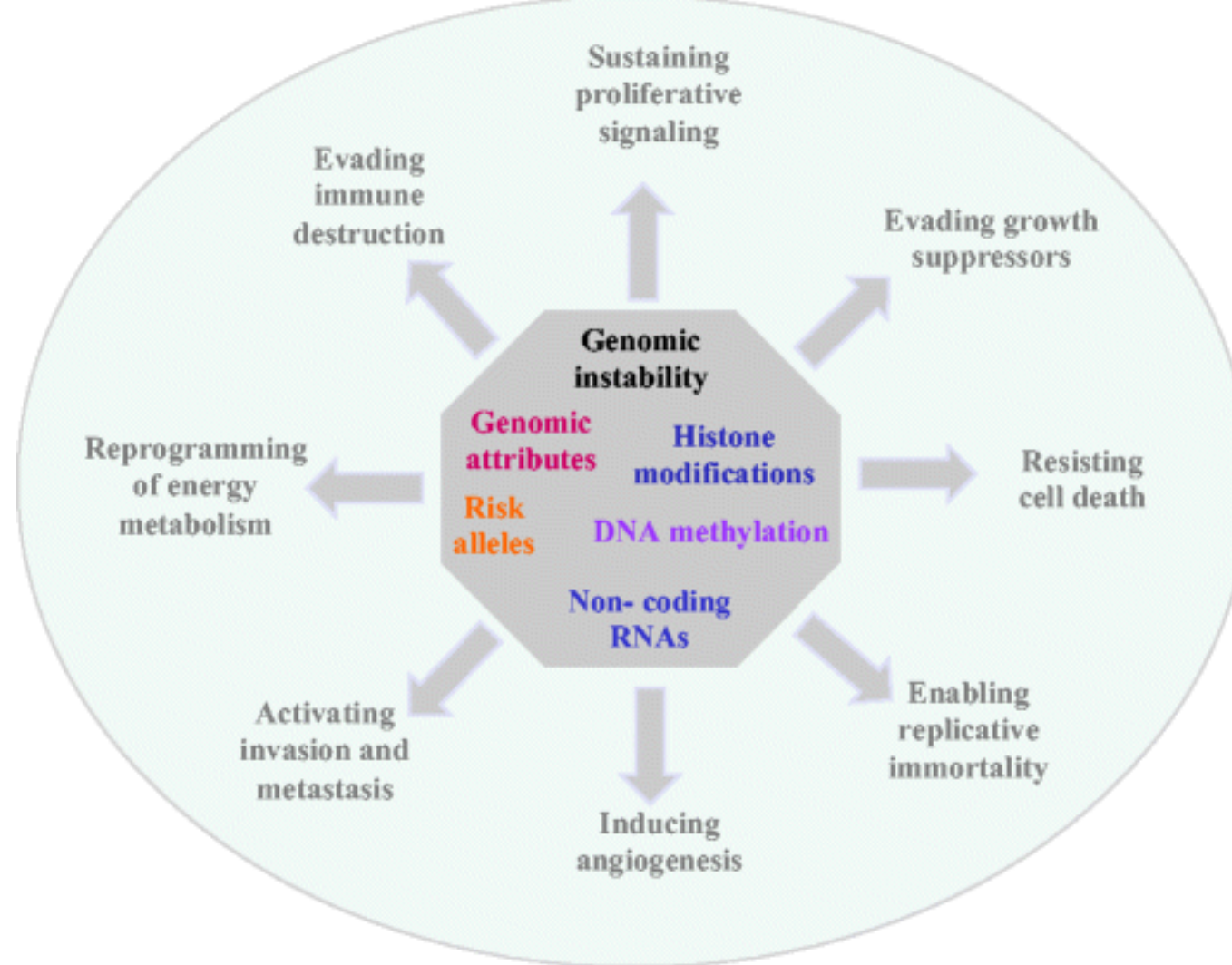


**MUNI**  
SCI

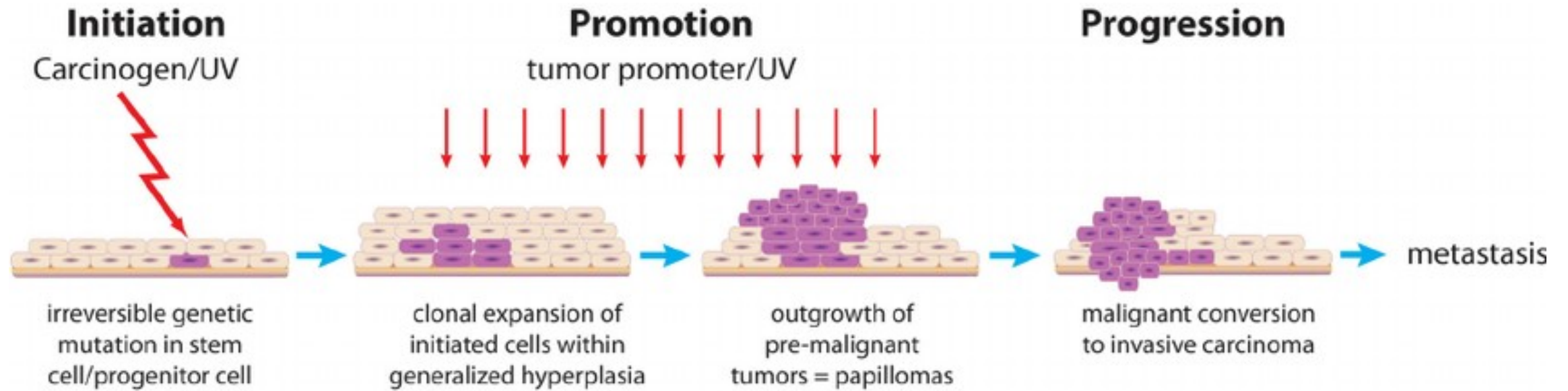
# **Kancerogeneze**

Julie Dobrovolná, RECETOX



Tumorigeneze je komplexní evoluční proces zahrnující mnoho genetických a epigenetických alterací. Epigenetické změny během iniciace a progresu tumoru poskytují abundantní zdroj variability, která podporuje rychlou adaptaci tumoru a poskytuje bohatý zdroj labilních biomarkerů pro genetickou analýzu.

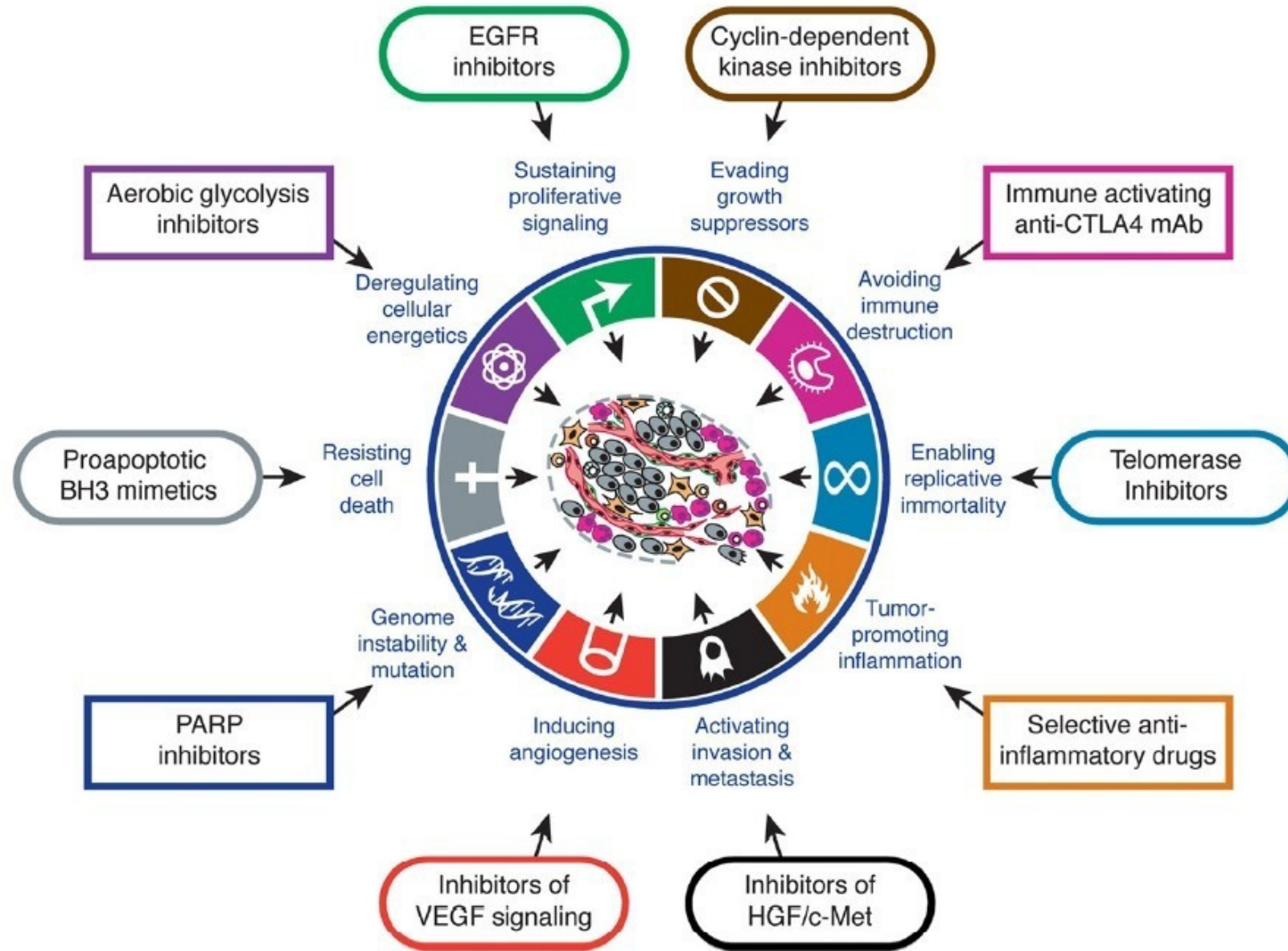
# Kancerogeneze jako vícestupňový proces



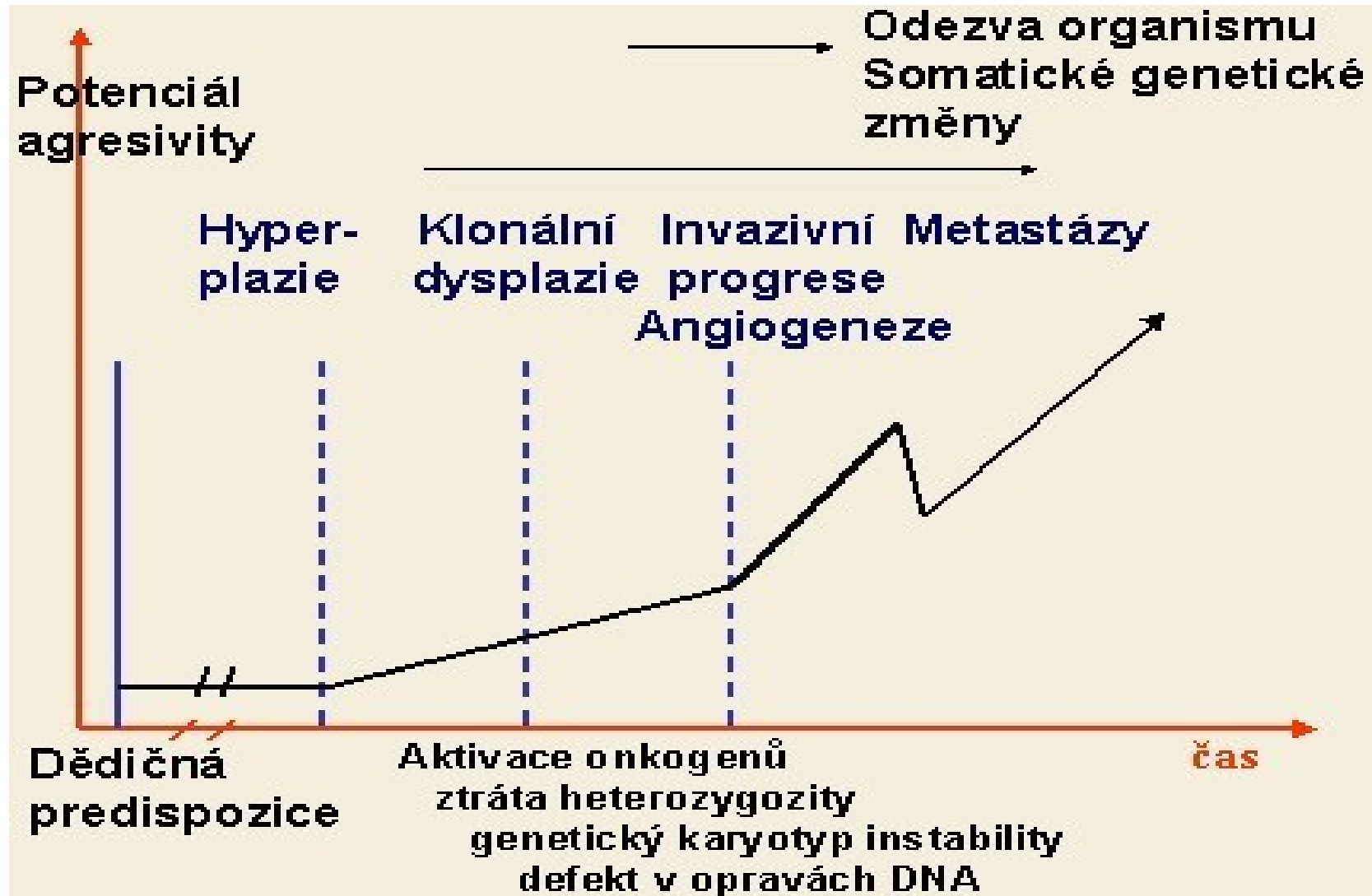
# Kancerogeneze: stadia

- Tři stadia:
- (1) Iniciační stádium, které představuje prvotní genetickou událost, tj. *mutaci určitého kritického genu*. Jde o období časově krátké, ale nevratné; iniciovaným buňkám přináší růstovou selekční výhodu. Buňka tak získává potenciál maligní transformace; v tomto stádiu se může proces zastavit.
- (2) Promoční stádium, které trvá léta, až desetiletí; postižené buňky (klon) jsou stimulovány ještě k intenzivnější proliferaci. Promoční faktory samy o sobě nejsou však schopny vyvolat maligní nádorovou transformaci, jen ji podpořit. Intenzita promočních mechanismů musí dosáhnout určitého stupně, aby byl iniciovaný klon stimulován, a naopak odstranění podpůrných faktorů může proces kancerogeneze zpomalit nebo i zastavit.
- (3) Stádium progresu je charakterizováno dalším postupným nahromaděním genetických změn jako je
  - ✓ *(a) nekontrolovaný růst* pro trvalou aktivaci signální transdukce růstového stimulu,
  - ✓ *(b) alterace kritických bodů buněčného cyklu,*
  - ✓ *(c) deregulace DNA- transkripčních faktorů.*
- Nádor zůstává nejprve v místě svého vzniku, ale aktivací dalších faktorů se začne šířit do nejbližšího okolí (*invaze*) a cestou krevního oběhu na místa vzdálená (*metastázy*). Velmi důležitou podmínkou pro růst nádoru je dostatečný přísun živin a kyslíku, který musí být zajištěn vytvořením cévního zásobení (*nádorová neoangiogeneze*).

# Hallmarks of cancer



# Kancerogeneze jako vícestupňový proces



# Ztráta kontroly buňky nad buněčným dělením

- Buněčný cyklus je u zdravého jedince regulován tak, že každý buněčný typ v daném orgánu „ví“, kdy přestat s růstem.
- U dospělého jedince jsou téměř všechny tkáně kontinuálně regenerovány a buňky opět „vědí“, kdy přestat s dělením.
- U rakoviny buňka selhává ve schopnosti přijmout nebo interpretovat signály prostředí.

# Buněčný cyklus a nádorové bujení

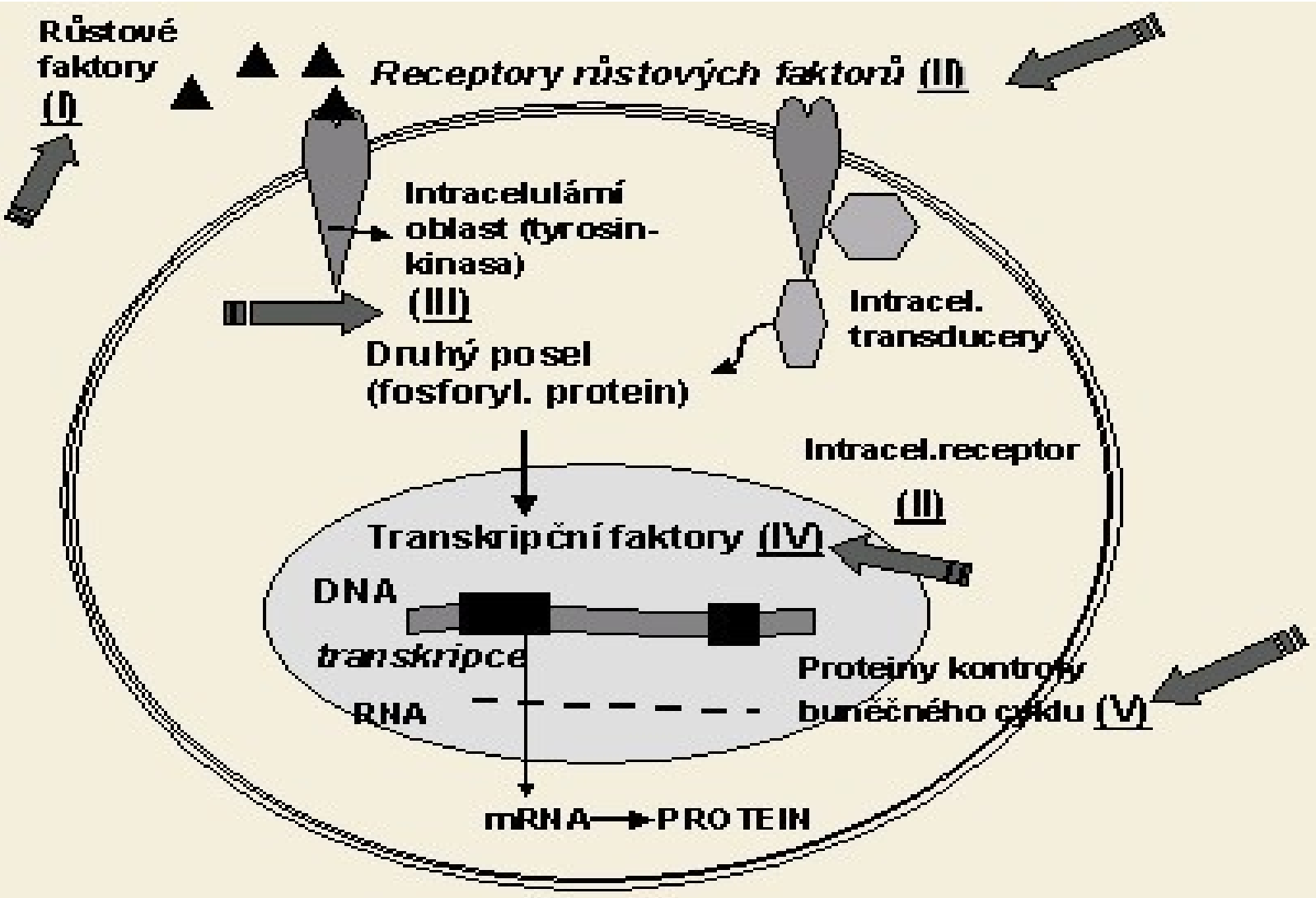
✘ *U nádorového bujení je postižena především regulace přechodu G1-fáze do S-fáze. Tři komplexy cyklindependentních kinas, cyklin D/cdk4, cyklin D/cdk6 a cyklin E/cdk2 fosforylují produkt retinoblastomového genu – Rb, a to na 10ti různých místech a mění tak schopnost Rb asociovat s buněčnými proteiny. Jeden takový protein - E2F – je transkripční faktor, který tvoří heterodimer s jiným transkripčním faktorem DP1, čímž se aktivuje několik genů nutných pro rozvoj S-fáze. Znamená to indukci aktivace dihydrofolátreduktasy, thymidinkinasy, DNA-polymerasy a, *c-myc*, *c-myb* a *cdc2*. Kromě této podpory růstových faktorů podporuje Rb také diferenciaci prostřednictvím jeho asociace s transkripčními faktory jako je MyoD a aktivovaný transkripční faktor, kterým jsou komplexy (ATF)/cAMP-response element binding proteiny (CREB). Rb je také místem zásahu pro transformující viry jako SV40 large T-antigen, adenovirový E1A a antigen E7 lidského papillomaviru (human papilloma virus E7).*



# Buněčný cyklus a nádorové bujení

- Je-li poškození DNA příliš rozsáhlé a tedy neopravitelné, buňka se stává nenormální a je eliminována apoptózou.
- Nedojde-li však k apoptóze, vzniklá mutace přetrvává a může být při dělení takto mutované buňky přenesena na buňky dceřiné. Vzniká tak fenomén *genové nestability*, který podporuje maligní transformaci. Stává se to častěji kupř. u nosičů genu HNPCC (hereditární nepolypózní kolorektální karcinom). Je zde defekt v „opravném čtení“, takže chyba v replikaci DNA není zjištěna a opravný mechanismus není nastartován.

# Základní skupiny proteinů regulující buněčný růst



# Stárnutí buněk

- s postupujícím věkem se objevují funkční i morfologické změny skoro ve všech orgánech a tkáních. Tyto změny mají svůj podklad též ve stárnutí buněk.
- V *mitochondriích* se postupně snižuje kapacita *oxidační fosforylace*
- mění se *syntéza strukturálních proteinů i enzymů* pro alterace v DNA a RNA vznikající s narůstajícím věkem.
- stárnoucí buňky mají sníženou schopnost *opravovat poškozené chromosomy*; *snižuje se jejich potřeba množství živin.*
- Změny *v morfologii buňky*: *Jádro se stává abnormálně laločnaté a nepravidelné, dochází k pleomorfní vakuolizaci mitochondrií, ubývá endoplasmatického retikula a Golgiho aparát se zkrucuje.* V buňkách se hromadí *lipofuscin* jako produkt lipidové peroxidace.

# Teorie buněčné senescence

Příčiny stárnutí buněk jsou pravděpodobně multifaktoriální:

- endogenní molekulární program stárnutí
- vliv exogenních škodlivých faktorů, který ovlivňuje životaschopnost buněk
- **Dlouhověkost** je patrně specificky regulována na genové úrovni a řídí takové aktivity, jako je *opravné mechanismusy pro DNA nebo antioxidační obrana*).
- Kandidátní geny dlouhověkosti mohou též souviset s genetickým polymorfismem protektivních alel lipidového metabolismu, jako je např. *e2 alela u apolipoproteinu E2*. U dlouhověkých zjištěna též prevalence genetického polymorfismu  *genu paraoxonasy* na kodónu 192.

# Stárnutí buňky

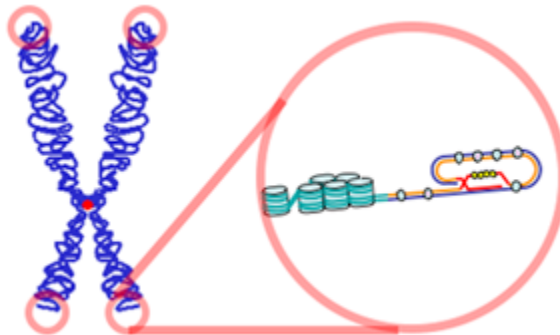
- *Dochází k progresivnímu poškozování buněk reaktivními formami kyslíku a dusíku.* Děje se tak nepříznivými vlivy z okolí, jako je ionizující záření a stále se snižující kapacita antioxidačních mechanismů.
- Peroxidace poškozuje nukleové kyseliny. Reaktivní formy kyslíku (ROS) způsobují denně alteraci 10 000 bazí DNA v jedné buňce, což převyší možnosti opravného mechanismu, jehož kapacita se s narůstajícím věkem snižuje. Mutace se hromadí nejen v DNA v jádře, ale též v mitochondriální DNA. Tento jev dramaticky roste s věkem.
- Volné kyslíkové radikály katalyzují oxidační modifikaci proteinů, včetně enzymů, což vede k jejich degradaci cytosolovými proteázami. Znamená to další omezení funkce buněk.

# Stárnutí buňky

- U stoletých lidí byla prokázána vyšší poly(ADP-ribosyl)ací aktivita. Poly(ADP-ribosyl)ace nukleárních proteinů katalysováná poly(ADP-ribosa)-polymerasou (PARP-1) (s NAD<sup>+</sup> jako substrátem) je posttranslační děj ovlivňující DNA-šroubovici, což má vliv na instabilitu genomu způsobovanou endogenními i exogenními genotoxiny.
- S věkem stoupají *post-translační modifikace intracelulárních a extracelulárních proteinů*, což vede k funkčním i morfologickým změnám. Jednou z nich je neenzymová glykace proteinů a vznik *konečných produktů pokročilé glykace (AGE-products)*.
- změny v indukci *proteinů tepelného šoku (heat shock proteins)*, zvláště *Hsp70*. Tyto proteiny jsou velmi důležitým obranným mechanismem vůči různým formám nadměrné zátěže.

# Stárnutí buňky - telomery

- Telomery jsou klíčovým stabilizačním faktorem terminální části chromosomu. Skládají se ze složky DNA (repetitivní sekvence 5'-TTAGGG-3,) a z 6 proteinů.
- Délka telomer se zmenšuje po mnohonásobných pasážích (cekem se předpokládá 50-80 buněčných dělení / život).
- Nejdelší jsou u spermií; u buněk fetálních jsou delší než u buněk z dospělých jedinců.
- Jejich obnovování je katalyzováno *telomerázou*; délka telomer koreluje s obsahem telomeráz. Z toho důvodu se předpokládá, že úbytek DNA od konce chromosomů zkracováním telomer vede k delecí nezbytných genů, což má za následek omezení života buněk.



# Stárnutí buňky - telomery

- Telomery jsou koncové části chromosomů. Při buněčném dělení se telomery zkracují kvůli neschopnosti syntetizovat konce lineárních nukleových kyselin.
- Původní délka se obnovuje obvykle během tvorby pohlavních buněk činností telomerázy, což je neobvyklá RNA dependentní DNA polymeráza nesoucí si vlastní molekulu [RNA](#) jako templát pro tvorbu DNA. Kromě pohlavních buněk jsou své telomery schopné znovu prodlužovat i kmenové buňky díky přítomnosti vlastní telomerázy.
- Většina rakovinných buněk také obnovuje své telomery pomocí telomerázy, což umožňuje potlačit růst řady rakovinných buněk blokadí telomerázy, část rakovinných buněk ale opravuje své telomery alternativním systémem využívajícím rekombinaci.
- Postupné zkracování délky telomer vede ke stárnutí buňky (senescence).



# Heritabilita nádorů

- **Familiární**- více členů téže rodiny má nádor
- **Sporadické** – jen jeden člen rodiny má nádor
  
- Různé mechanismy

# Heritabilita nádorů

- Ačkoli některé formy nádorů jsou dědičné, většina vzniká na podkladě **remodelace somatických buněk** a je způsobena **endogenními chybami v replikaci DNA, které jsou vyvolány genetickými (mutace v DNA, chromosomální aberace) i epigenetickými změnami.**
- Vliv kancerogenů
- UV-záření příslušné vlnové délky může být absorbováno bazemi DNA, která je tak poškozena za vzniku dimerů dvou sousedících pyrimidinů. Tato změna překáží normální transkripci i replikaci DNA.
- Účinek ionizujícího záření je odlišný: dochází k rozštěpení (přerušení) DNA-řetězce; vznikají tak volné řetězce DNA, které musí být beze zbytku opět navázány opravným mechanismem. Nestane-li se tak (buňka netoreluje volné konce DNA), může dojít k translokaci určitých úseků chromosomů, což bývá příčinou aktivace proto-onkogenů.

# Heritabilita nádorů

Jedna genetická změna však nestačí navodit maligní transformaci buňky; ta obvykle vzniká až po několika (5ti až 10ti) genových mutacích v průběhu řady let.

- *Genová alterace* navodí vznik *nádorového fenotypu*, např.:
- *proliferace epitelové buňky* *hyperplazie* *adenom* *dysplazie* *karcinom „in situ“* *karcinom invazivní*.
- Přeměna normální tkáně organismu do stavu invazivní nádorové choroby trvá v průměru 5 – 10 let. Ovlivňují to hereditární genetické faktory a somatické faktory genetické i epigenetické.

# Germinativní a somatické mutace

- Germinativní mutace přítomny ve všech buňkách. V průběhu života se nemění (*genetická predispozice*)
- Somatické mutace vznikají v somatických buňkách v průběhu života (*maligní transformace*).

# Vzácné alely a polymorfismy

- *Vzácné alely jsou „špatné“* (loss of function, gain of function)
- Jsou často pod tlakem selekce
- *Polymorfismy* (> 1% frekvence v populaci)
- Význam:
- Zdroj vrozené variability genomu
- Faktor přežití vzhledem k patogenům?
- Jak vzácné mutace, tak polymorfismy jsou způsobeny *genovými mutacemi*.
- *Genom současníků je výrazně modifikován evolucí (dlouhodoběji-paleolit) a historií pandemií (krátkodoběji-mor, syfilis, černé neštovice v Evropě)*

# Vznik genových mutací

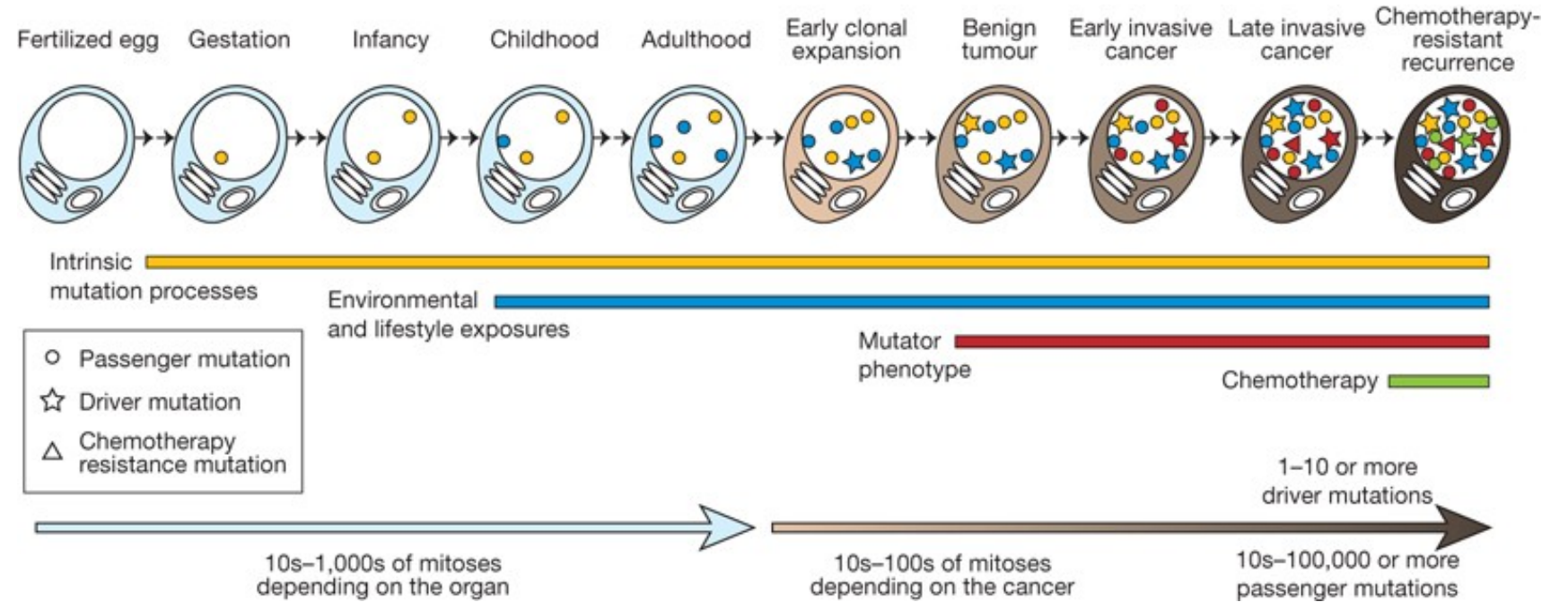
- Pravděpodobnost chyby při replikaci DNA během buněčného dělení je vysoká. Proto je nad stavem DNA ustaven přísný dohled, který zajišťuje stabilitu genomu (supresorové geny, např. P53).
- Porucha supresorových genů (zejména obou alel) zakládá přirozeně větší riziko vzniku mutací.

# Nádorový genotyp

- Současná koncepce modelu vícestupňového vývoje maligního nádoru předpokládá, jak bylo řečeno, nejprve *postupné hromadění genetických změn*. Ty se odehrávají v určitých skupinách genů jako jsou:
- ✓ ***proto-onkogeny***
  - ✓ ***tumor-supresorové geny***
  - ✓ ***geny udržující stabilitu genomu***
  - ✓ ***modifikující geny.***

# M U N I S C I

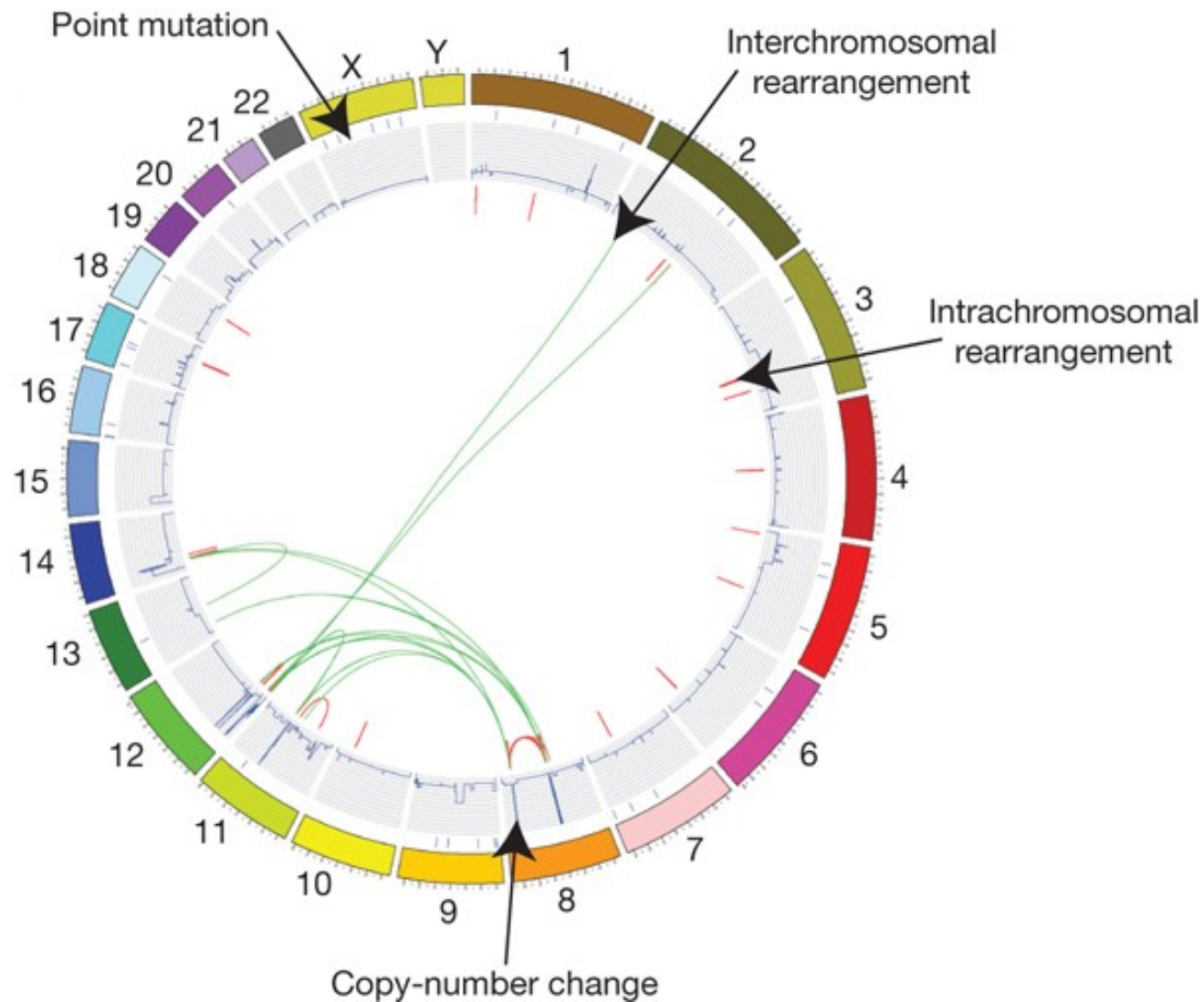
## Mutace somatických buněk: kolorektální karcinom



MR Stratton *et al.* *Nature* **458**, 719-724 (2009)

nature





MR Stratton *et al. Nature* **458**, 719-724 (2009)

Mutace somatických buněk: příklad  
Sporadický kolorektální karcinom

# Protoonkogeny a onkogeny

- *Proto-onkogeny* tvoří normální vybavení genomu;
- *kódují proteiny, které řídí proliferaci, diferenciaci a přežívání buněk.*
- 100 různých lidských proto-onkogenů v každé somatické buňce.
- Jsou cílem extra- a intracelulárních cest transdukce signálů (zejména mitogenních), kterými se reguluje jejich exprese.

# Protoonkogeny a onkogeny

- Dojde-li k mutaci proto-onkogenů, mění se na onkogeny a jejich aktivita získává tumorigenní charakter.
- K přeměně proto-onkogenu na onkogen stačí alterace pouze jedné alely genu – tzv. *dominantní mutace* a gen má charakter *dominantního onkogenu*.
- Mechanismy aktivace mají různé cesty:
  - (a) virová transdukce (kupř. onkogen *src*)
  - (b) genová amplifikace (*myc, abl*),
  - (c) virová inzerce (*myc*)
  - (d) chromosomální přestavba (*myc, abl*)
  - (e) mutace (*ras*)

# Protoonkogeny a onkogeny

- Onkogen může vzniknout mutací genů kódujících proteiny signálních drah, které realizují přenos růstového stimulu (růstového faktoru), dojde-li k jeho abnormální aktivitě. To může být způsobeno tím, že se tvoří v buňce, kde se normálně netvoří nebo se tvoří v nadměrném množství anebo v tak pozměněné formě, která se vymyká normální regulaci.
- Takovéto mutované geny jsou tumorigenní, protože umožňují buňce proliferovat i v nepřítomnosti extracelulárního signálu.

# Typy onkogenů

- Jsou klasifikovány do 5 tříd:
- (1) růstové faktory
- (2) receptory pro růstové faktory
- (3) komponenty intracelulárních signálních drah
- (4) jaderné transkripční faktory
- (5) proteiny řídící buněčný cyklus

# Protoonkogeny a onkogeny



# Regulátory buněčného cyklu a jejich poruchy

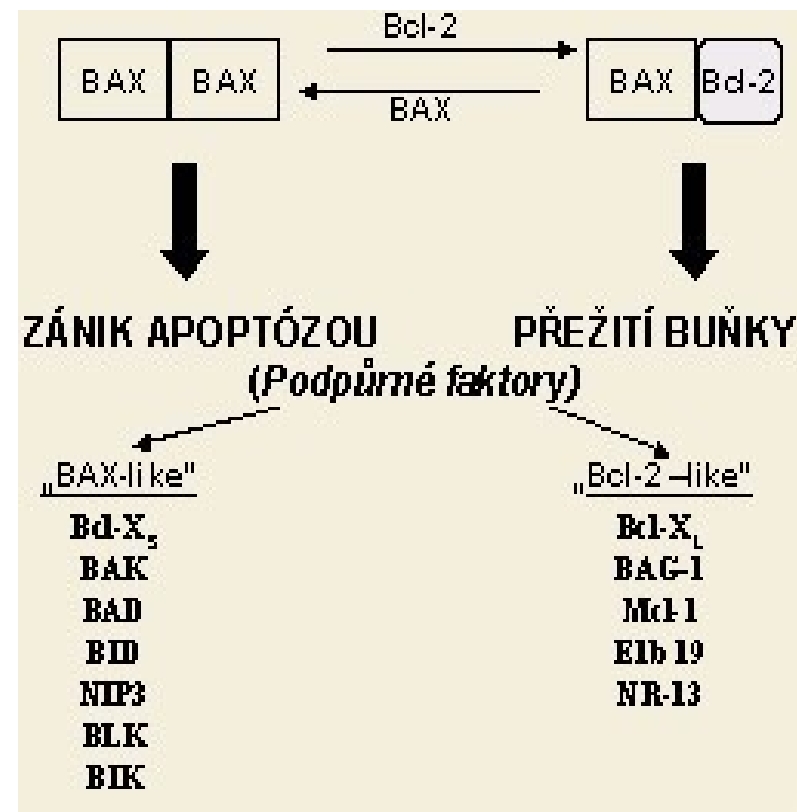
GEN	Alterace genu	TUMOR
Retinoblastoma gen (Rb)	Delece Bodová mutace	Retinoblastomy, osteosarkomy sarkomy měkkých tkání, Malobuněčné karcinomy plic, karcinomy močového měchýře a prsu
Cyklin D	Translokace chromosomů, Genová amplifikace	Adenom parathyreoidey, Některé lymfomy, Karcinomy mléčné žlázy, hlavy a krku, jater (primární), jícnu
cdk4	Amplifikace, Bodová mutace	Glioblastom, sarkom, melanoblastom
p16 <sup>INK4a</sup> (p15 <sup>INK4b</sup> )	Delece, bodová mutace, methylace	Karcinomy pankreatu, ezofagu, plic (malobuněčné), Glioblastomy, sarkomy, familiární melanomy a karcinomy pankreatu

# Některé onkogeny podmiňující nádorová onemocnění

Symbol	Název	Nádorové onemocnění
<i>APC</i>	Gen adematózní polypózy tlustého střeva	Kolorektální karcinom Karcinom pankreatu Desmoidy Hepatoblastom
<i>BRCA1</i>	Gen 1 pro familiární karcinom prsu/vaječníku	Hereditární karcinom prsu/ ovaria
<i>BRCA2</i>	Gen 2 pro familiární karcinom prsu/vaječníku	Hereditární karcinom prsu/ ovaria
<i>CDH1</i>	Gen pro kadherin 1	Familiární karcinom žaludku Lobulární karcinom prsu
<i>CDNK2A</i>	Gen inhibitoru cyklin-dependentní kinasy 2A (p16)	Maligní melanom kůže
<i>CYLD</i>	Gen familiární cylindromatózy	Cylindromy
<i>EP300</i>	Gen vazebného proteinu 300 kD-E1A	Karcinomy kolorektální, pankreatu, prsu

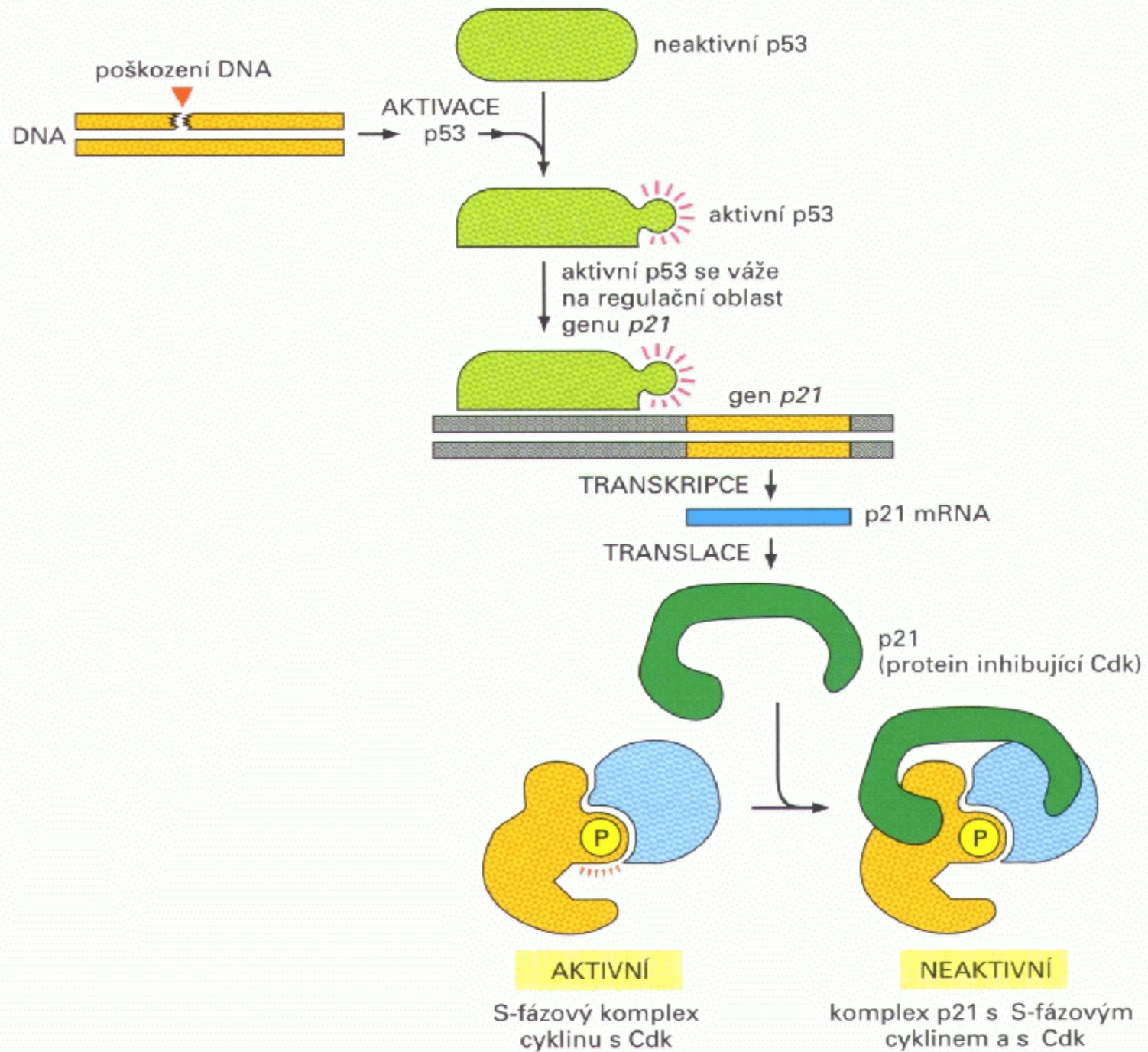


Vliv apoptózy na přežití nádorových buněk  
(pro- a anti-apoptózoové faktory)  
Zvýšená exprese Bcl-2 inhibuje zánik buněk  
apoptózou.  
Je to způsobeno vazbou Bcl-2 proteinu na  
BAX-protein, což zabrání jeho  
homodimerizaci, která podporuje  
apoptózu.



# Geny udržující stabilitu genomu

- ✘ Označují se někdy jako *mutatorní geny* a bývají i řazeny k *tumor-supresorovým genům*. Produkty těchto genů se uplatňují v opravných mechanismech poškozené DNA.
- ✘ Jejich mutace vede ke zvýšené frekvenci mutovaných onkogenů a tumor-supresorových genů, někdy až 1000krát.



# Geny udržující stabilitu genomu

- ✘ Patří sem geny, jejichž produkty zajišťují vystřížení poškozeného úseku DNA a umožňují **excizní opravný proces**. Jejich recesivní mutace způsobuje onemocnění zvané *xeroderma pigmentosum* a *Cockayenův syndrom*, což jsou prekancerózy se zvýšenou náchylností ke karcinomům kůže navozeným expozicí na UV-záření.

# Geny udržující stabilitu genomu

×

Další skupinou mutatorních genů jsou „**mismatch**“ **opravné geny**; kódované proteiny opravují chybné zařazení baze při replikaci DNA (nikoliv však komplementární). Projevem mutací těchto genů je instabilita na nukleotidové úrovni – *mikrosatelitová instabilita*. Zárodečné mutace zejména MSH2 a MLH1 genů jsou podkladem *hereditárního nepolypózního kolorektálního karcinomu (HNPCC)*.

✘ Mutace genů, jejichž produkty zajišťují „**opravné čtení**“, jehož úkolem je identifikace chybných úseků DNA při replikaci, byly prokázány u karcinomu žaludku a tlustého střeva. Jedná se především o mutaci genu pro *polymerasu d*.

# Geny udržující stabilitu genomu



Rozpoznání poškozené DNA a aktivace p53 vyžaduje přítomnost ATK. Tento gen kóduje kinasu, která aktivuje jak CHK2 tak p53 při poškození DNA. Děti trpící *ataxií-teleangiectazií* mají inaktivující mutaci obou alel.

✘ V klinickém obraze je pak imunodeficience, mozečkové příznaky a zvýšené riziko vzniku maligního nádorového onemocnění, především lymfomů. Buňky těchto pacientů nemohou aktivovat p53 jako odpověď na poškození DNA.

# Geny udržující stabilitu genomu

×

Jiný syndrom označovaný jako *NBS (Nijmegen breakage syndrom)* je způsoben homozygotní inaktivací genu *NBS*, který se podílí přímo na opravách poškozené DNA. Do tohoto mechanismu rozpoznávajícího a opravujícího poškozenou DNA vstupuje též *gen BRCA1*. Mutace v jedné alele zárodečných buněk nesoucích tento gen je odpovědná asi za polovinu případů *karcinomu mléčné žlázy s familiárním výskytem*. Při účinku proteinu *BRCA1* hraje důležitou funkci jak *ATM* tak *CHK2*, které umožňují jeho fosforylaci, když dojde k poškození DNA. *ATM* také fosforyluje kofaktor *BRCA1 - CtIP*, který reguluje transkripci *genu BRCA1*. Defekty DNA-opravného mechanismu přispívají k akumulaci genetických defektů (viz *genová nestabilita* navozená *genem HNPCC* = gen pro hereditární nepolypózní kolorektální karcinom) podporují progresi maligně transformovaných buněk.

## Tumor-supresorový protein p53 (TP53)

- ✘ je jeden z nukleárních proteinů, který má klíčovou úlohu v regulaci cyklu buněčného dělení při přechodu z G0 do G1-fáze. Obsahuje domény pro vazbu na specifický úsek DNA, dále oligomerizující a transkripci aktivující domény. Váže se jako tetramer na vazebné místo na určitém úseku DNA a tím aktivuje expresi genů, kódujících faktory inhibující proliferaci a podporující invazivitu buněk.
- ✘ *Mutanty genu p53* jsou nalézána u řady maligních tumorů. Pozměněný TP53 ztrácí schopnost vazby na příslušný lokus DNA, což vede k nedostatečné produkci faktorů potlačujících nádorový růst. Alterace genu p53 se objevuje nejen jako somatická mutace, ale též jako mutace v zárodečných buňkách u některých nádorových onemocnění s familiárním výskytem (*syndrom Li-Fraumeni*)



# Tumor-supresorový gen p53

- je klíčovým regulačním faktorem, který monitoruje poškození DNA. I
- inaktivace *p53* bývá jedním z prvních kroků, který vede k maligní transformaci při vývoji řady nádorových onemocnění.
- Pacienti s *Li-Fraumeniho syndromem* mají obvykle jednu mutantní alelu v zárodečných buňkách a tím i riziko vzniku sarkomů, leukemie a karcinomu mléčné žlázy. Vzácně pacienti s *Li-Fraumeniho syndromem* nemají v zárodečných buňkách tuto mutaci, ale mutaci genu *CHK 2*, kódující proteinkinasu, která fosforyluje protein *p53*, čímž dochází k jeho aktivaci. Tito pacienti však mívají alteraci v jiných genech – *MDM 2* a *p14ARF*, které regulují expresi *p53*.

# Tumor-supresorové geny (antionkogeny také recesivní onkogeny)

- ✘ Kromě mutací v proto-onkogenech mohou vznikat mutační změny v anti-onkogenech (tumor-supresorové geny).
- ✘ Na rozdíl od onkogenů jimi kódované proteiny *mají antiproliferační účinek, podporují diferenciaci a apoptózu*. V každé somatické buňce je asi 40 tumor-supresorových genů. Aby se staly tumorigenními, musí být mutovány obě jejich alely – proto název *recesivní onkogeny*. S tím souvisí tzv. *dvouzásahová teorie*, kterou po prvé formuloval Knudson, když vysvětloval vznik vzácného *hereditárního retinoblastomu*. Na rozdíl od mnohem častějšího *sporadického retinoblastomu*, kde se jedná o náhodné mutace jedné a posléze druhé alely v buňce sítnice, je u hereditární formy jedna mutovaná alela zděděna, příslušný jedinec je heterozygot, u něhož se zděděná nádorová predispozice zatím neprojevuje. Dojde-li však k mutaci/eliminaci druhé alely, iniciuje se rozvoj nádorového klonu buněk sítnice. Tomuto procesu se říká *ztráta heterozygosity (LOH=loss of heterozygosity)*. Prvně objevený tumor-supresorový gen byl nazván *retinoblastomový gen = Rb-gen* a jeho produkt RB-protein. Vyskytuje se v každé buňce, kde reguluje buněčný cyklus dělení.

# Varianty s různým počtem kopií

- ✘ Varianty s různým počtem kopií jsou asociovány s různými fenotypy. Naůř. Trisomie 21 chromosomu způsobuje *Downův syndrom*.
- ✘ Zvýšená exprese genů na chromosomu 21 má za následek klinicky heterogenní onemocnění z příznaky **poruchy kognitivních funkcí, obličejové dysmorfie, opožděného růstu, predispozice k nádorům, mikrocefalie a abnormalit srdce a kostry.**

# Modifikující geny

- ✘ Jde o geny, jejichž mutace může ovlivnit vznik a rozvoj nádorového procesu.
- ✘ Jejich produkty mohou pozitivně nebo negativně působit na průběh kancerogeneze, a to s interindividuální nebo interfamiliární variabilitou.
- ✘ Na jejich prozkoumání se teprve čeká; bude umožněno nejnovějšími technikami molekulové biologie v oblasti genomiky a proteomiky.

# Epigenetika tumorů

- ✘ Lidské rakovinné buňky nesou řadu genetických abnormalit
- ✘ Epigenetické alterace mohou být odpovědné za začátek tumorigeneze ([Baylin and Jones, 2011](#); [Sandoval and Esteller, 2012](#); [Sharma et al., 2010](#)).
- ✘ Tumorózní epigenom je charakteristický podstatnými epigenetickými změnami.
- ✘ Jedná se především o změny v metylaci DNA a histonů a v acetylaci histonů.

# Maligní transformace buňky

- Dělení buněk je velmi pečlivě řízeno tak, aby odpovídalo potřebám celého organismu.
- V časných fázích života jedince kapacita dělení buněk převažuje nad jejich zanikáním, v dospělosti je v dynamické rovnováze, ve stáří začíná převažovat involuce.
- Některé buňky se však vyhnou kontrole replikace (neodpovídají na vnější signály, kontrolující jejich dělení, jsou autonomní), a mění se tak na *buňky nádorové*.
- Ty, které si alespoň přibližně zachovávají vzhled i funkci buněk normálních a především zůstávají stále na místě, kde vznikly, jsou buňky benigní a jejich proliferace dá vzniknout *benigním tumorům*. Buňky, které ztratily většinu vlastností buněk, od kterých jsou odvozeny a mají snahu pronikat do svého okolí (*invazivita*) i na vzdálená místa (*metastázy*), jsou buňky maligní a tvoří *maligní tumory*.

# Maligní transformace buňky

Navození *transkripce onkogenů*, kódujících syntézu *onkoproteinů*, transkripčními faktory zahajuje maligní transformaci buňky. Onkoproteiny jsou velmi podobné (někdy i shodné) s proteiny kódované proto-onkogeny normálních buněk, jejichž úkolem je řídit a kontrolovat růst, proliferaci, diferenciaci a zánik buněk. Klasifikují se do pěti tříd:

- ✘ (1) *růstové faktory*
- ✘ (2) *receptory růstových faktorů*
- ✘ (3) *intracelulární transducery signálu*
- ✘ (4) *nukleární transkripční faktory*
- ✘ (5) *proteiny kontrolující buněčný cyklus.*

# Nádorové buňky

- Nádorové buňky proliferují neomezeně – jsou „nesmrtelné“. Úplné vysvětlení tohoto replikačního stárnutí není zatím jasné. Bylo navrženo několik možných mechanismů:
  - ✓ (a) *aktivace genů pro stárnutí na chromosomu 1 a 4,*
  - ✓ (b) *alterace nebo ztráta genů pro regulaci buněčného růstu (c-fos nebo Rb-gen),*
  - ✓ (c) *indukce inhibitorů buněčného růstu,*
  - ✓ (d) *další příčiny, např. zkracování telomer.*



# Nádorový fenotyp

- se vyznačují především pokračujícím dělením.
- Snižují se u nich požadavky na přítomnost hormonů a růstových faktorů.
- Některé transformované buňky produkují vlastní specifické růstové faktory (*autokrinní stimulace*).
- Dochází ke *ztrátě schopnosti zastavit růst*. U normálních buněk totiž snížení hladiny isoleucinu, fosfátu, epidermálního růstového faktoru a dalších látek, které regulují růst, pod určitou prahovou koncentrací, navodí přesun do klidového stavu (G0-fáze). Normální buňky začínají růst (dělit se) pouze, když jejich nutriční požadavky jsou řádně zajištěny. Nádorovým buňkám tato schopnost zastavit růst jako reakce na nedostatek živin a růstových faktorů schází; dokonce pokračují v proliferaci, i když přitom mohou zahynout.

# Nádorový fenotyp

- ✘ *Transformované buňky* vykazují *zvýšené vychytávání glukosy* pro vyšší afinitu glukózového transportéru v membráně, podobně jako je tomu normálně pouze u erytrocytů nebo buněk v mozku. Koreluje to s vysokou glykolytickou aktivitou.
- ✘ Chybí u nich dále *povrchový fibronektin*, který mají klidové buňky a který udržuje jejich tvar.
- ✘ *Změny cytoskeletových elementů* (aktinová mikrofilamenta nejsou difuzně rozptýlena, ale koncentrují se blíže povrchu) jsou příčinou zvýšené mobility povrchových proteinů.
- ✘ *Nepřiměřená sekrece transformujícího růstového faktoru  $\alpha$  a  $\beta$*  a dalších růstových faktorů, které řídí normálně vývoj embryonálních buněk.
- ✘ Produkují též *plasminogenový aktivator*, což je proteáza přeměňující plasminogen na plasmin. Vysoká tvorba plasminu nádorovou buňkou pomáhá penetraci skrz lamina basalis.
- ✘ *Mikroprostředí* nebo stroma, v kterém se nádorové buňky nalézají, mají rovněž vliv na progresi („teorie semene a půdy“). Bylo prokázáno, že *metaloproteinasy stromální proteinové matrix (MMP 9)* hrají významnou úlohu v časných stádiích vývoje tumoru a při angiogenezi.  
U metastáz karcinomu prostaty do kostí se předpokládá jakýsi „osteomimetický“ účinek (chemoatrakce a podpora adherence ke kostnímu endotelu) a ovlivňování vlastností a chování osteoblastů a osteoklastů.

# Nádorový fenotyp

- ✓ Nádorový fenotyp je charakterizován **maligní transformací buňky**, která se projevuje:
  - **ztrátou kontroly buněčného dělení** (alterace buněčného cyklu, antiapoptóza – „nesmrtelnost“ nádorové buňky, alterace v transdukci signálů),
  - **ztrátou kontaktu buňka-buňka**, invazivitou,
  - **změnami v metabolismu** (podpora enzymů anaerobní glykolýzy a potlačení enzymů oxidace cestou Krebsova cyklu, „uchvacování“ dusíku nádorovými buňkami, zvýšená lipolýza, tvorba nádorových antigenů),
  - **podporou angiogeneze**.
- ✓ Maligně transformované buňky jsou pravděpodobně odolné vůči stresovým faktorům okolí jako je hypoxie, kyselé pH, nedostatek glukosy a živin, odloučení od bazální membrány, které normální buňky ničí.

# Vznik metastáz

- Při vzniku metastáz hrají důležitou úlohu *chemokiny*.
- Úloha chemokinů u nádorového bujení je složitá:
  - ✓ podporují vrozenou nebo specifickou protinádorovou imunitu,
  - ✓ mohou podporovat nádorový růst a tvorbu metastáz tím, že posilují proliferaci nádorových buněk, migraci a neovaskularizaci.
  - ✓ Chemokiny tvořené nádorovými buňkami mohou působit inhibicí protinádorové imunitní odpovědi, stejně jako autokrinním mechanismem působí jako růstové faktory.

# Metastatický fenotyp

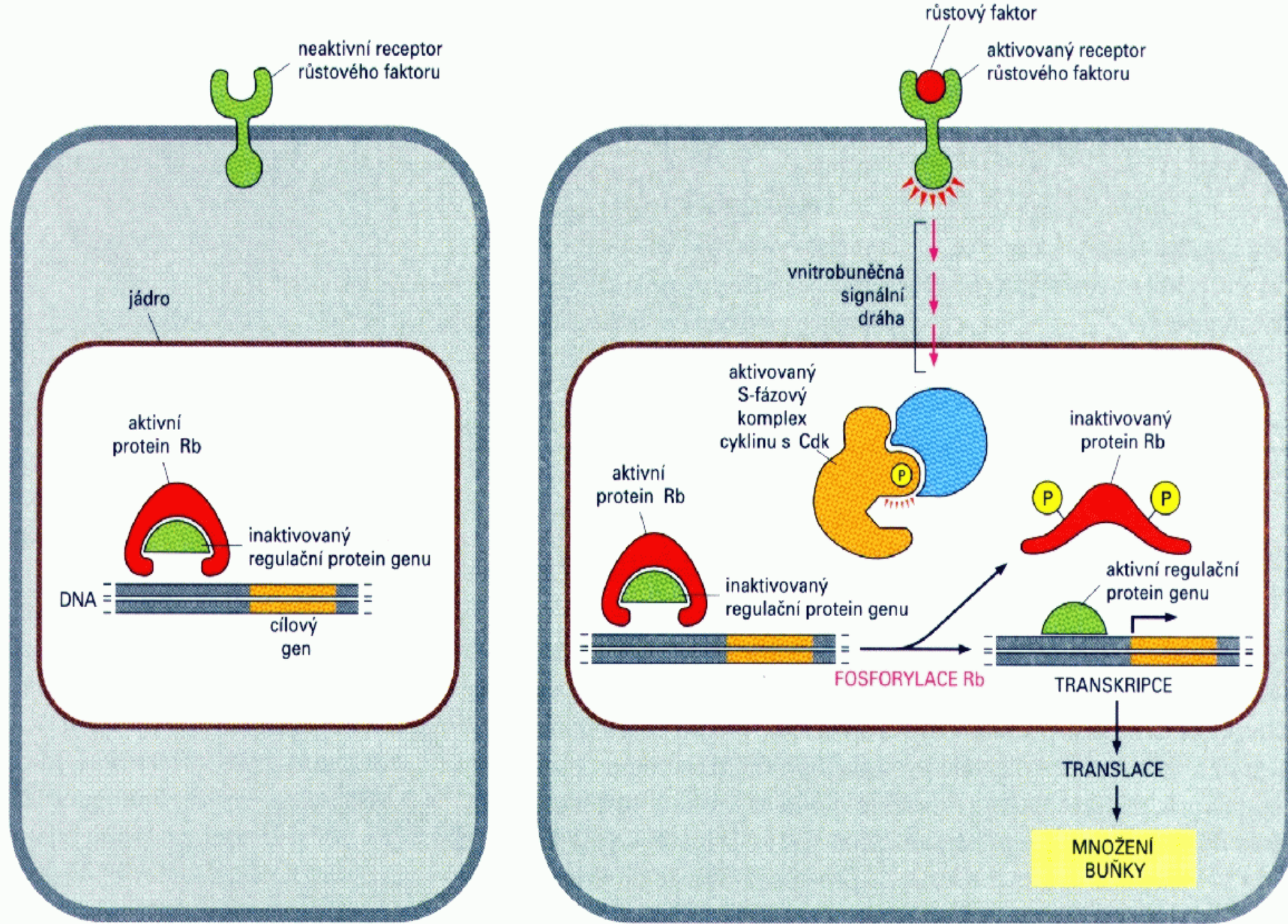


Dalším rysem maligně transformované buňky je *ztráta závislosti adherovat k podkladu (substrátům)*. V buněčné kultuře normální buňky, plovoucí volně v živném roztoku (gelu), mohou sice metabolizovat (žít), ale nikoliv se dělit; nádorové buňky ano.

- *Ztráta inhibice motility kontaktem* se sousedními buňkami je další charakteristika nádorových buněk. Znamená to, že mohou růst jedna přes druhou, mohou být na sobě i pod sebou a jen zřídka vytvářejí mezerové spoje (gap junction).
- *Změny na buněčné membráně* jako je modifikace glykolipidů a glykoproteinů (snížení množství sialové kyseliny vázané na proteiny, redukce gangliosidů). To sice nemění strukturu transformované buňky, ale zvyšuje laterální mobilitu povrchových lipidů, respektive vazbu membránových proteinů na cytoskelet.

# Metastatický fenotyp

- Maligní buňky mají zvýšenou *motilitu* a schopnost pronikat do okolí (*invazivitu*) a po průniku do krevní cirkulace usadit se a množit na jiném místě (tvořit *metastázy*).
- K tomu jsou vybaveny schopností produkovat receptory, aby se mohly zachytit na proteinech bazální membrány (tvorba adhezních molekul), dále tvorbou hydrolytických enzymů, které pomohou rozrušit kolageny, proteoglykany a glykosaminoglykany bazální laminy a umožnit tak pronikání do okolí, natrávit stěnu cév, zachytit se v cirkulaci na shlucích trombocytů a vytvořit tak nádorové emboly, odolávat účinkům protinádorového imunitního mechanismu, zachytit se na stěně cév vzdáleného místa, proniknout do intersticia tkáně, založit metastázu, proliferovat, podporovat angiogenezi a případně vytvářet metastázy metastáz.
- To je tzv. metastázový fenotyp.



(A) KLIDOVÁ BUŇKA

(B) MNOŽÍCÍ SE BUŇKA

