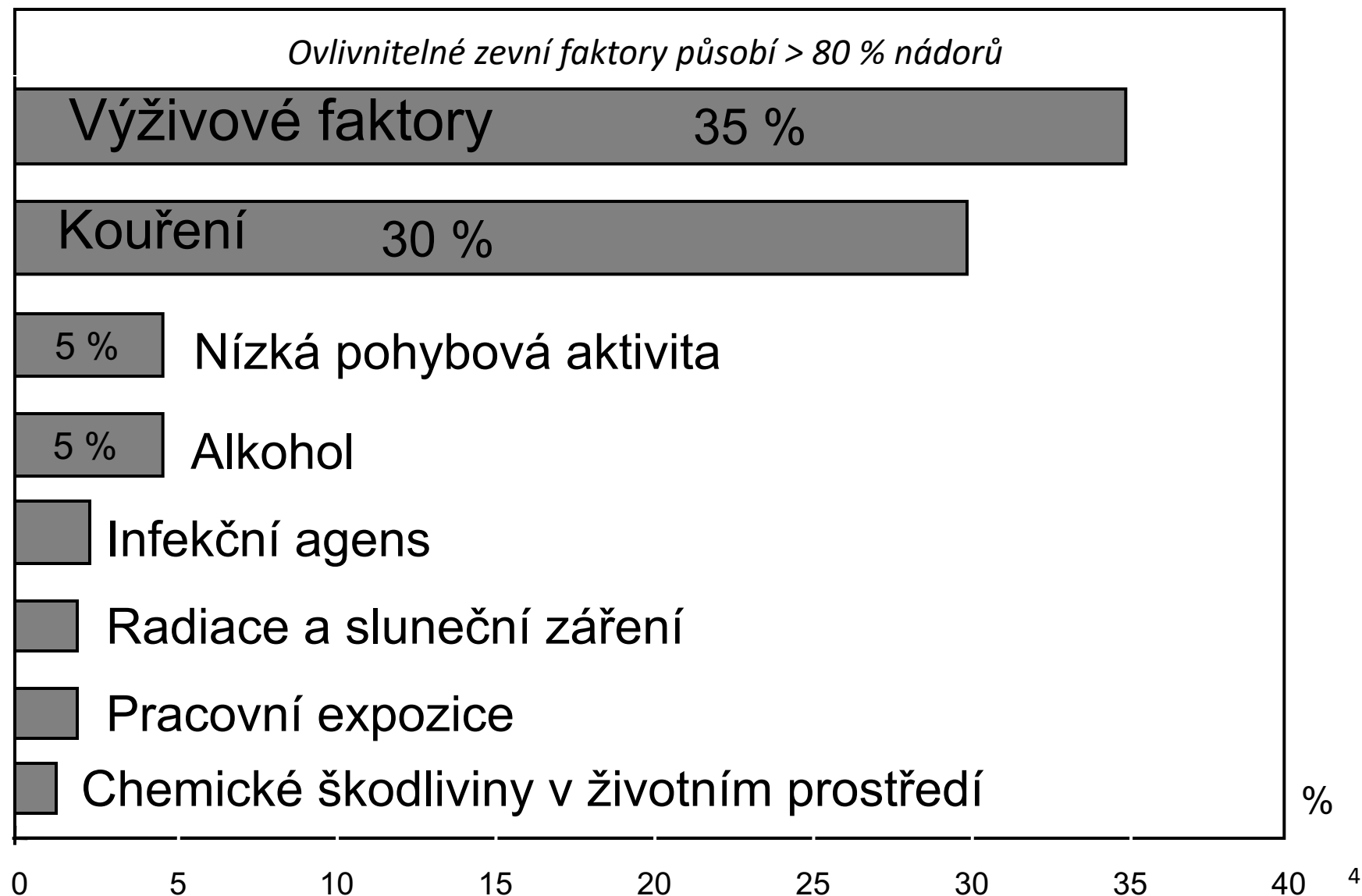
Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice

incidence – nová onem/počet obyvatel
prevalence – celkový počet onem/počet obyvatel
mortalita – počet úmrtí/počet obyvatel
letalita – počet zemřelých na onem/počet nem (%)

Systém pro Vizualizaci Onkologických Dat – SVOD verze 7.0 (www.svod.cz)

Pracuje s validovanými epidemiologickými daty Národního onkologického registru NOR za období 1977-2005 (databáze obsahující přibližně 1,5 mil. záznamů), spravovaných Ústavem zdravotnických informací a statistiky ČR (ÚZIS ČR)

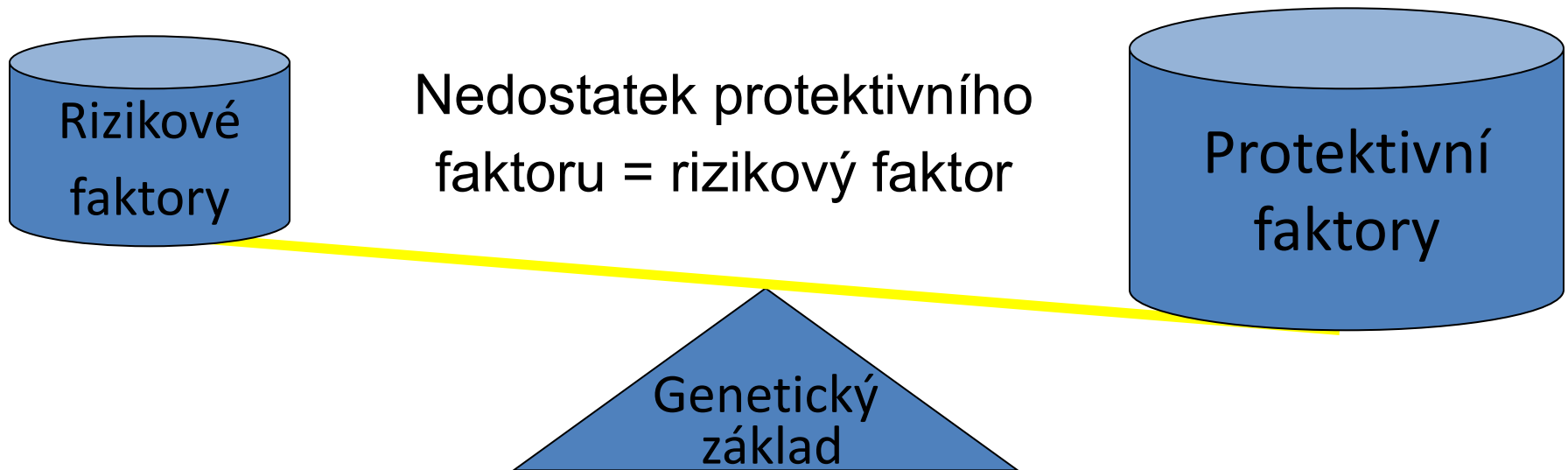
DUŠEK Ladislav, MUŽÍK Jan, KUBÁSEK Miroslav, KOPTÍKOVÁ Jana, ŽALOU DÍK Jan, VYZULA Rostislav. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita, [2005], [cit. 2009-10-04]. Dostupný z WWW: <http://www.svod.cz>. Verze 7.0 [2007], ISSN 1802 – 8861.

Nádorová onemocnění – etiologie (Atributivní příspěvní k celk. úmrtnosti na nádory)

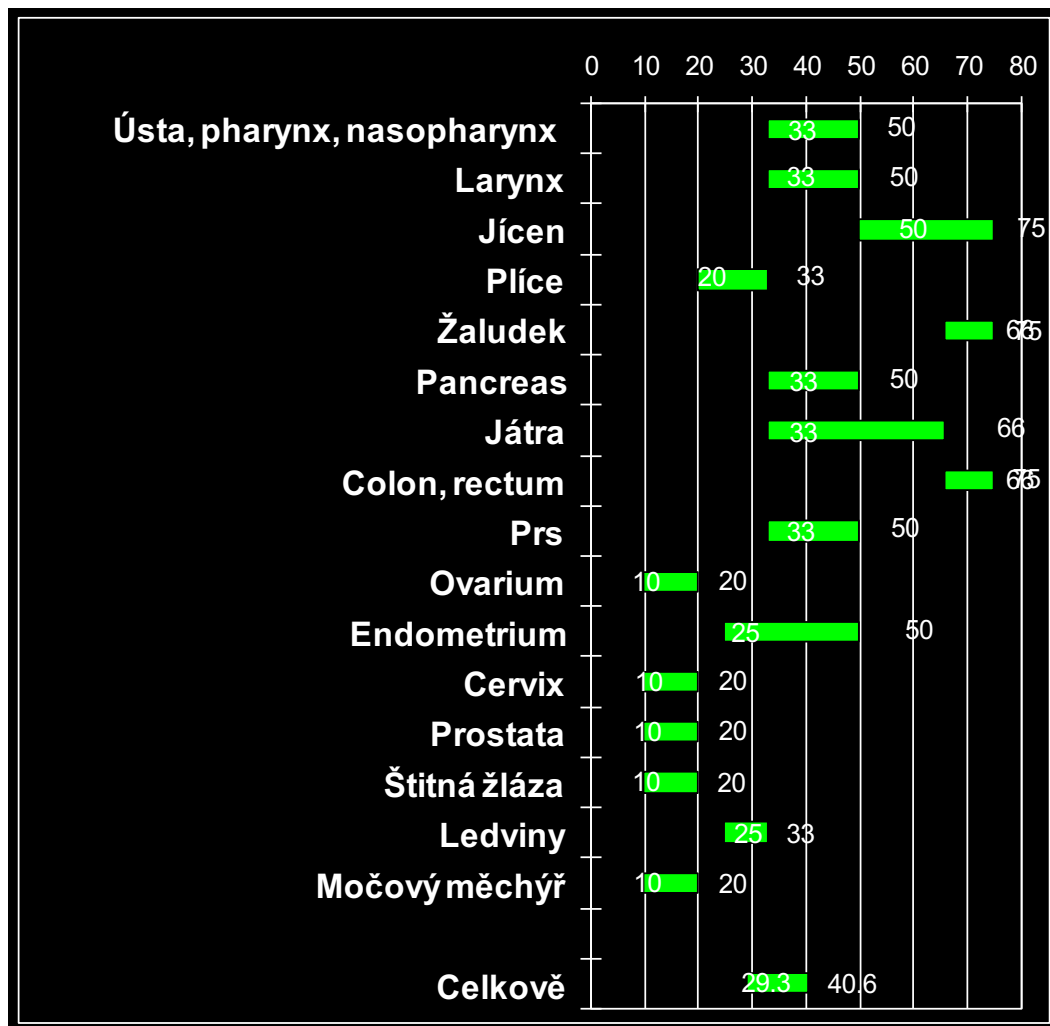
Nádorová onemocnění – etiologie (Atributivní příspěvní k celk. úmrtnosti na nádory)

Faktory prostředí:

- chemické - karcinogeny
- fyzikální - UV, ionizující záření
- biologické - DNA nádorové viry
- RNA nádorové viry - retroviry



Nádorová onemocnění – etiologie



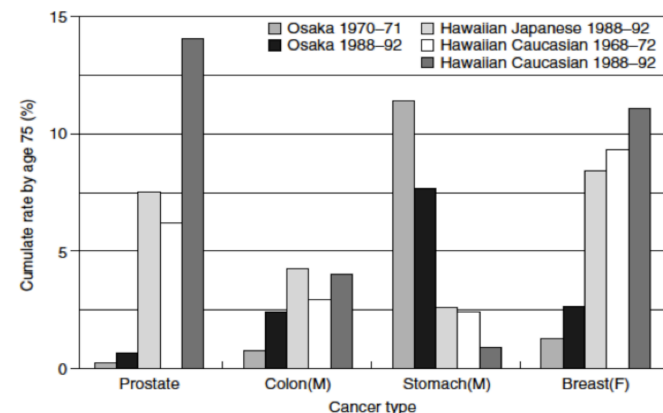
Míra preventability nádorů výživovými faktory

Příklady

Japonci přestěhovaní do Ameriky: Japonsko 6-8x vyšší incidence nádorů žaludku, příští generace již srovnatelná incidence.

-Adventisté sedmého dne: asi poloviční výskyt nádorů oproti ostatní americké populaci (← zákaz kouření, alkoholu, masa).

⇒ Pouze změnou životního stylu by bylo možné snížit výrazně incidenci nádorů



Nádorová onemocnění – prevence

Primární prevence - zábránění vzniku nemoci odstraněním rizik. faktorů

Sekundární prevence - časná detekce nemoci (často v preklin. stadiu), kdy je dostupná léčba efektivní

Terciární prevence - zabránění rozvoje komplikací při manifestním onemocnění efektivní léčbou

Dosud převážně omezena pouze na prevenci sekundární – časný záchyt

Karcinom prsu

Palpační vyšetření

Mamografie, sonografie

Nádory děložního čípku

Pap test (Papanicolaouův test)

Kolorektální karcinom

Palpační vyšetření per rectum

Test stolice na okultní krvácení

Kolonoskopické vyšetření



Evropský kodex proti rakovině

1. Nekuřte
2. Mírněte se v konzumaci alkoholu
3. Vyhýbejte se nadměrnému slunění
4. Dodržujte zdravotní a bezp. pokyny při práci
5. Často jezte zeleninu a ovoce, obiloviny
6. Vyvarujete se vzniku nadváhy
7. Navštivte lékaře, jestliže objevíte.....
8. Navštivte lékaře, jestliže máte přetrv. potíže

Základní pojmy a klasifikace

Hyperplasie – buňky nezměněné, ale zmnožené

Metaplasie – přechodná změna fenotypu buněk, buňky lokalizované na nesprávném místě, často v místě, kde se setkávají dva typy epitelu: děložní čípek – děloha; jícen – žaludek - tzv. Barrettův jícen

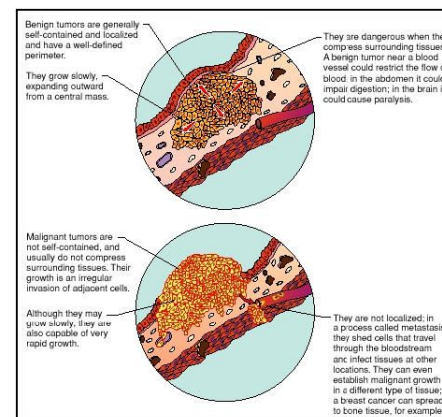
Dysplasie – obsahují již cytologicky abnormální buňky (velikost, tvar, barvitelnost jádra, poměr jádro/cytoplazma, změněná mitotická aktivita) a abnormální poměr buněčných typů

Nádor, tumor, neoplazma, novotvar je geneticky podmíněný abnormální přírůstek buněčné tkáňové hmoty klonálního charakteru. Jeho růst není v koordinaci s růstem okolních tkání a rovnovážným stavem organismu. (Rejthar)

Klasifikace nádorů I - podle schopnosti infiltrovat se do jiné tkáně

Benigní (nezhoubné) nádory zůstávají v místě svého vzniku, jsou ohraničené, neinvadují jiné tkáně, nemigrují a nezakládají metastázy (polypy, lipomy, chondromy, leiomyom, fibrom,...)

Maligní (zhoubné) nádory infiltrují a destrukují okolní tkáně a prostřednictvím krevního a lymfatického systému se šíří do celého těla, v nových tkáních vyvolávají tvorbu sekundárních nádorů (metastáz) X *sekundární nádory (therapy-related)*



Klasifikace nádorů II - podle typu buněk (tkání), ze kterých nádorová buňka vzniká

karcinomy – nádory epiteliálních buněk (asi 80-90% lidských nádorů)

sarkomy – pevné nádory pojivových tkání – svalů, kostí, chrupavky, tvoří asi 1% nádor, z mezenchymálních buněk

leukémie a lymfomy - odvozené od hematopoietických buněk a buněk imunitního systému

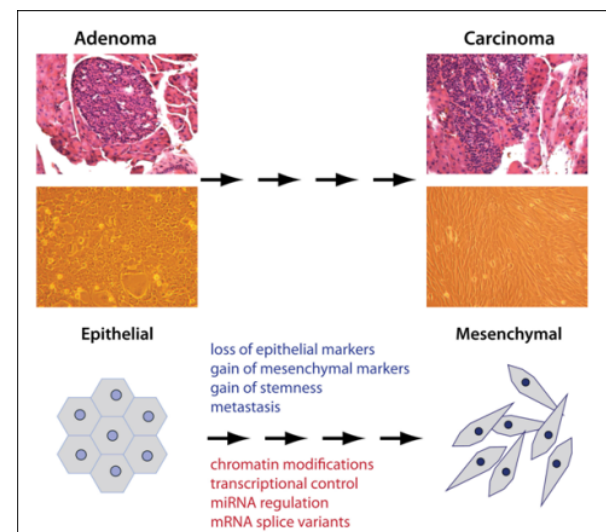
neuroektodermální - nádory odvozené z nervové tkáně (gliomy, neuroblastomy, medulloblastomy,...)

germinální nádory – odvozené z totipotentní zárodečné buňky

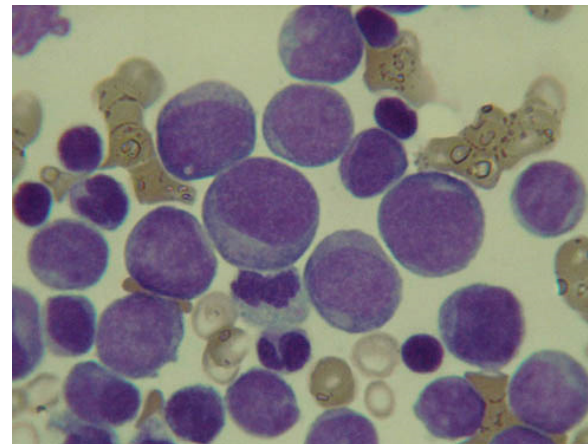
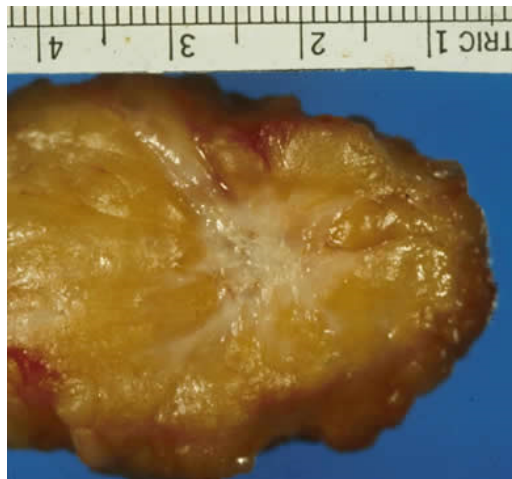
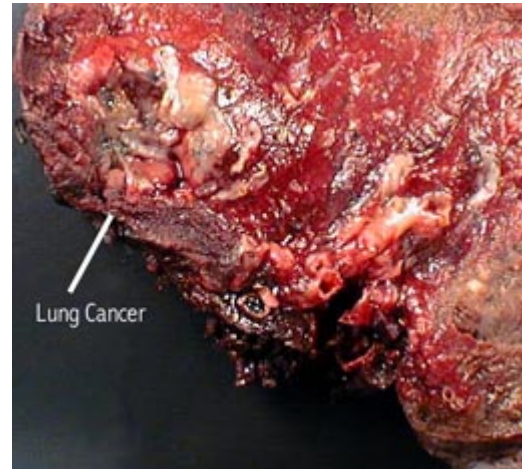
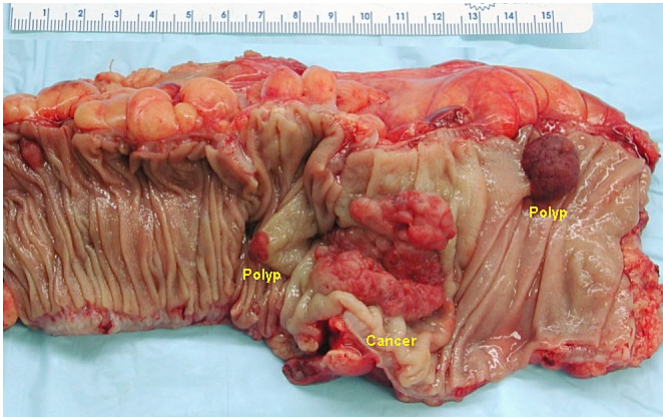
smíšené nádory

Anaplastické nádory, nádory neznámého původu
(1 až 2% nádorů) není možné určit z jaké tkáně je nádor odvozen – **dediferenciace**

Transdiferenciace - EMT



Klasifikace nádorů III - podle postiženého orgánu nebo tkáně karcinom plic, kolorektální karcinom, nádor prsu, akutní myeloidní leukémie...



Klasifikace nádorů

C00-C14	Zhoubné novotvary rtu, dutiny ústní a hltanu
C15-28	Zhoubné novotvary trávicího ústrojí
C30-C39	Zhoubné novotvary dýchací soustavy a nitrohručních orgánů
C40-C41	Zhoubné novotvary kostí a kloubní chrupavky
C43-C44	Melanom a jiné zhoubné novotvary kůže
C45-C49	Zhoubné novotvary mezoteliální a měkké tkáně
C50	Zhoubný novotvar prsu
C51-C58	Zhoubné novotvary ženských pohlavních orgánů
C60-C63	Zhoubné novotvary mužských pohlavních orgánů
C64-C68	Zhoubné novotvary močového ústrojí
C69-C72	Zhoubné novotvary oka, mozku a jiných částí CNS
C73-C75	Zhoubný novotvar štítné žlázy a jiných žláz s vnitřní sekrecí
C76-C80	Zhoubné novotvary nepřesných, sekundárních a neurčených lokalizací
C81-C96	Zhoubné novotvary mizní, krevetvorné a příbuzné tkáně
C97	Zhoubné novotvary mnohočetných primárních lokalizací
D00-D09	Novotvary “in-situ”
D37-D48	Novotvary nejistého nebo neznámého chování

Tab. 2 Základní označení pro jednotlivá nádorová onemocnění podle mezinárodní klasifikace nemocí (MKN).

Histopatologická klasifikace nádorů

STAGING

TNM SYSTÉM

T - rozsah primárního nádoru

N - nepřítomnost či přítomnost
a rozsah metastáz v regionálních
mízních uzlinách

M - nepřítomnost či přítomnost
vzdálených metastáz

T0, T1, T2, T3, T4;

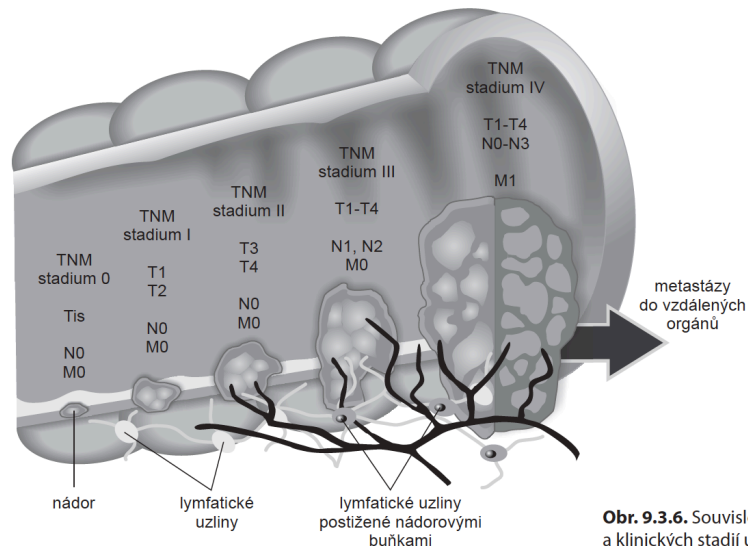
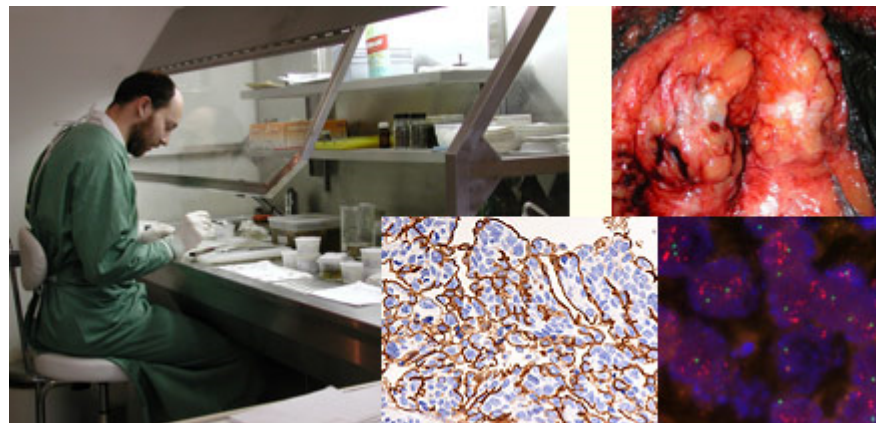
N0, N1, N2, N3;

M0, M1

System je v podstatě „těsnopisem“
pro popis rozsahu určitého
zhoubného nádoru.

T1: malý lokalizovaný nádor, **T2**: větší, ale ohraničený uvnitř orgánu

T3: nádor na hranici orgánu, **T4**: nádor, který se lokálně rozšířil do dalších orgánů



Obr. 9.3.6. Souvislost TNM klasifikace a klinických stadií u solidních nádorů.

Histopatologická klasifikace nádorů

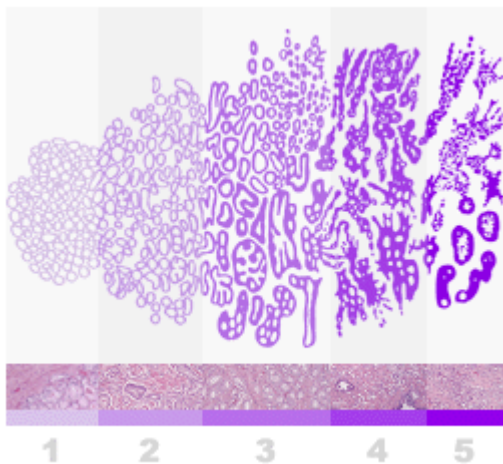
GRADING

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

G1: dobře diferencovaný nádor s dobrou prognózou

G2: středně diferencovaný nádor s prostřední prognózou

G3: málo diferencovaný nádor se špatnou prognózou



TYPING – morfologická diagnostika

Vychází ze závazných klasifikací, obvykle doporučených WHO. Každá jednotka má přidělen svůj číselný kód

ICDO (International Classification of Diseases for Oncology)

Např. kód 8850/0 je lipom.

Např. kód 8850/6 je metastáza liposarkomu.

První číslo za lomítkem označuje biologické vlastnosti:

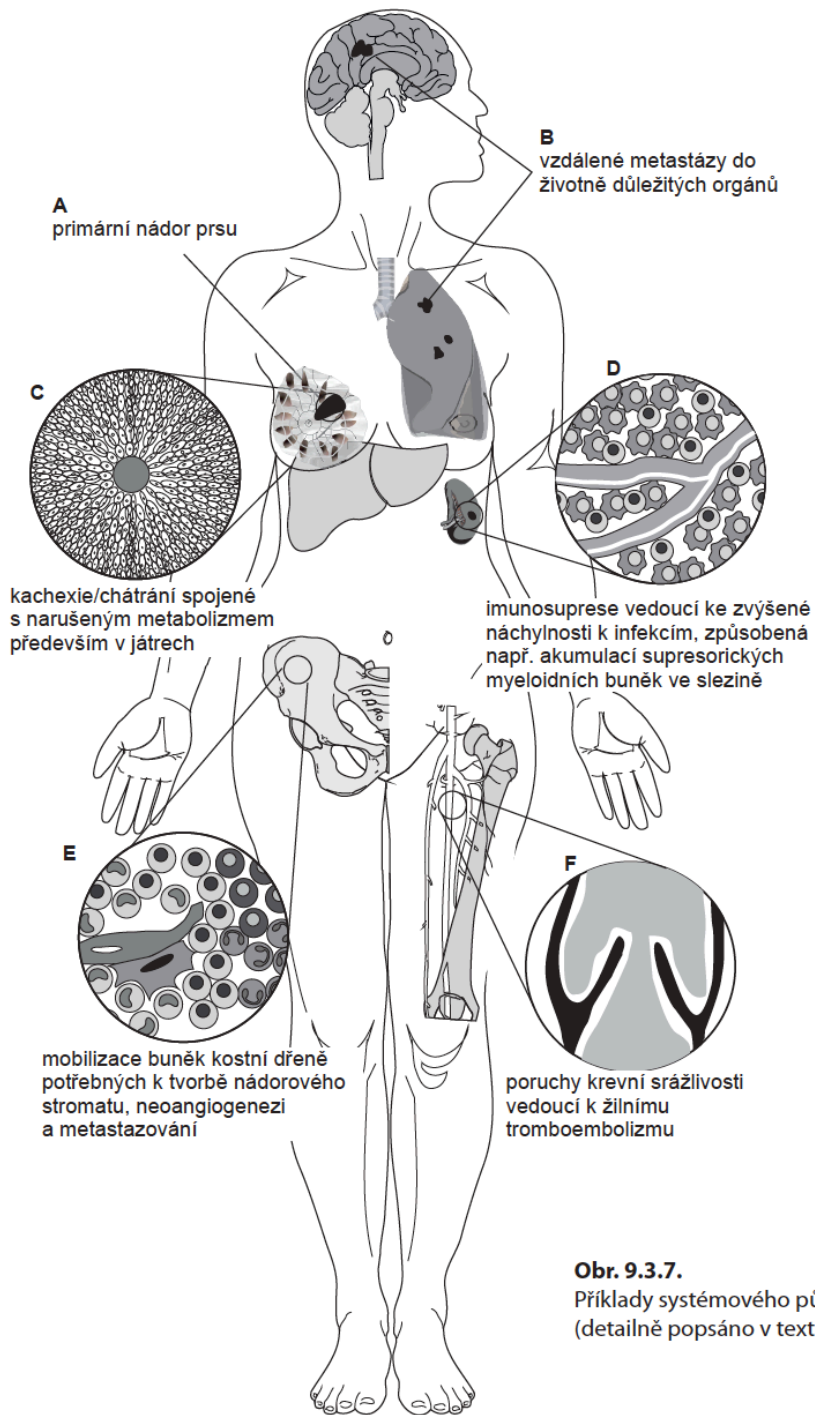
0: benigní

1: nejisté chování

2: carcinoma in situ

3: maligní

6: metastáza



Obr. 9.3.7. Příklady systémového působení nádoru (detailně popsáno v textu).



Obr. 9.3.8. Steve Jobs, zakladatel společnosti Apple, v roce 2005 prezentující nové produkty na konferenci MacWorld (vlevo), v roce 2011 s rozvinutou kachexií, pár měsíců před smrtí po několikaletém boji s neuroendokrinním tumorem pankreatu (vpravo). Po sdělení diagnózy se Jobs rozhodl pro alternativní způsob léčby (veganská dieta, akupunktura, rostlinné přípravky a další), což vedlo k odložení konvenční léčby včetně chirurgického odstranění tumoru o devět měsíců. Toto rozhodnutí, kterého, dle životopisce Waltera Isaacsona, v závěru života velice litoval, bylo pravděpodobně jednou z příčin jeho úmrtí na tento jediný dobře léčitelný nádor pankreatu.

Informační obsah lidského genomu



3,2 miliard jednotek DNA kódu:

- 127 knih
- 1000 stran na knihu
- cca 25000 znaků na stranu

Informační obsah lidského genomu



Genom (3,2 Gbp) – 127 knih

Exom (30-40 Mbp) – 2,5 knihy
(23 000 genů, 180 000 exonů)

Interindividuální variabilita – 1 kniha
(0,1-0,4% genomu)

500-genový panel – 40 stran (kapitola
o nádorové biologii)

Jeden gen – $<1/10$ strany

Nádory vznikají v důsledku akumulace genetických změn

Nádorová transformace buněk je důsledek akumulace změn v sekvenci DNA (mutací)

Doprovodné mutace nejsou zapojené do patogeneze nádoru

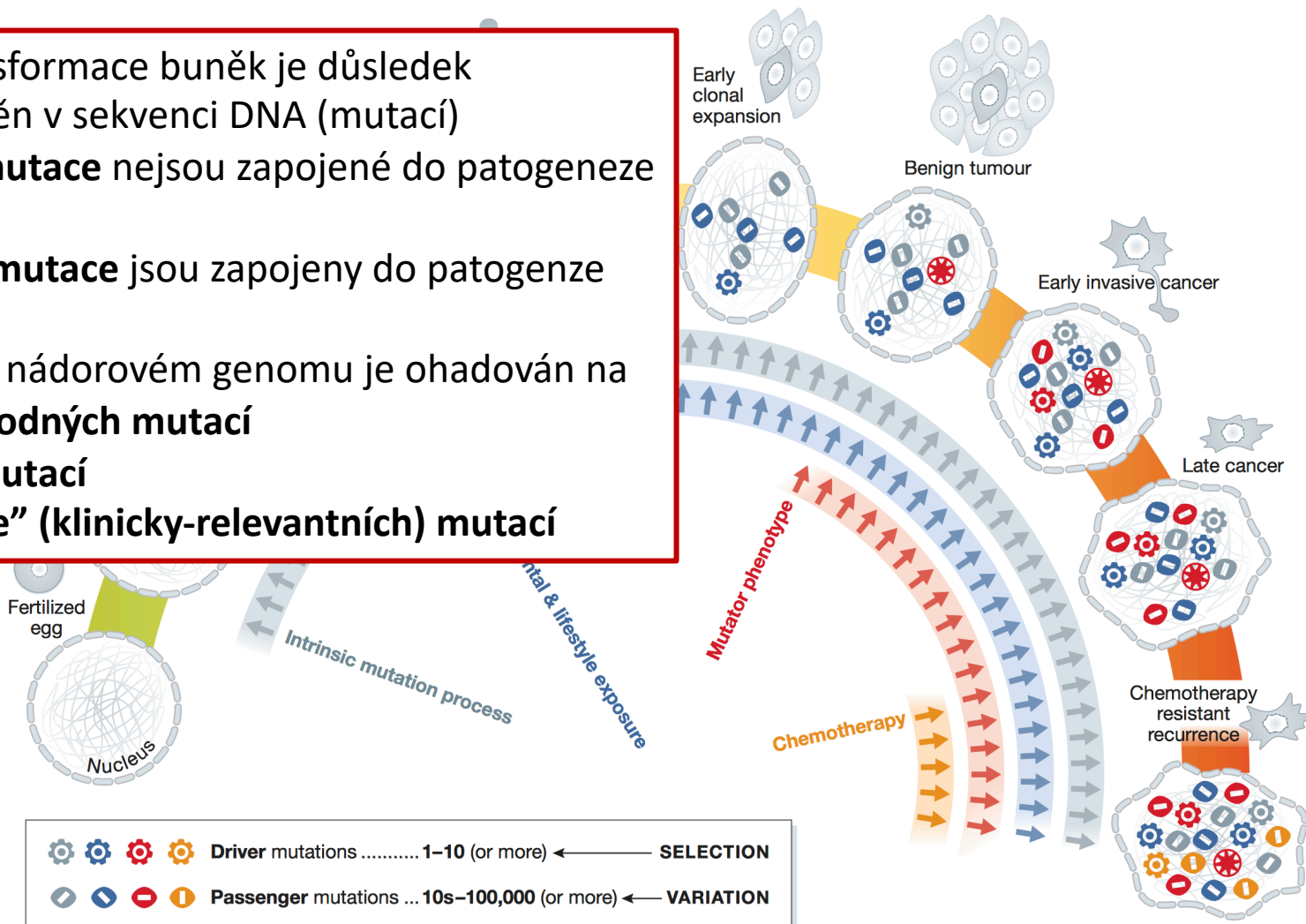
Řídící (driver) mutace jsou zapojeny do patogeneze nádoru

Počet mutací v nádorovém genomu je odhadován na

10 000 doprovodných mutací

5-10 řídících mutací

1-2 "actionable" (klinicky-relevantních) mutací



PODMIŇUJÍCÍ ZNAK – GENOMOVÁ NESTABILITA

- Nádory vznikají **postupnou akumulací genetických (a epigenetických) změn** genů, které řídí buněčné dělení, buněčnou smrt a další důležité procesy v buňce.
- Z výpočtu, který vycházel ze známé mutační rychlosti v somatických buňkách k takové akumulaci mutací nemůže během lidského života dojít.

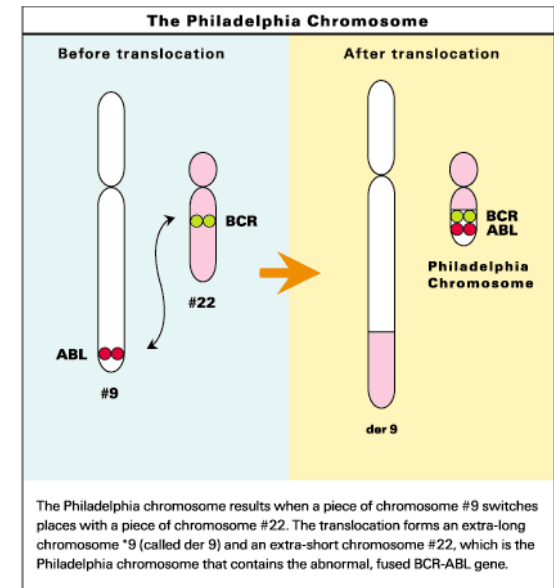
Co umožňuje nádorovou transformaci?

- Akumulace všech nutných mutací umožněna **genetickou nestabilitou** (tzv. „mutator hypothesis“). Nestabilita je záležitost **rychlosti**, s jakou k mutacím dochází
 - K akumulaci stačí **normální rychlost mutací ve spojení s vlnami klonální expanze, které mohou být způsobeny pozitivní selekcí buněk** “prenádorových”.
- **Většina nádorů je geneticky nestabilních**

Typy genetických změn v nádorech

1. Menší změny v sekvenci DNA - mutace, menší delece a inserce (např. mutace *K-ras* se vyskytuje u 80% nádorů pankreatu, převážně mutace *p53* u téměř poloviny všech nádorů,..)
2. Změny v počtu chromozomů - ztráty případně zisky celých chromozomů (ztráta chromozomu 10 u glioblastomů spojena se ztrátou nádorového supresoru *PTEN*; získání chromozomu 7 u papilárních renálních karcinomů spojeno s duplikací mutantního onkogenu *c-met*)
3. Chromozomální translokace - fúze částí odlišných chromozomů nebo normálně nesouvisejících částí téhož chromozomu (na molekulární úrovni může být doprovázeno fúzemi mezi dvěma odlišnými geny) (Philadelphský chromozom a další translokace typické pro řadu leukémií)
4. Amplifikace genů (amplifikace genu *N-myc* u 30% neuroblastomů)

Ke genetické nestabilitě dochází **na více úrovních**.



1. Nestabilita v sekvenci DNA – NIN a MIN

- Tento typ nestability je u lidských nádorů vzácnější, ale když se vyskytne, DNA jsou a souvisle oprav DN

Tabulka 1.4 Příklady poruch v mechanismech zajišťujících stabilitu genomu a s nimi spojené hereditární syndromy

Kontrolní nebo opravný mechanismus	Syndrom	Postižené geny
kontrolní body buněčného cyklu	Li-Fraumeni, hereditární karcinom prsu, retinoblastom, hereditární melanom	p53, CHK2, BRCA1, RB, p16 ^{INK4A}
oprava chybného párování bazí (MMR)	hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC)/Lynchův syndrom	MLH1, MSH2, PMS2, MSH6
nukleotidová excizní oprava	xeroderma pigmentosum	geny XP A-G
nalezení a reparace dvouřetězcových zlomů DNA	ataxia telangiectasia (AT)	ATM
	Nijmegen breakage, Berlin breakage	NBS11
	onemocnění podobné AT	MRE11
	hereditární karcinom prsu	BRCA1, BRCA2, CHK2
helikázová aktivita	Bloomův syndrom	BLM

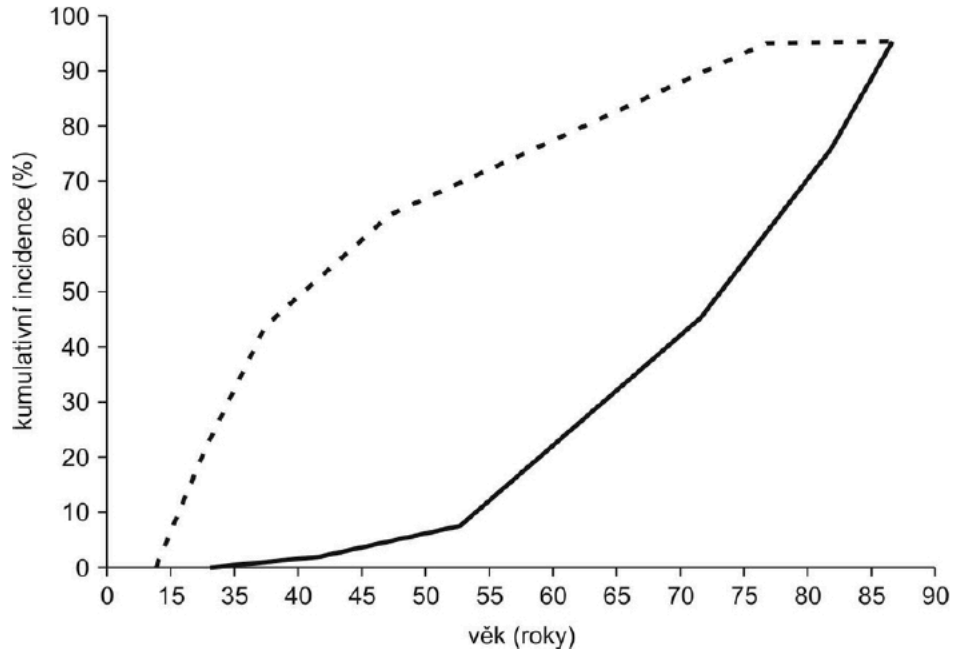
2. Nestabilita

Ve srovnání s CIN! Během které mohou jednoznačná kritéria k určení genu odpovědných za CIN a k určení jejich „míry zodpovědnosti“. Poruchy na úrovni kontroly dělicího vřetenka.

Proces kancerogeneze

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

Maligní
Nádor



Obr. 9.3.17. Kumulativní incidence sporadických a hereditárních forem nádorových onemocnění v závislosti na věku (přerušovaná čára – hereditární formy, plná čára – sporadické formy).



Repair
before division

Division with damage
(mutation, aneuploidy)

KANCEROGENEZE – CHEMICKÁ, FYZIKÁLNÍ, BIOLOGICKÁ-VIROVÁ

CHEMICKÁ

Tab. 9.3.6. Příklady chemických látek typu nepřímých kancerogenů.

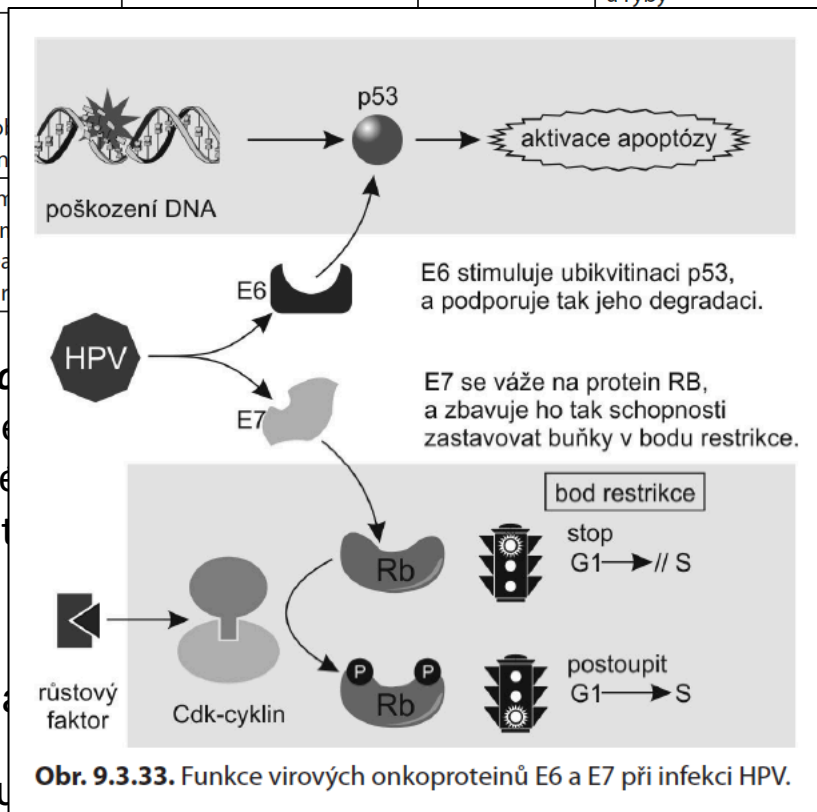
Skupina	Látka (příklady)	Postižený orgán, typ nádoru	Latence (roky)	Výskyt
polycyklické aromatické uhlovodíky	benzpyren 3-metylcholantren benzenantracen	plice, hrtan, kůže, močový měchýř (karcinomy)	9–20	uhelný, cigaretový dehet, asfalt, grilované maso, uzené maso a ryby
aromatické aminy, amidy, azo-barviva	α -, β -naftylamin 4-aminodifenyl 4-nitrodifenyl dimethylaminoazo auramin, benzidin			ské barvy
nitrozoaminy	dimetyl-nitrozoan N-metyl-nitrozoan N-etyl-nitrozoare N-metyl-nitrozour			ráty, uzeniny,

FYZIKÁLNÍ

Ultrafialové záření indukuje mutace p53 a nádor
 Klasická epidemiologie již dávno asociovala sluneční
 epidemiologie identifikovala specifické vlnové délky
 karcinogenní (290-320 nm – UVB) a vedou k mut

VIROVÁ

DNA nádorové viry neobsahují onkogeny, a
 supresory (RB, p53, p300/CBP) hostitelské
 papilomaviry HPV-16, HPV-18: E6 interaguje



Obr. 9.3.33. Funkce virových onkoproteinů E6 a E7 při infekci HPV.

vými
ze:

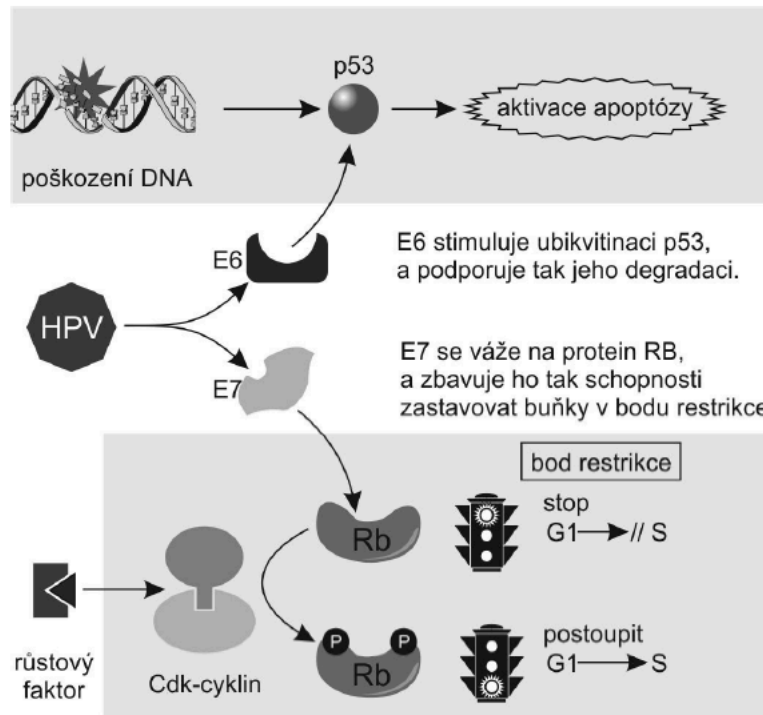
Onkogenní (nádorové) viry

- **Retroviry** (RNA viry): obsahují ve svém genomu onkogen (akutně transformující viry) nebo aktivují protoonkogen, vedle kterého se integrovaly (pomalu transformující=inzerční mutageneze)

v-onc (virový onkogen)= gen akutně transformujícího retroviru

c-onc
buněk
myc -
erbA -

- **DNA onkogeny** (RB, do SV40 interakce adenocarcinomu E1B in papile E7 int



Obr. 9.3.33. Funkce virových onkoproteinů E6 a E7 při infekci HPV.

protoonkogeny, genu normálních

ův myší sark. v.
ový v.

ategii transformace: neobsahují
eragují s nádorovými supresory
y a tak hostitelskou buňku tlačí

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

T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells

THE early region of the small DNA tumour virus, simian virus 40 (SV40), is known to code for at least two polypeptides, the t and T antigens ('small t' and 'large T'). Both these polypeptides are expressed in cells transformed by the virus^{1,2}, and the T antigen is essential for both the initiation and maintenance of the transformed state³⁻⁵. We therefore need to elucidate the mechanism of SV40-induced transformation. We report here that the T antigen in a line of cells transformed by SV40 forms an oligomeric complex with the Rb protein. This complex is essential for the maintenance of the transformed state.



300/CBP;

p53, p300/CBP;

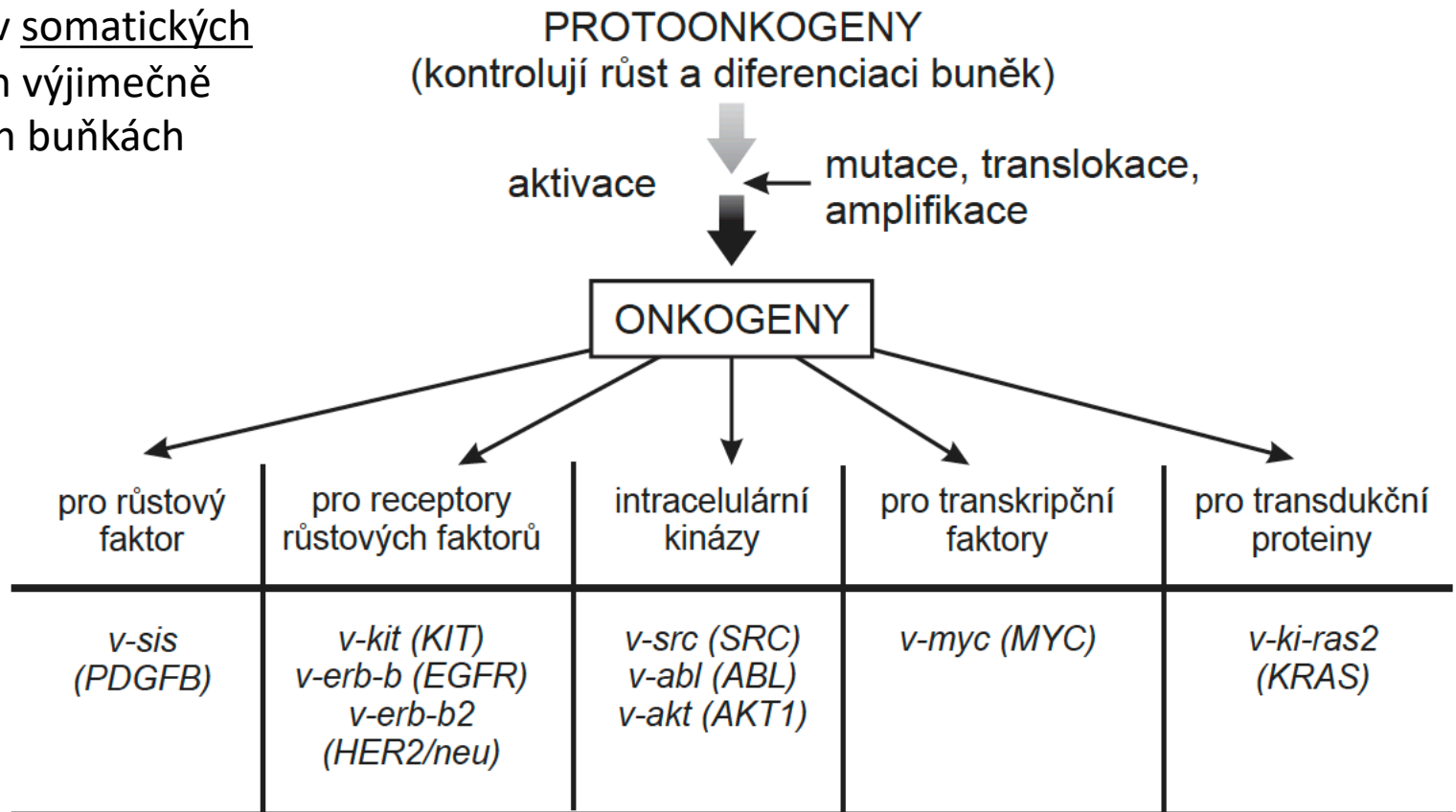
Objevení p53

NÁDOROVÉ GENY - ONKOGENY

Mutace protoonkogenů

jsou:

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

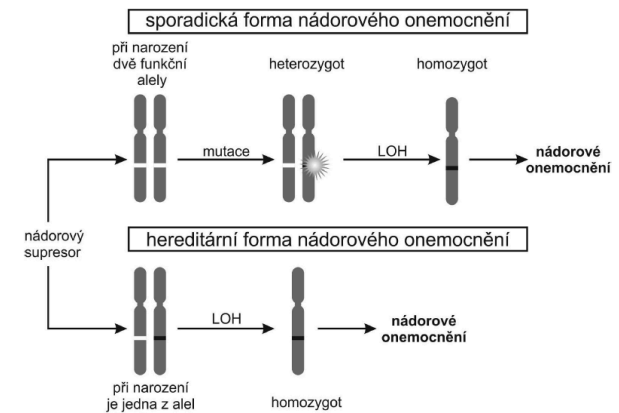
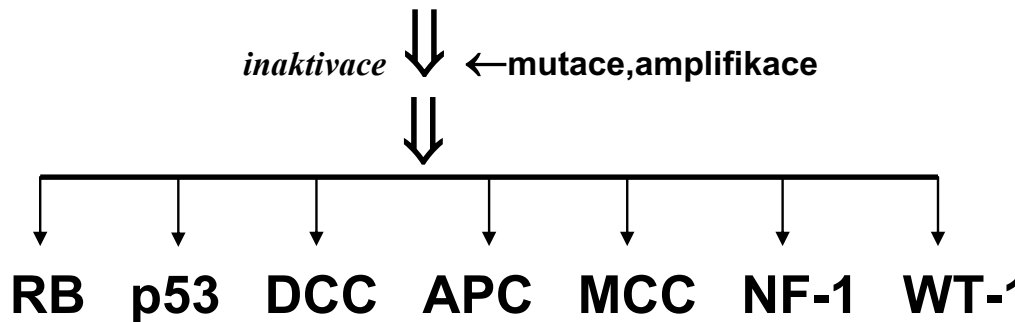


NÁDOROVÉ GENY – NÁDOROVÉ SUPRESORY



TUMOROVÉ SUPRESOROVÉ GENY (= ANTIONKOGENY)

(účastní se na přenosu signálu mezi buňkami a kontrolují programovaný zánik buněk)



Obr. 9.3.21. Knudsonův model dvou zásahů. Zdravý jedinec je po narození nositelem dvou funkčních alel nádorového supresoru. V průběhu času u něj dochází k inaktivaci jedné z alel spontánní mutací. Za další čas dojde k události (LOH neboli ztráta heterozygotnosti), která způsobí ztrátu zbývající funkční alely. Teprve nyní dojde k rozvoji nádorového fenotypu. Oproti tomu u jedinců se zárodečně inaktivovanou jednou alelou stačí k rozvoji nádoru pouze LOH. Nádory se v tomto případě vyskytují v nižším věku s krátkým obdobím latence.

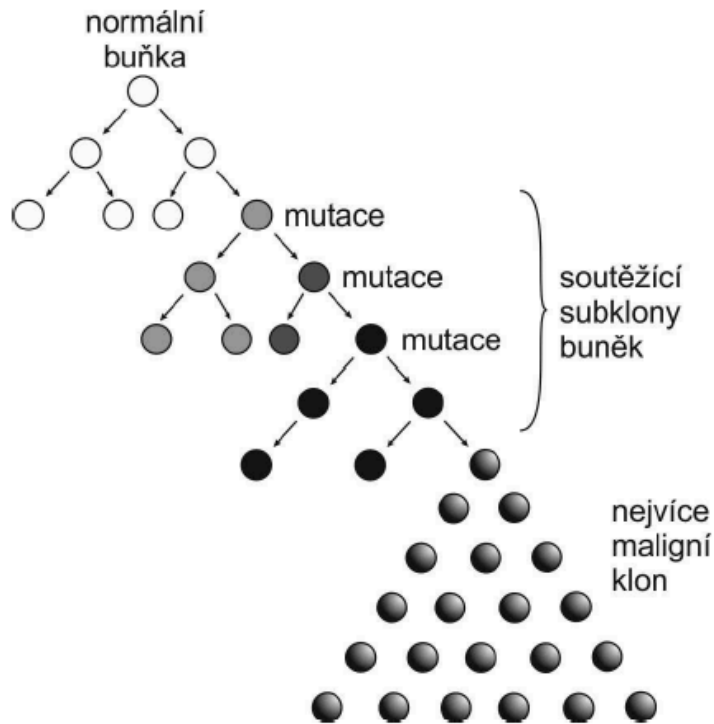
Produkty genů pro nádorové supresory (**antionkogeny**) v normálních buňkách nevyvolávají proliferaci, ale naopak ji potlačují a udržují buňky ve stadiu klidu (G_0). Jejich ztráta se projevuje neregulovanou proliferací.

Knudsonova „two hits hypothesis“ (RB)

Mutace nádorových supresorů jsou:

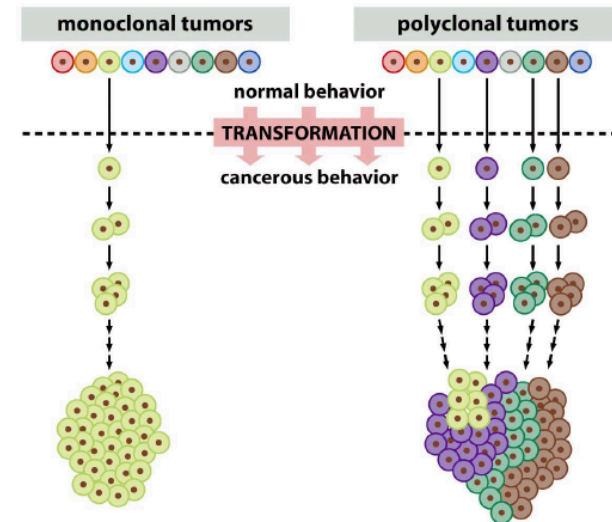
- inaktivující
- recesivní (spojeno s **LOH**) („recesivní onkogeny“)
- vyskytují se v somatických a také v zárodečných buňkách

Klonální model vývoje nádoru: selekce, klonální expanze



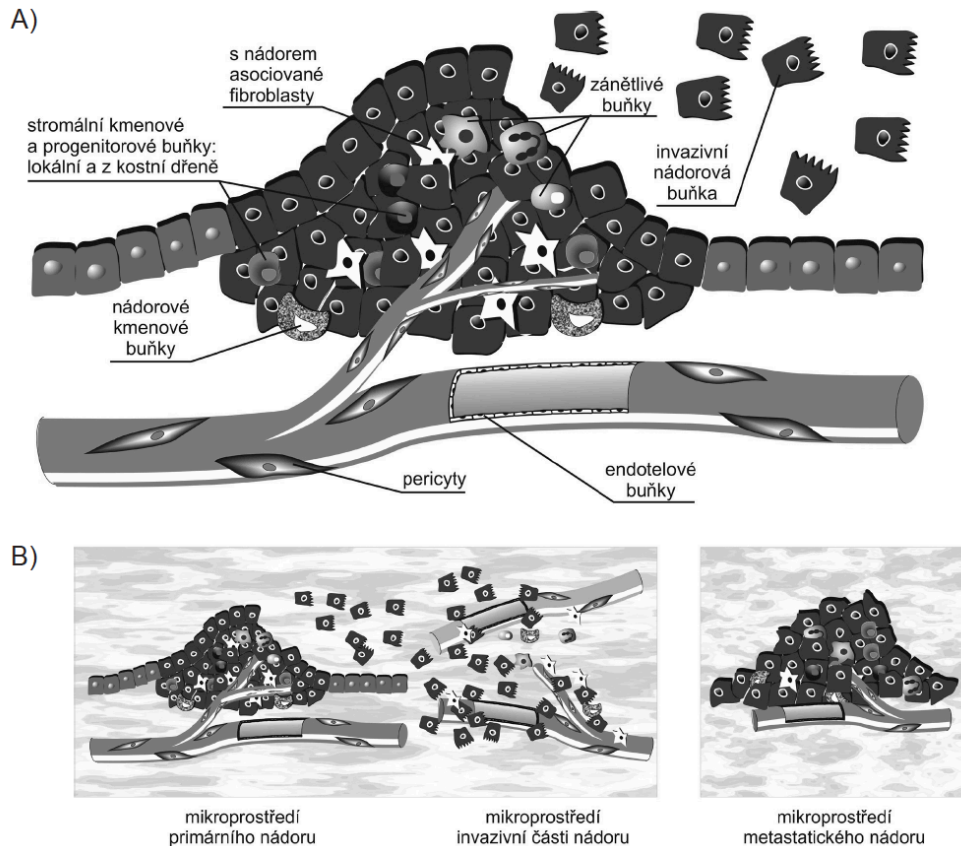
Obr. 9.3.16. Opakované cykly mutací a klonální expanze vedoucí ke vzniku nádoru.

ROKY



Jsou nádory monoklonální nebo polyklonální?

HISTOLOGICKÁ SKLADBA NÁDORU – NÁDOR JE KOMPLEXNÍ TKÁŇ



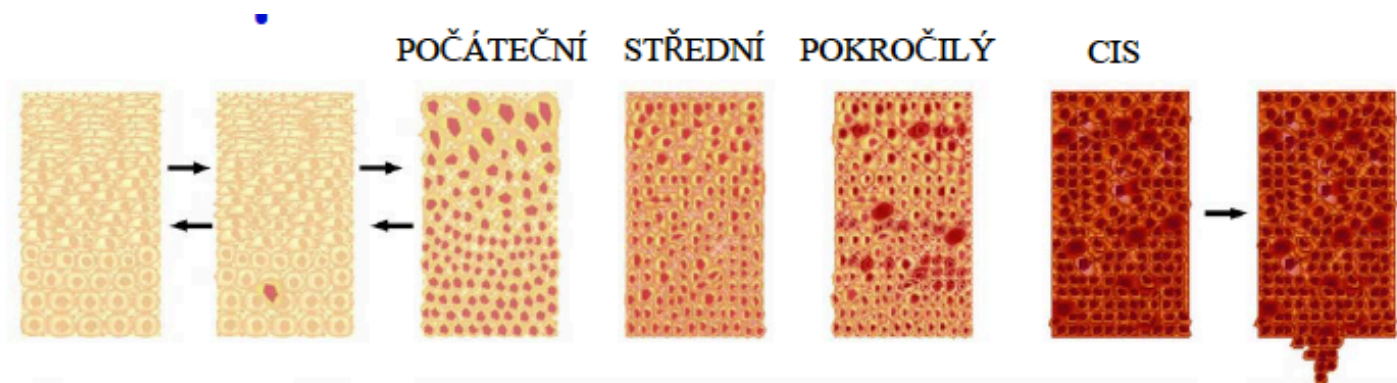
Obr. 9.3.12. Nádor jako komplexní tkáň (A) a různé typy nádorového mikroprostředí vytvářeného stromálními buňkami nádoru v rámci jeho invazivního chování a metastazování (B).

Nádorové stroma

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

Nádorový parenchym

- vlastní nádorově transformovaný parenchym

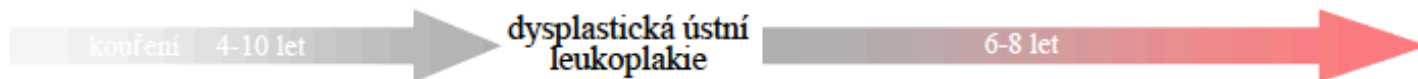


NORMÁLNÍ **PREKANCERÓZNÍ** **KARCINOM**

tlusté střevo



hlava a krk



čípek



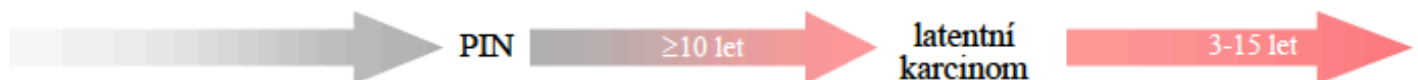
plice kuřáka



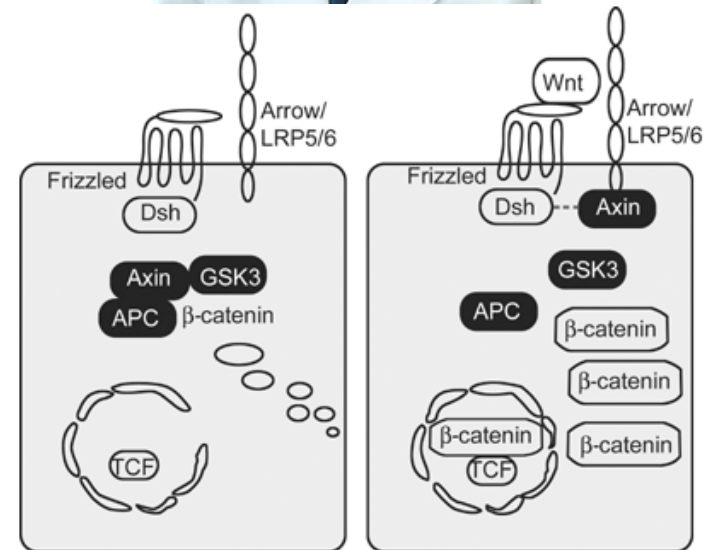
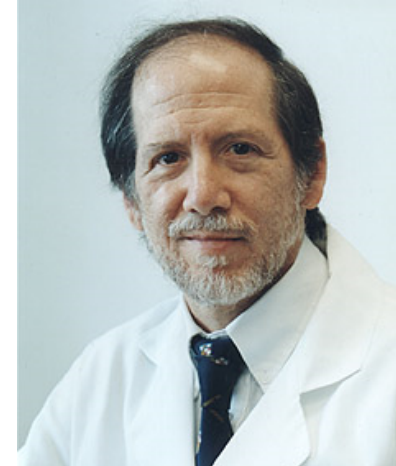
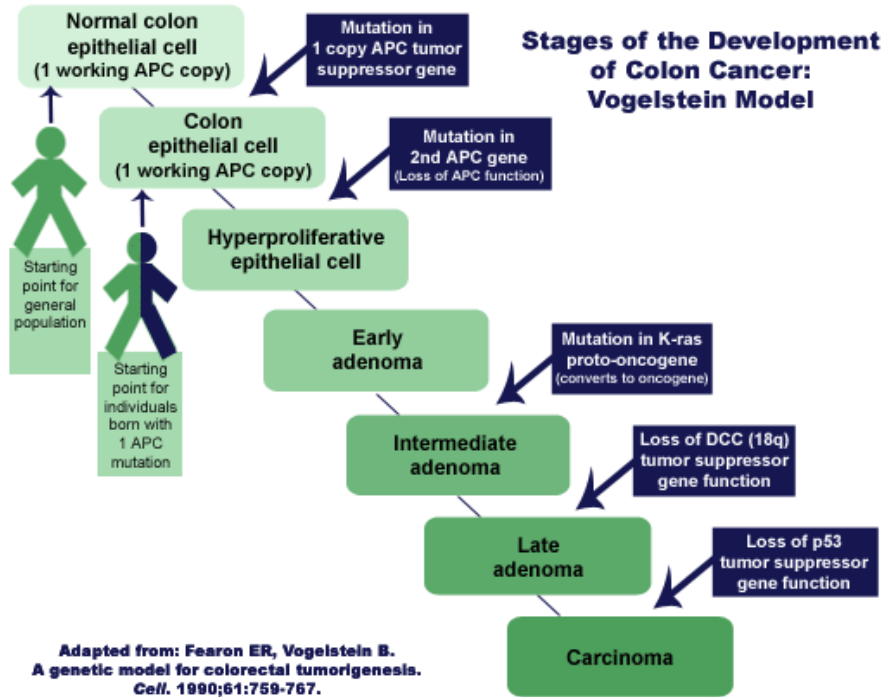
prs



prostata









VOGELSTEINUV SEKVENČNÍ MODEL VZNIKU NÁDORŮ TLUSTÉHO STŘEVA



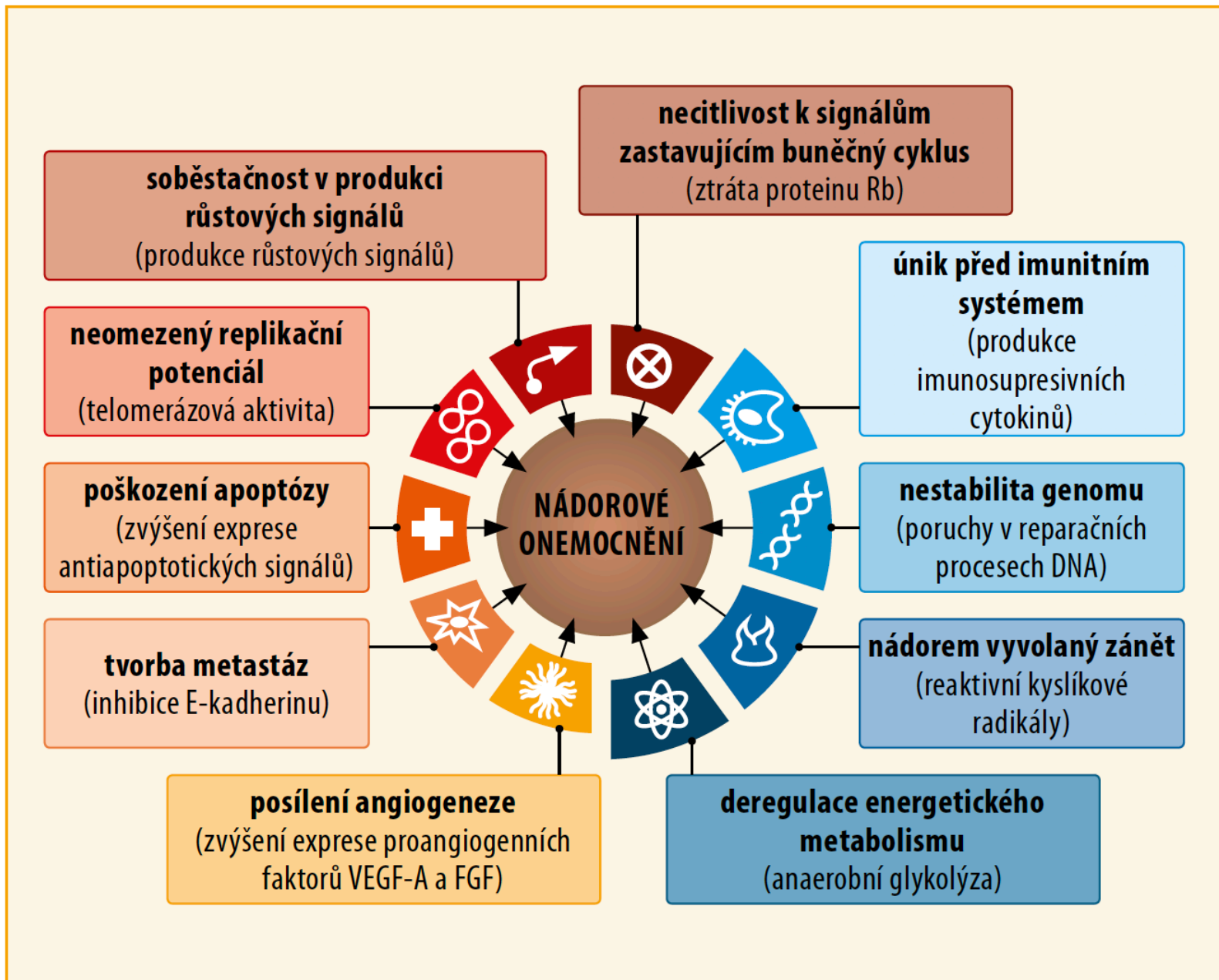
FAP – mutace APC

Úvod do biologie nádorové buňky

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

	získaná schopnost	příklad
	Soběstačnost v produkci růstových signálů	aktivace <i>K-ras</i>
	Necitlivost k signálům zastavujícím b.c.	ztráta RB, p53
	Poškození apoptózy	produkce IGF, p53
	Neomezený replikační potenciál	aktivace telomerázy
	Posílení angiogeneze	produkce VEGF
	Tvorba metastáz	inaktivace E-kadherinu

Nestabilita genomu jako podmínka akumulace všech nutných změn.



Obr. 1.1 Hlavní znaky maligního nádoru (upraveno podle Hanahan D, 2011)

Kancerogeneze má individuální průběh

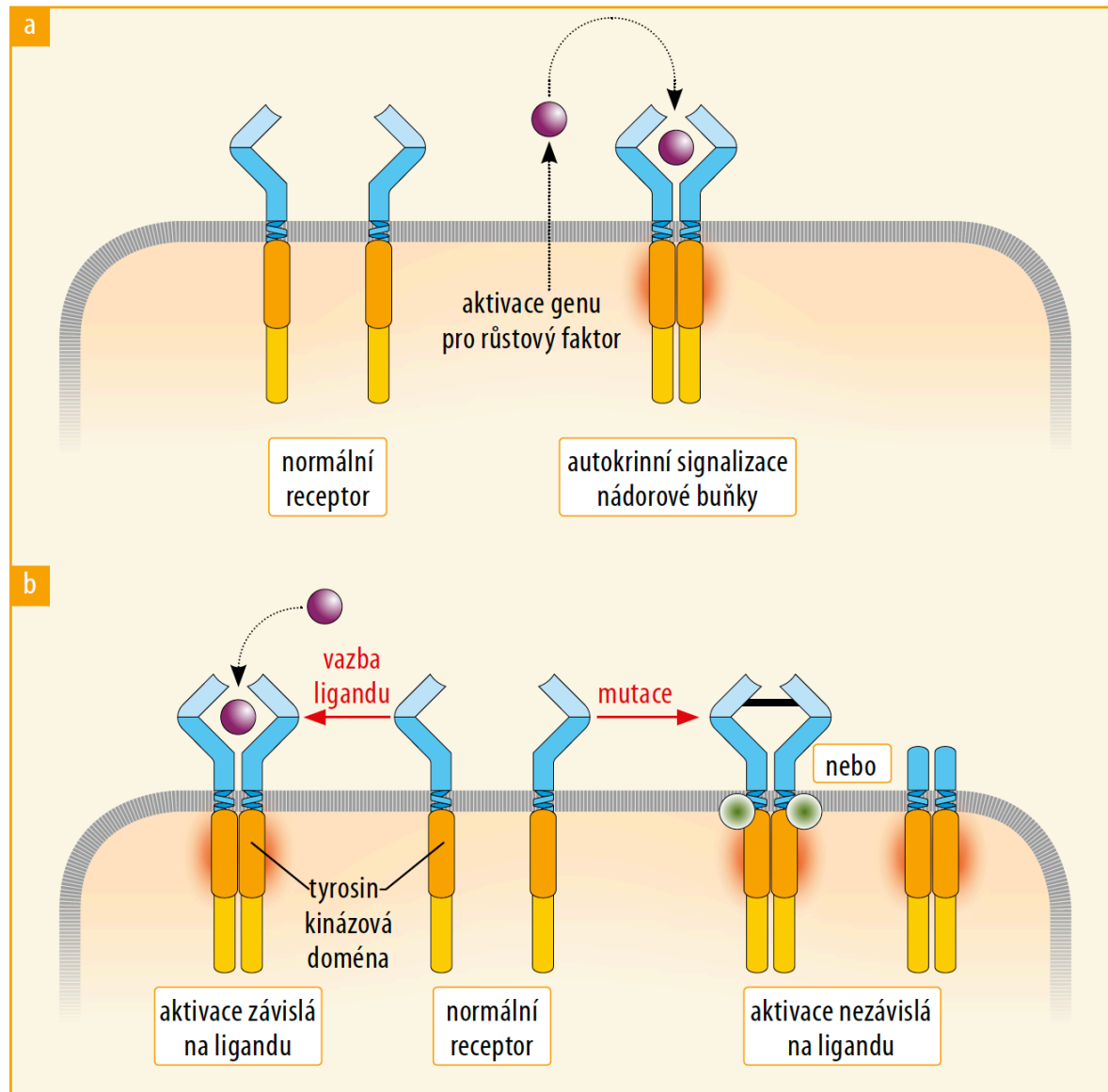


Obr. 1.2 Individuální průběh kancerogeneze (upraveno podle Hanahan D, 2000)

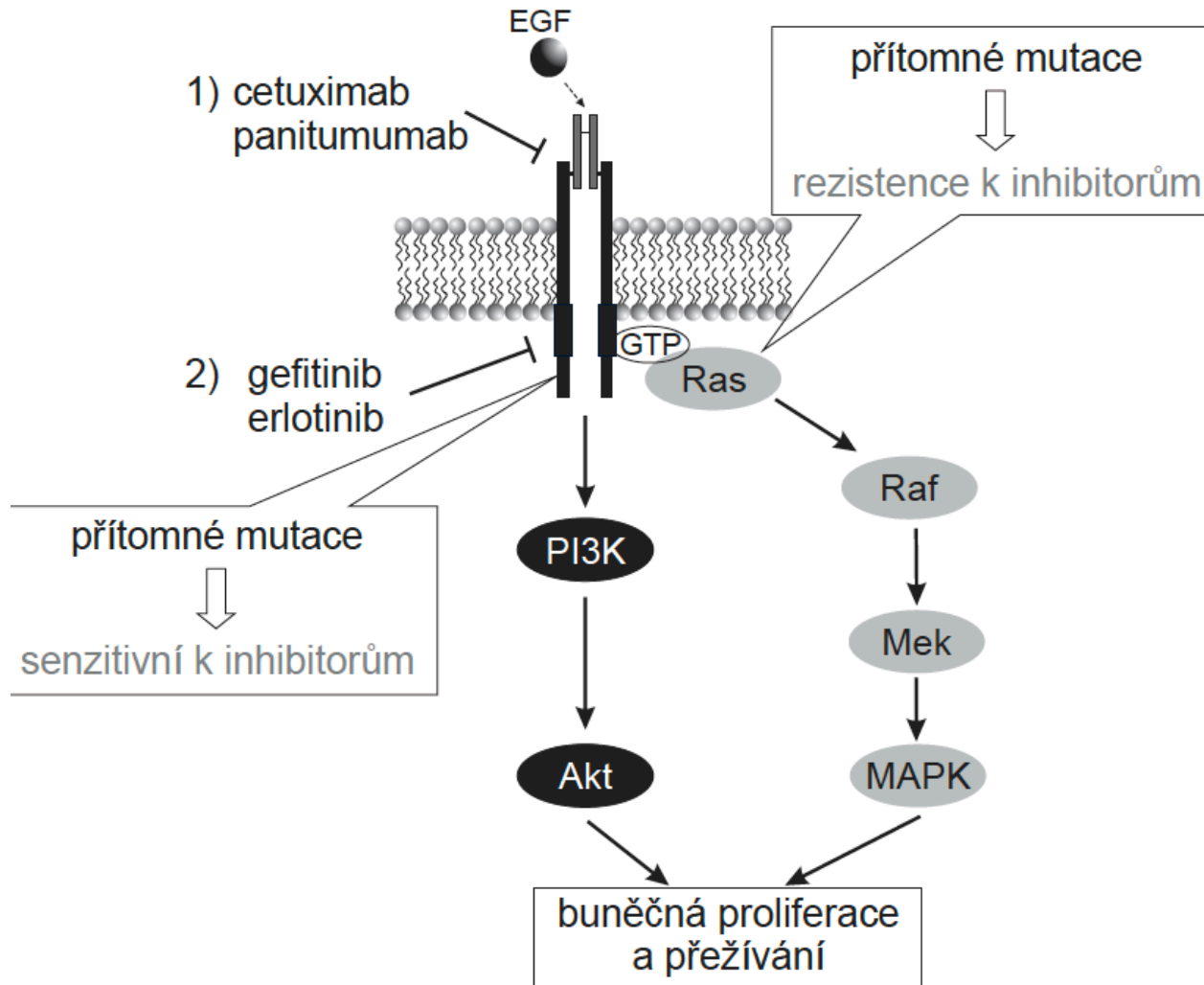
Individuální je

- pořadí zásahů
- počet zásahů
- konkrétní zasažené geny

1. NEZÁVISLOST NA PRODUKCI RŮSTOVÝCH SIGNÁLŮ např. aktivace receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR)



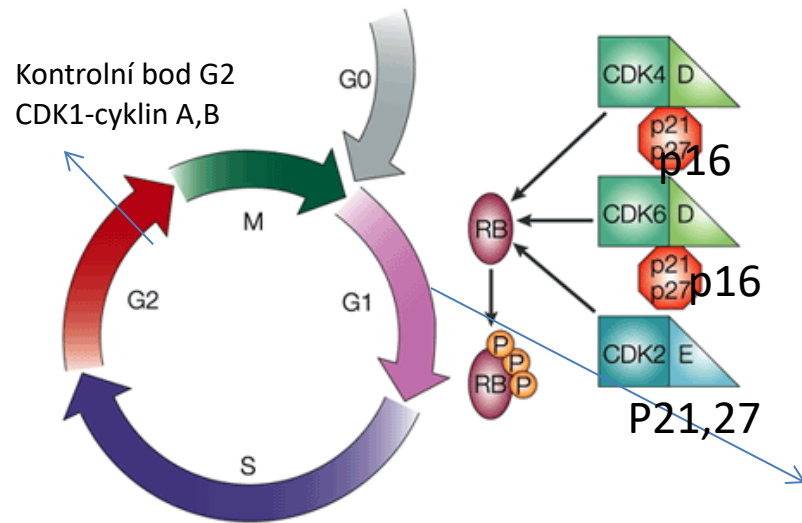
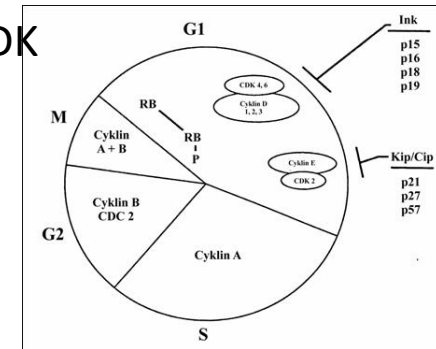
EGFR signalizace a důsledky její inhibice



2. PORUCHY REGULACE BUNĚČNÉHO CYKLU

Inhibitory CDK

Ztráta regulace buněčného cyklu je kritická součást transformace



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

M - kopie DNA jsou separovány;
kondenzované chromozomy

G1 - obsah DNA: 2N

S - replikace DNA; inkorporace značených nukleotidů

G2 - obsah DNA: 4N

G0 - stárnoucí nebo dlouhodobě se nedělící buňky

bod restrikce: klíčový regulační /
rozhodovací bod buněčného cyklu
CDK4/6, cykliny D, CDK2-cyklin E

Každá fáze cyklu je katalyzovaná specifickými **komplexy cyklin-dependentní kinázy a cyklinu.**

cyklin-dependentní kinázy (CDK, CDC) – aktivita je závislá na vazbě cyklinu

cykliny - jejich hladina kolísá v závislosti na fázi buněčného cyklu

RB- retinoblastomový gen, nefosforylovaná forma pRB blokuje přestup z G1 do S fáze (E2F)

Fosforylovaná nebo **hyperfosforylovaná forma pRB** – **neaktivní** – **proliferace**

Retinoblastom – maligní nádor retiny, obě alely pRB mutovány nebo deletovány

3. NARUŠENÁ APOPTÓZA

Nekróza:

týká se skupiny postižených buněk
vyvolána nefyziologickým poškozením
(virová infekce, hypotermie, hypoxie,
metabolické jedy, ..)

fagocytóza makrofágy

významná **zánětlivá reakce**

Apoptóza –

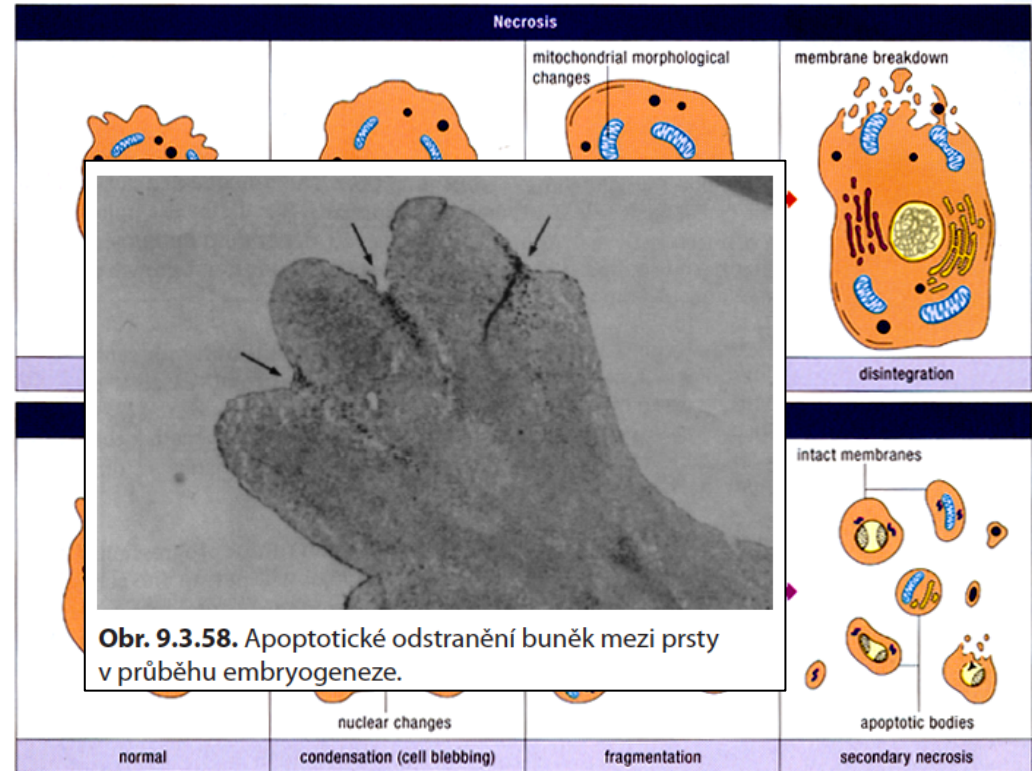
programovaná buněčná smrt:

postihuje jednotlivé buňky

indukována fyziologickými stimuly
(nedostatek růstových faktorů, změny
hormonálních hladin, ..)

fagocytóza okolních buněk nebo
makrofágy žádná zánětlivá reakce

na rozdíl od nekrózy je popsáno
mnoho příkladů **fyziologické** apoptózy.



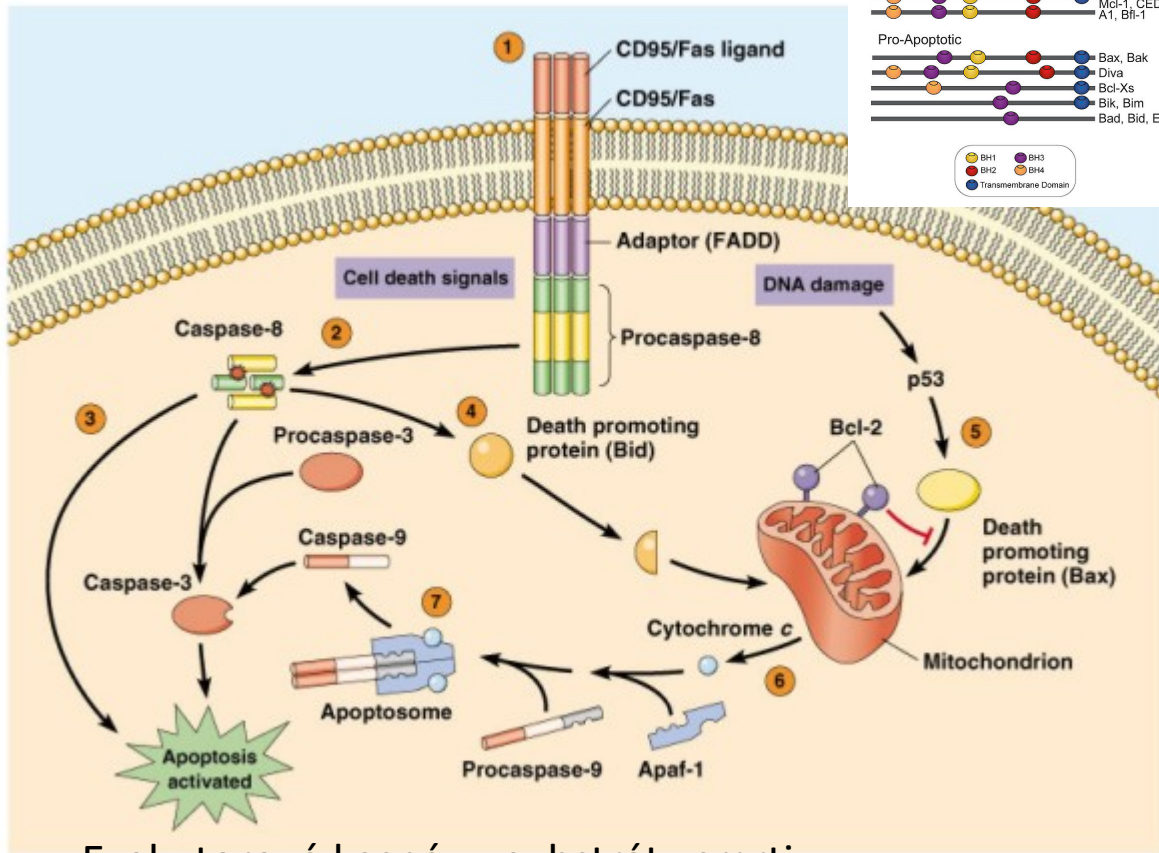
Zvýšená apoptóza

syndrom získané imunodeficience AIDS (CD4+ T-buňky),
neurodegenerativní nemoci (Alzheimerova, Parkinsonova nemoc)
myelodysplastický syndrom (hypercelulární dřev, periferní cytopenie)
některé autoimunitní nemoci

Suprese apoptózy

Nádory, některá autoimunitní onemocnění, virové infekce

Regulace a průběh apoptózy



Vnější cesta receptorová:

vazbou ligandu na příslušný **receptor smrti** vzniká proapoptotický signál. Ten vede k aktivaci domény smrti za kooperace dalších proteinů. Cílem je aktivace **prokaspázy 8**.

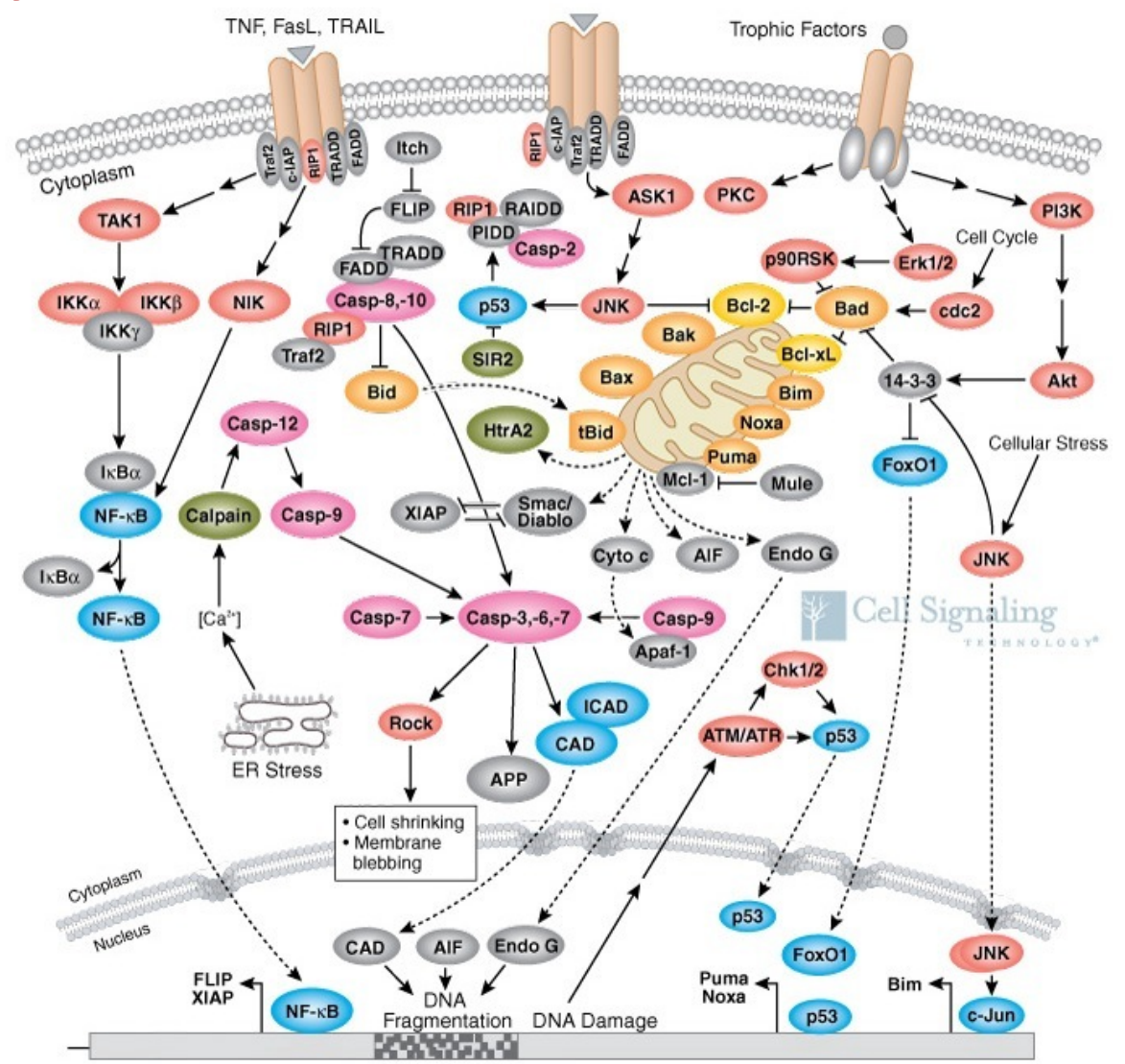
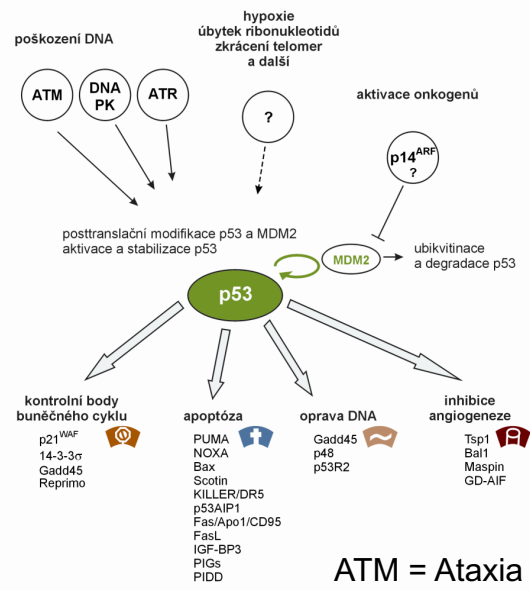
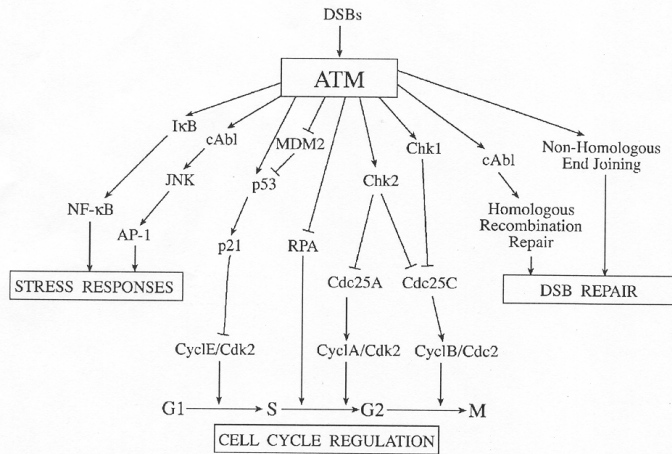
3 geny Ced3,4,9 kontrolující apoptózu u *C. elegans*
 13 kaspáz homologů Ced3
Apaf1 homolog Ced4
Bcl2 rodina-17 homologů Ced9
 supresory apoptózy brání uvolnění cyt-c z mitochondrií

Exekutorové kaspázy, substráty smrti

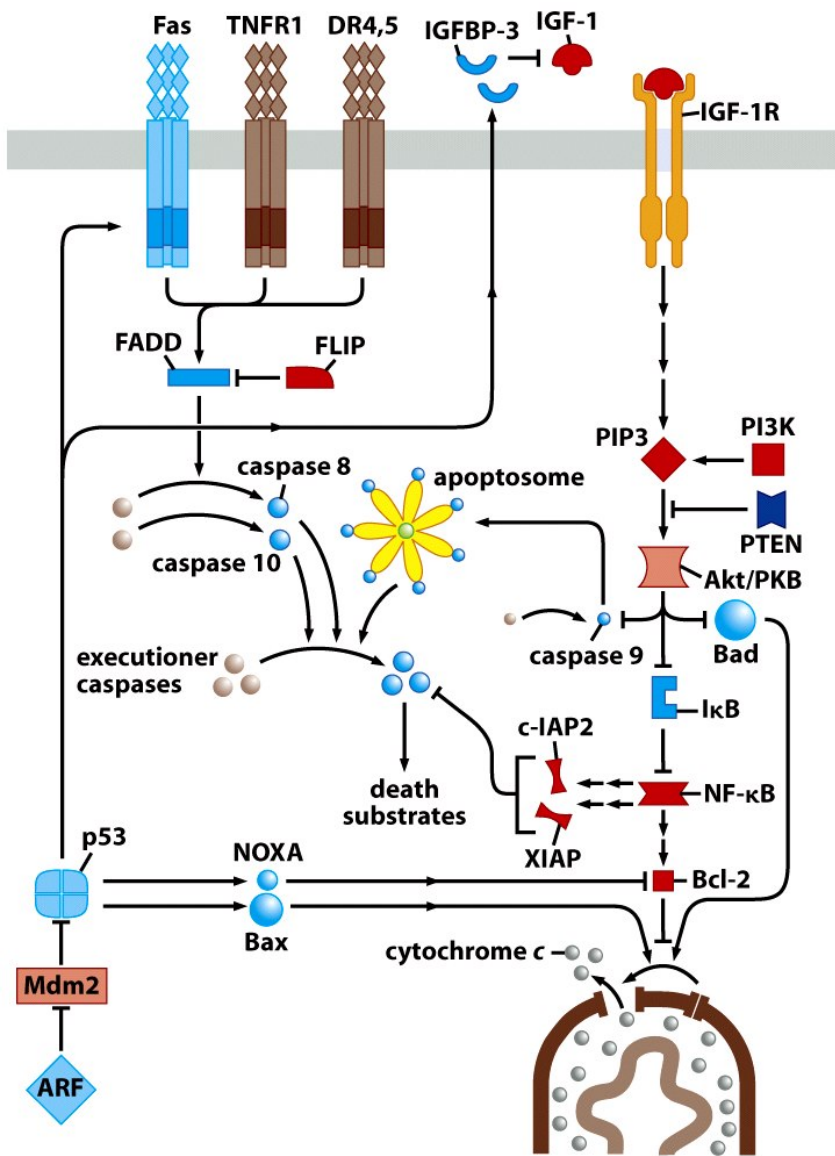
Vnitřní cesta: signalizací např. přes p53 je zahájen apoptotický děj, jehož složkou je systém **Bcl-2/Bax**, signalizace přes **mitochondrie**, tvorba komplexu nazývaného **apoptozóm** a cílem je aktivace **prokaspázy 9**.

Regulace a průběh apoptózy

Signalizace ATM, p53



ATM = Ataxia telangiectasia mutated



Anti-apoptické strategie nádorů

Nádory používají nejrůznější strategie, jak zmenšit šanci na vstup do apoptózy. Buď snižují hladinu/aktivitu proapoptických (modře) proteinů, nebo zvyšují hladinu/aktivitu antiapoptických (červenohnědě) proteinů.

4. NÁDORY A „NESMRTELNOST“ BUNĚK, NEOMEZENÝ REPLIKAČNÍ POTENCIÁL

Opakované dělení buněk je limitováno **zkracováním telomer**

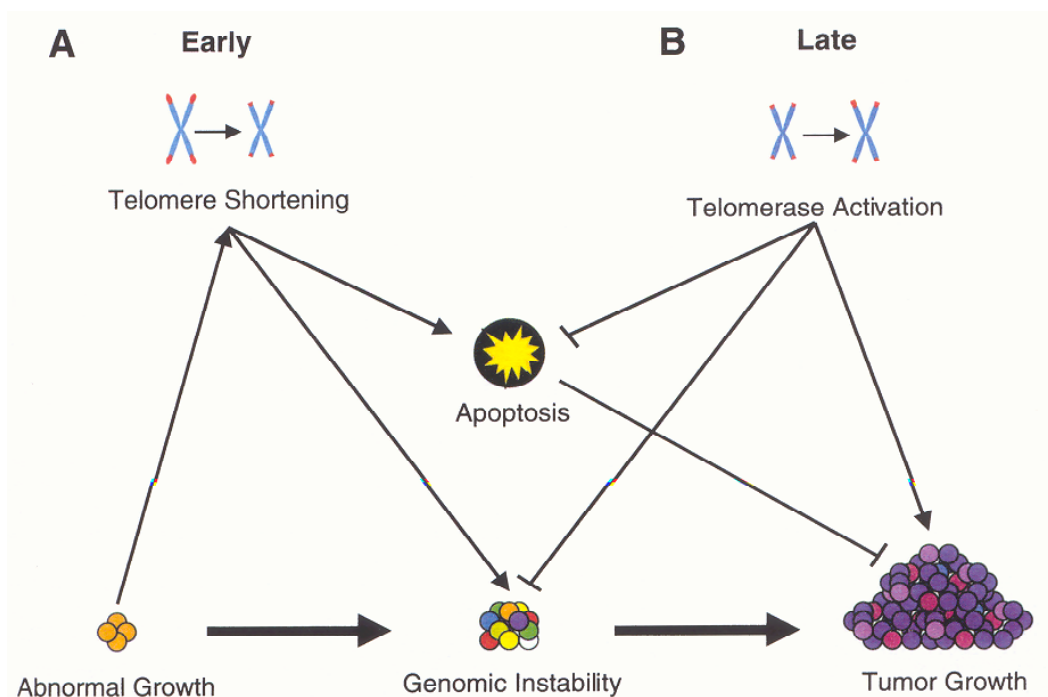
Telomery jsou stabilizačním faktorem terminální části chromosomů a ukotvují je k nukleární matrix. Telomery mají opakující se sekvence nukleotidů TTAGGG
telos = konec (end), meros = část (part)

Délka telomer se zkracuje (1 dělení = 1 telomerická sekvence)
a destabilizuje tak chromosomy

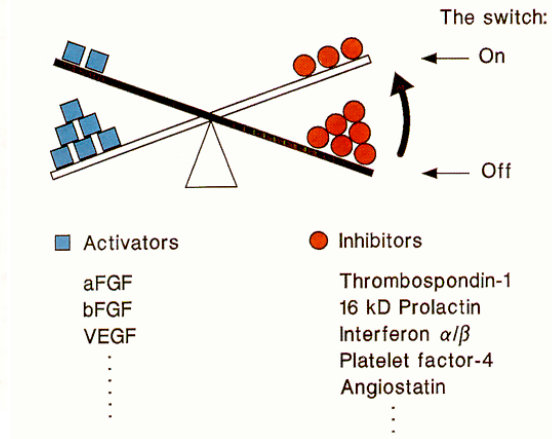
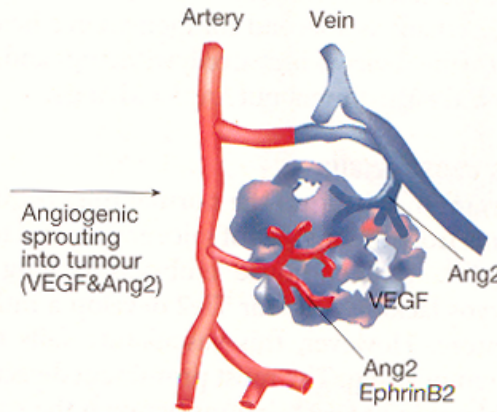
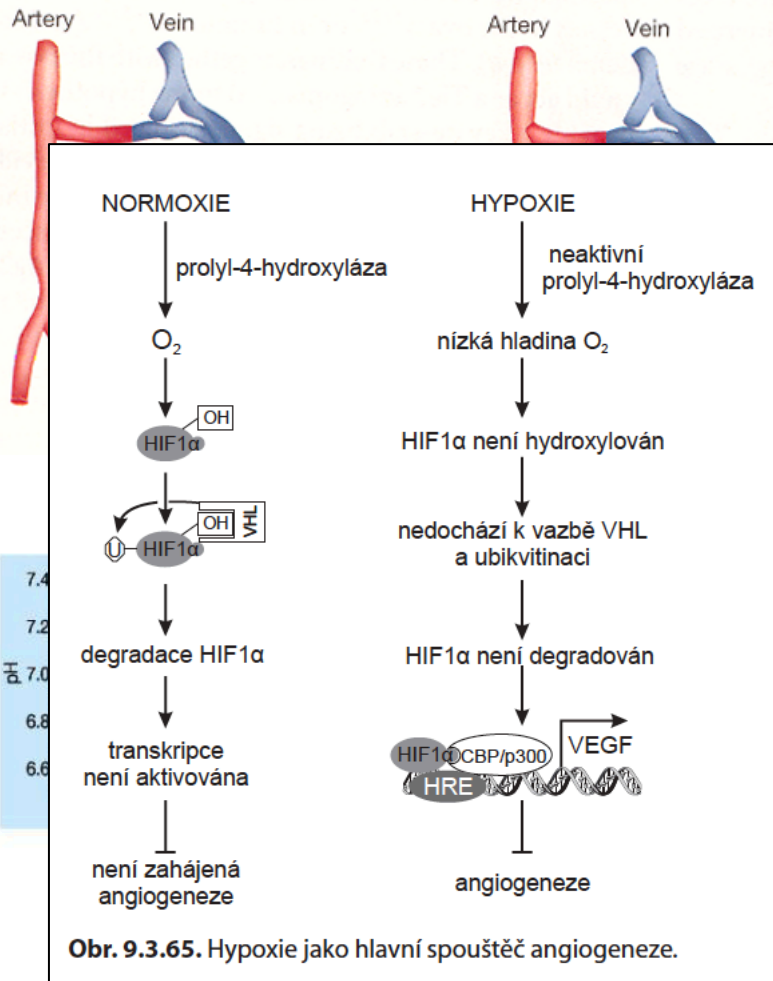
Obnovování telomerických sekvencí umožňuje enzym telomeráza.

85 až 90% nádorů má aktivní telomerázu.

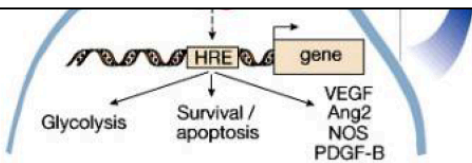
K aktivaci telomerázy dochází v **pozdních** stadiích kancerogeneze.



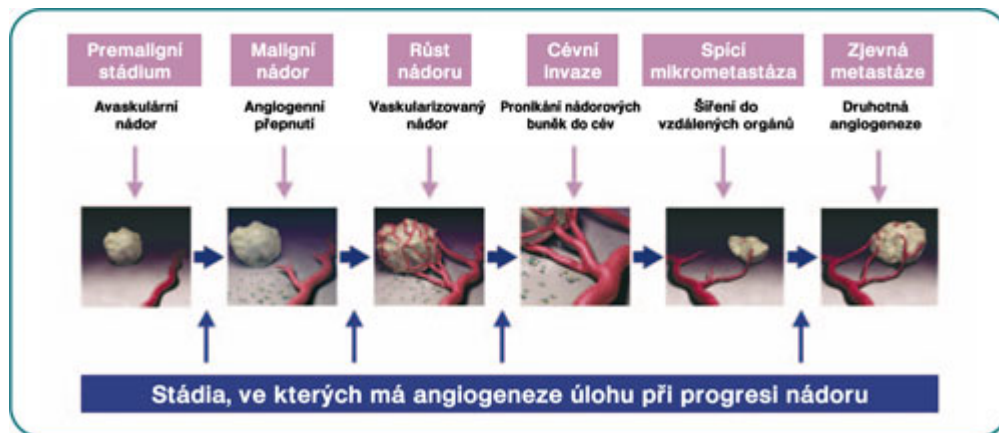
5. VÝZNAM ANGIOGENEZE V ROZVOJI NÁDOROVÉHO ONEMOCNĚNÍ



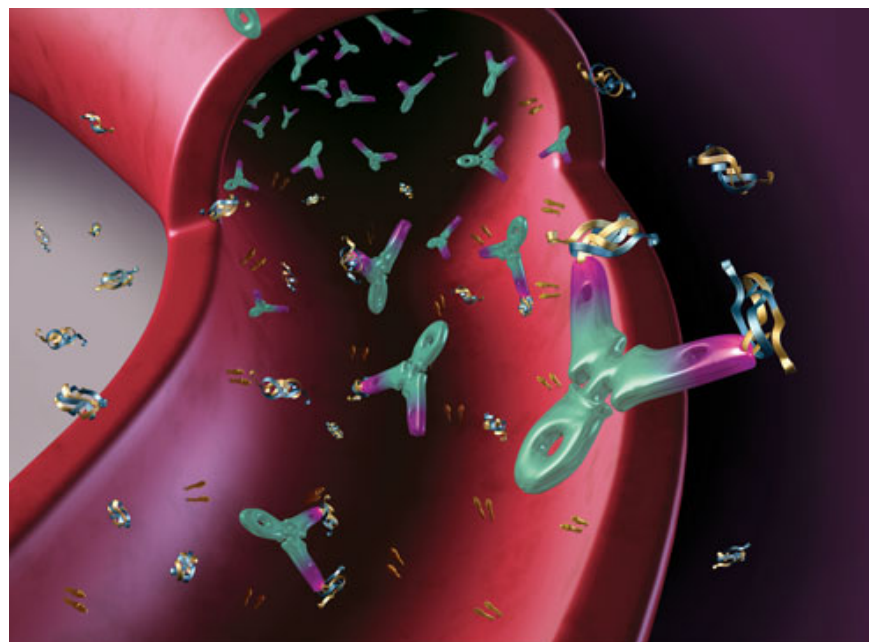
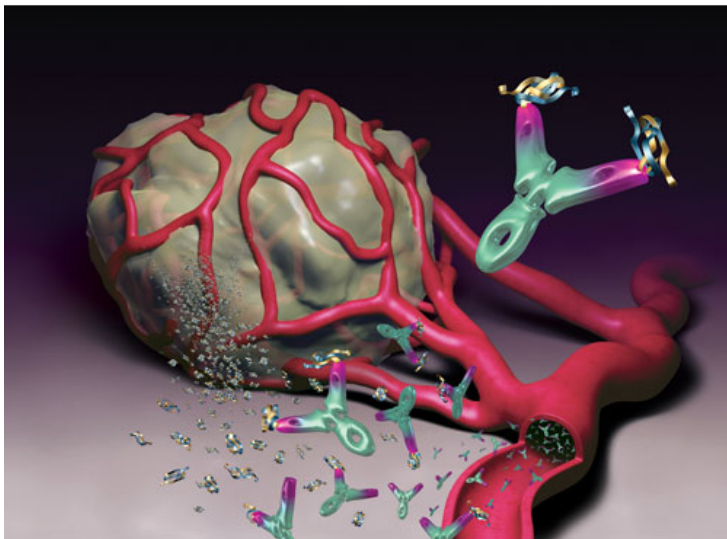
Angiogeneze má klíčový význam pro nádorový růst
 Rostoucí nádorové ložisko může bez cévního zásobení
 dosáhnout pouze velikosti 1-2 mm³
 Neoangiogenezi indukuje vzniklá hypoxie
 Nerovnováha mezi proangienními a
 antiangienními faktory = „angiogenní switch“



Cílená antiangiogenní léčba



**VYPNĚTE ANGIOGENEZI
PRODLUŽTE ŽIVOT**



6. METASTAZOVÁNÍ

- **Zvýšení motility (invazivita)**
(průnik do stromatu a přes cévní stěnu)

- **Vytváření mikrotrombu**

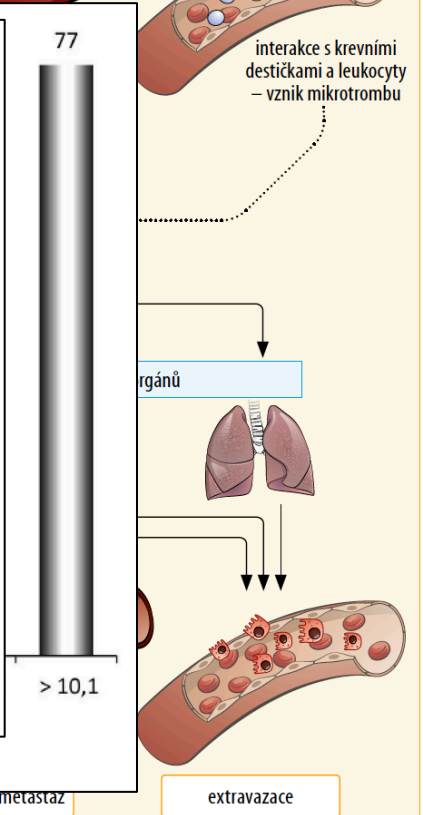
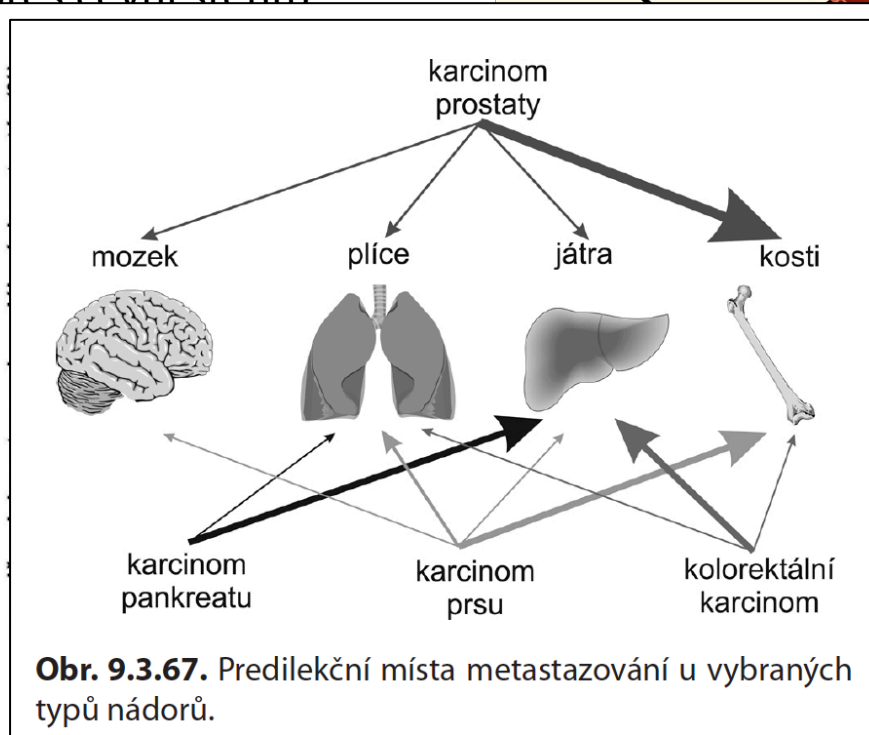
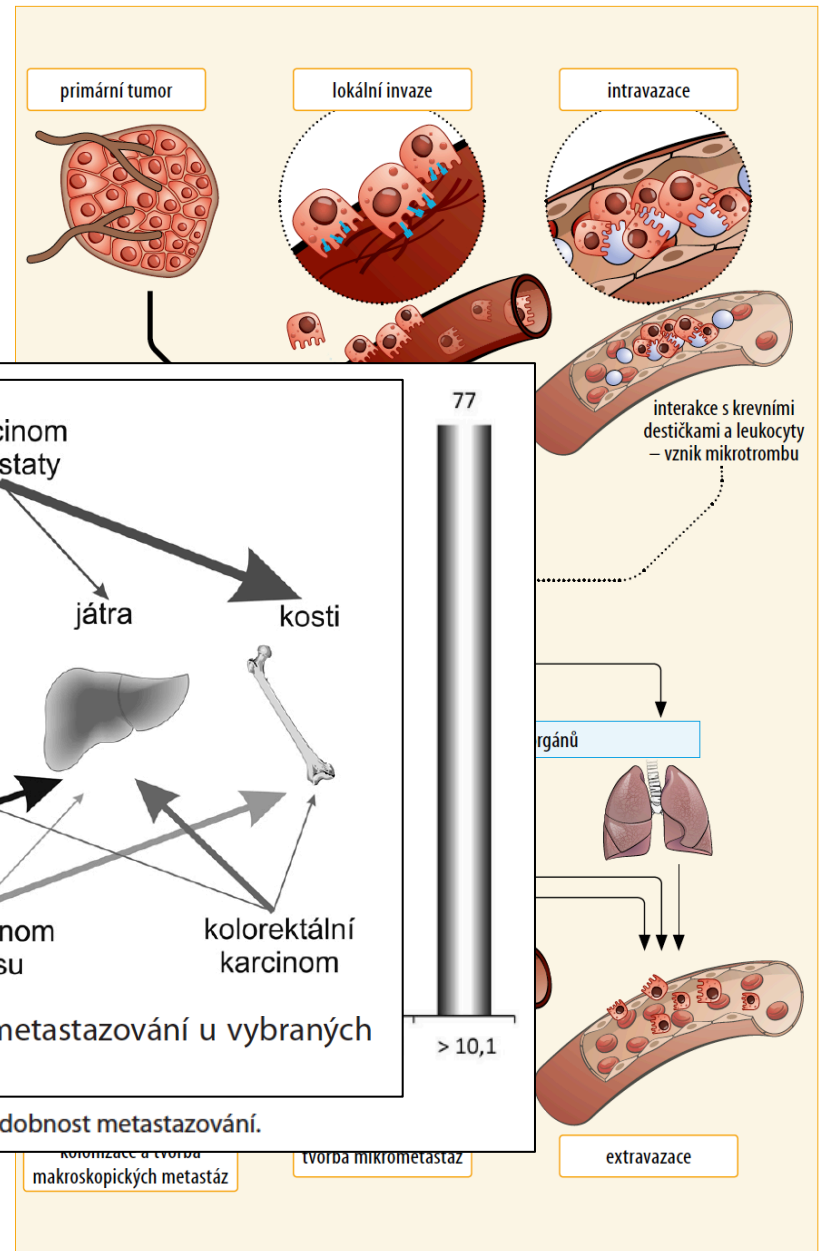
- **Adherence ke**

- **Průnik do p**

- **Vytvoření met**
proliferace v míst
odpověď na mik

- **Metastázy me**

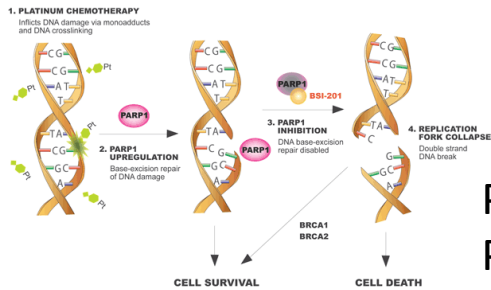
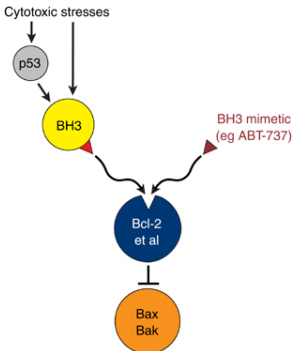
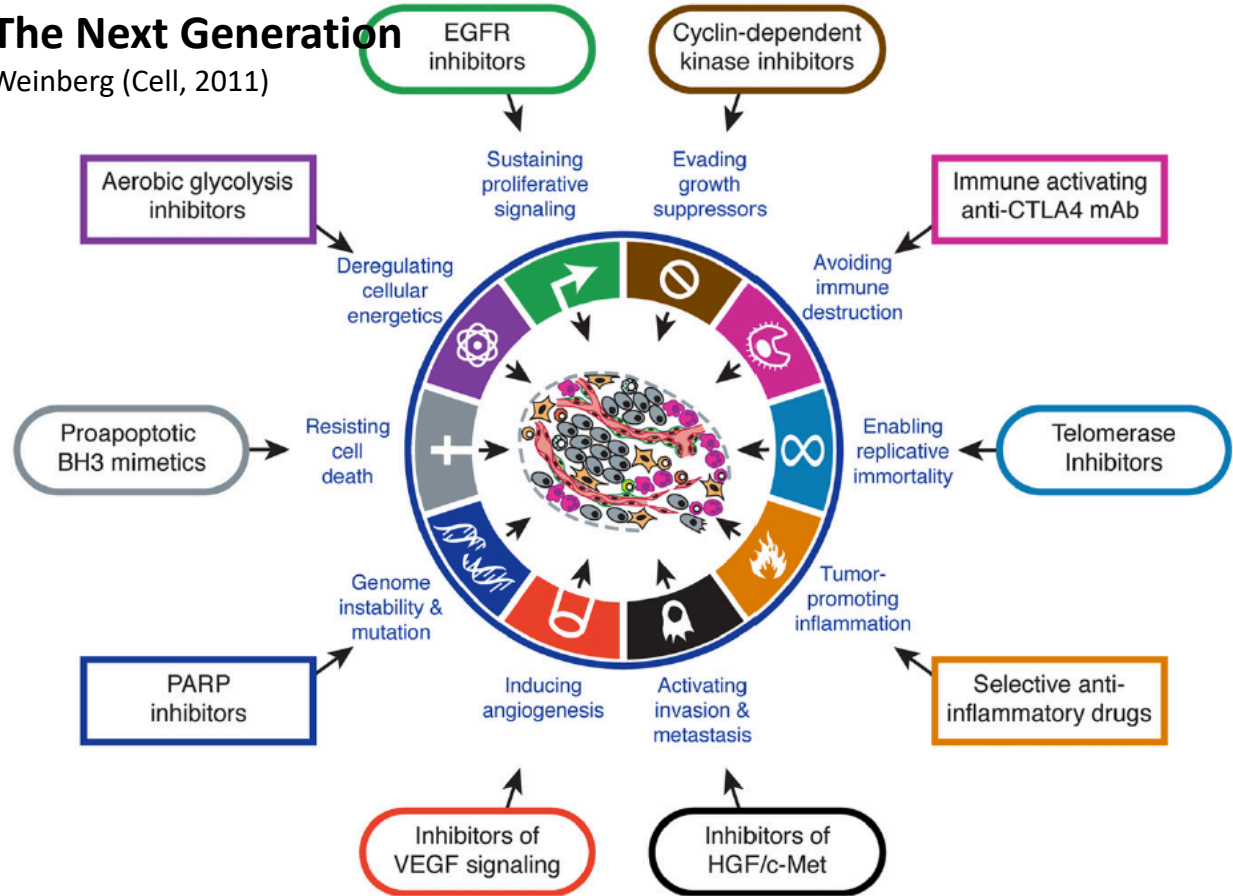
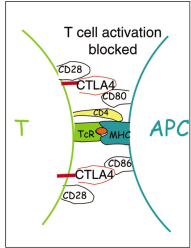
- **Nádorová generalizace**



Obr. 1.6 Metastatická kaskáda

Hallmarks of Cancer: The Next Generation

Douglas Hanahan and Robert A. Weinberg (Cell, 2011)



Podmiňující vlastnost – genomová nestabilita a mutace

Podmiňující vlastnost – nádorem vyvolaný zánět

Objevovaná vlastnost – deregulace buněčné energetiky (Warburguv ef.)

Objevovaná vlastnost – ochrana před imunitním systémem

Take home

- 1) Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice
- 2) Etiologie nádorových onemocnění a prevence, příklady
- 3) Základní pojmy a klasifikace nádorových onemocnění
- 4) Histopatologická klasifikace nádorů
- 5) Proces kancerogeneze, klonalita
- 6) Histologická skladba nádoru – nádor je komplexní tkáň
- 7) Šest získaných vlastností maligního nádoru
- 8) Onkogeny a nádorové supresory
- 9) Genetická nestabilita nádorů
- 10) Poruchy regulace buněčného cyklu
- 11) Regulace a průběh apoptózy, antiapoptotické strategie nádorů
- 12) Telomery -neomezený replikační potenciál nádorové buňky
- 13) Význam angiogeneze v rozvoji nádorového onemocnění
- 14) Metastatická kaskáda
- 15) Metastasis-related genes



Náplň příští přednášky

Moderní metodické přístupy v molekulární medicíně I – příprava biologického materiálu (tkáň, krev, stolice, FFPE) a izolace nukleových kyselin (kontrola kvality), genomika (Real-Time qPCR, DNA čipy, SNP čipy, CGH čipy, mikroRNA čipy, Real-Time PCR Arrays – srovnání technologických principů a přehled nejpoužívanějších technologií), využití genomiky pro molekulární klasifikaci nádorových onemocnění, jak navrhovat studie a jak číst publikace – výhody a limitace genomických metod

Dotazy?

