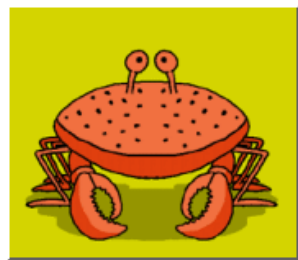


Podstata nádorové transformace buněk a etiopatogeneze nádorů

Kontrola buněčného cyklu
Nádorová transformace
Interakce nádoru a organismu
Metastazování



1

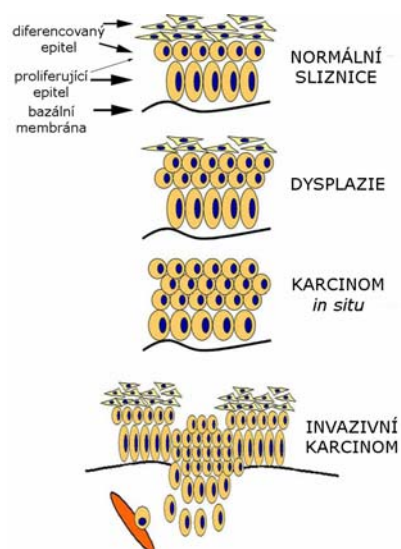
Nádory (tumory) - úvod

- Nádor je patologický stav (nemoc) v důsledku **porušené kontroly buněčného dělení**
 - příčinou porušené regulace je genetická změna nejčastěji 1 somatické (ale i germinativní) buňky
 - buňky vycházející z patologického klonu se nekontrolovaně množí (různě rychle) a posléze event. šíří i na další sekundární místa (**metastázy**)
 - podle rychlosti proliferace rozlišujeme nádory
 - benigni** – většinou rostou jen v místě vzniku, nejsou agresivní, zachovávají si diferenciaci
 - maligní** – rostou rychle, invazivně a šíří se na další místa, nediferencované
- Všechny nádory jsou důsledkem genetické poruchy, a to klíčových genů kontroly buněčného cyklu
 - (proto)onkogenů** – normálně podporují dělení a růst buněk, pokud mutovány dělení je nekontrolované
 - supresorových genů** – normálně kontrolovaně potlačují dělení, pokud mutovány, umožňují nekontrolované dělení
 - DNA reparačních genů** – normálně opravují DNA opravitelné změny, pokud mutovány neopravená změna může být přenesena do dceřinných bb.
- pouze některé jsou ovšem zároveň dědičné (tzv. **familiární**) = mutace v germinativní buňce
- většina nádorů jsou náhodné, tzv. **sporadické** = mutace v somatické buňce

2

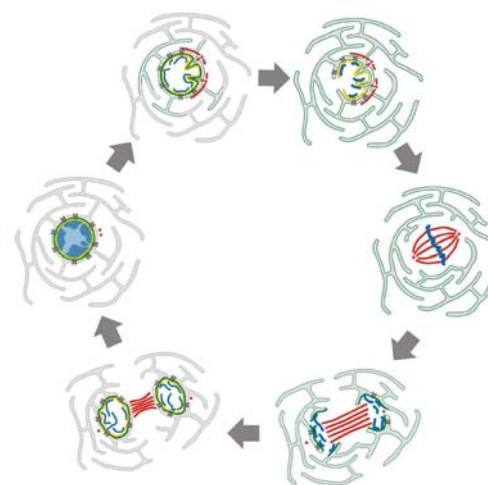
Nádory – úvod

- Genetická změna může vzniknout
 - chybou při DNA replikaci a dělení buňky
 - působením zevních faktorů (**karcinogenů**)
 - fyzikálních – např. UV a ionizující záření
 - chemických – organické látky, toxiny, těžké kovy
 - biologických – některé RNA a DNA viry
- Nádor zpravidla **původně vychází z mutací 1 buňky (monoklonální)**
 - proces nádorové transformace je ovšem **vicestupňový** (tj. postupná kumulace několika mutací), takže se postupně stává geneticky **heterogenní**
 - nádor přechází ze stádia prekancerózy, přes benigní až k malignitě
- Histologicky – tj. podle toho z jaké tkáně pochází – rozlišujeme 3 sk.
 - epiteliální
 - kůže, sliznice, výstelky vývodů
 - papilom, adenom (b.), karcinom (m.)
 - mesenchymální
 - pojivo, endotel, sval, tkáň, hematopoetická a lymfatická tkáň, kosti
 - fibrom, hemangiom, myom (b.), sarkom, lymfom, leukémie (m.),
 - neuroektodermové
 - CNS a periferní nervy, pigmentové névy
 - astrocytom, gliom, blastom, neurinom, melanom



3

Buněčný cyklus



- buněčný cyklus (4 fáze)
 - cyklická souhra reakcí zajišťujících růst buňky (G1-fáze), DNA replikaci (S-fáze), G2 a mitózu (M-fáze)
- b. cyklus probíhá při
 - bezchybném provedení jednotlivých kroků
 - správnost reakcí je kontrolována ve 3 kontrolních bodech
 - v G1-fázi - po skončení předcházející M-fáze
 - v G2-fázi - po skončení replikace
 - v M-fázi - metafáze
 - dostatku energetických substrátů
 - dostatku zevních (mitogenních) stimulů
 - růstové faktory
- přirozeně je inhibován (bb. v G₀-fázi)
 - kontaktní inhibicí
 - produkty supresorových genů
 - inhibitory cdc (např. p21)
 - nedostatkem růstových faktorů
- porucha regulace → **nádorové bujení**

4

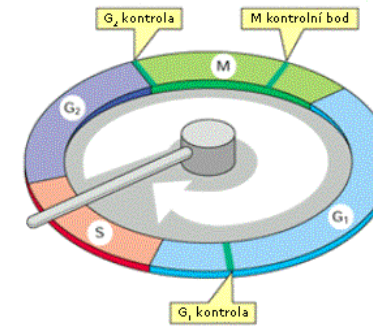
Jednotlivé fáze b. cyklu

G0-fáze	klidová fáze buněčného cyklu, ve které buňka plní své základní funkce a udržuje bazální metabolismus
G1-fáze	interval mezi ukončením mitózy a začátkem syntézy DNA - intenzivní syntéza všech typů RNA v jádře, v cytoplazmě probíhá proteosyntéza a buňka roste (délka G1-fáze obvykle určuje délku celého b. cyklu)
S-fáze	v jádře probíhá replikace DNA a v cytoplazmě jsou syntetizovány histony; po ukončení S-fáze buněčné jádro obsahuje dvojnásobné množství DNA
G2-fáze	interval mezi koncem syntézy DNA a začátkem mitózy, je typický dalším růstem buňky, proteosyntézou, přičemž ve zvýšené míře je syntetizován tubulin a další proteiny sloužící k výstavbě mitotického aparátu; v G2-fázi cyklu probíhá kontrola ukončení DNA replikace před vstupem do mitózy
M-fáze	proces mitotického dělení sestává z řady na sebe navazujících změn (6 fází), z nichž prvních pět (profáze, prometafáze, metafáze, anafáze, telofáze) představuje dělení jádra; šestou fází je vlastní rozdělení buňky (cytokineze)

5

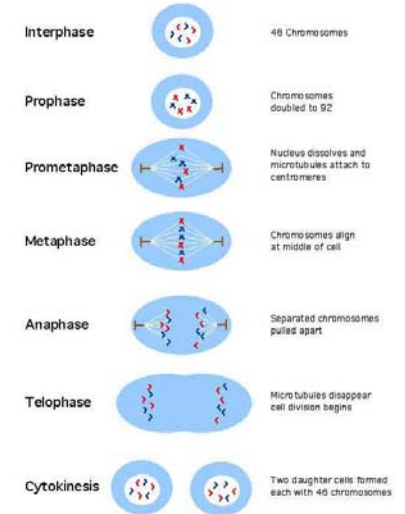
Kontrolní body b. cyklu/mitóza

- je veškerá DNA replikována?
- je příznivé prostředí?
- je buňka dostatečně velká?



- jsou všechny chromozomy spojeny ve vřeténku?

- je buňka dostatečně velká?
- je prostředí příznivé?



6

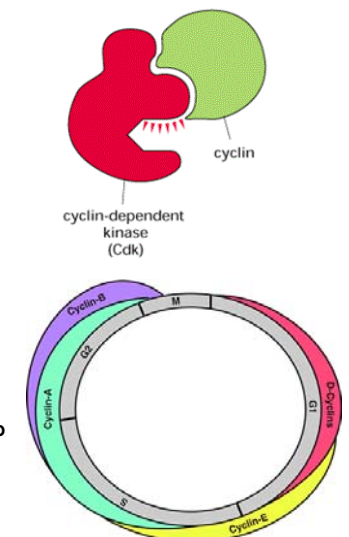
Regulační proteiny b. cyklu

- (A) produkty (proto)onkogenů
 - cykliny
 - cyklin-dependentní proteinkinázy (cdk)
 - růstové faktory
 - receptory růstových faktorů
 - G-proteiny
 - membránové tyrozinkinázy (např. abl)
 - cytoplasmatické signální proteiny (např. Raf)
 - transkripční faktory (např. jun, fos, myc)
- (B) produkty supresorových genů
 - Rb
 - p53
 - p21
 - ...
- (C) produkty genů kódujících DNA reparační enzymy
 - mismatch reparace
 - excisní reparace

7

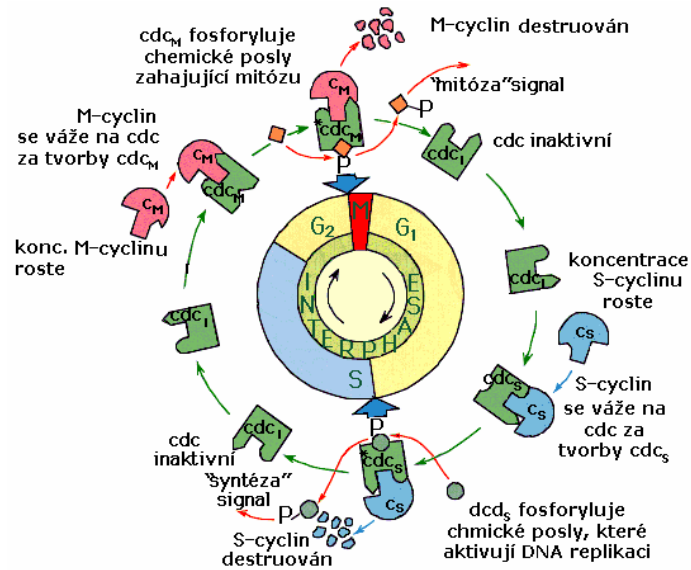
(A) Protoonkogeny

- (1) cykliny
 - 8 typů - A, B, C, D, E, F, G, H
 - specifické pro jednotlivé fáze cyklu
 - např. Cdk2 + cyklin E v G1 fázi
- (2) cdk (cyclin-dependent kinases)
 - 9 typů - cdk1 - cdk9
 - pouze komplex cdk s cyklinem je aktivní
 - fosforylují seriny a threoniny cílových proteinů a aktivují je
 - např. Rb-protein
 - součástí komplexů cyklin/cdc jsou inhibitory cdc (např. p21), teprve jejich proteolýza umožňuje aktivitu komplexu
- zatímco hladina cdk zůstává během cyklu v podstatě konstantní, exprese cyklinů se liší
 - je striktně kontrolována podle potřeb okolní tkáně!!!



8

Souhra cyklinů – cdk



9

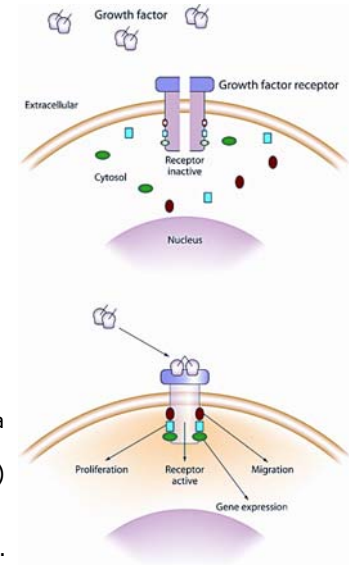
(A) Protoonkogeny

(3) růstové faktory

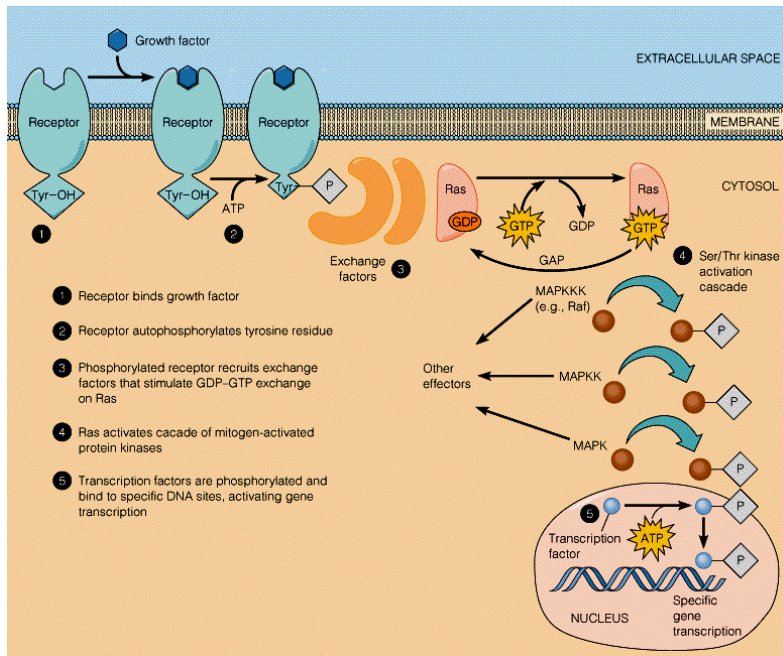
- působí ve velmi malých koncentracích, většinou parakrinně
 - např. TGF-β, PDGF, EGF, VEGF, ...

(4) receptory růstových faktorů

- tyrosinkinázová aktivita → aktivace dalších kináz (MAPK – Mitogen Activated Protein Kinase) a transkripce genů
 - geny "časné" odpovědi (cca 15 min)
 - např. proteiny **fos**, **jun** a **myc** (produkty protoonkogenů *fos*, *jun* a *myc*)
 - geny "pozdní" odpovědi (cca 1 hod) - **cykliny** (cyklin D)
 - jejich exprese stimulována pomocí "časných" proteinů *fos*, *jun*, *myc* aj.



10



11

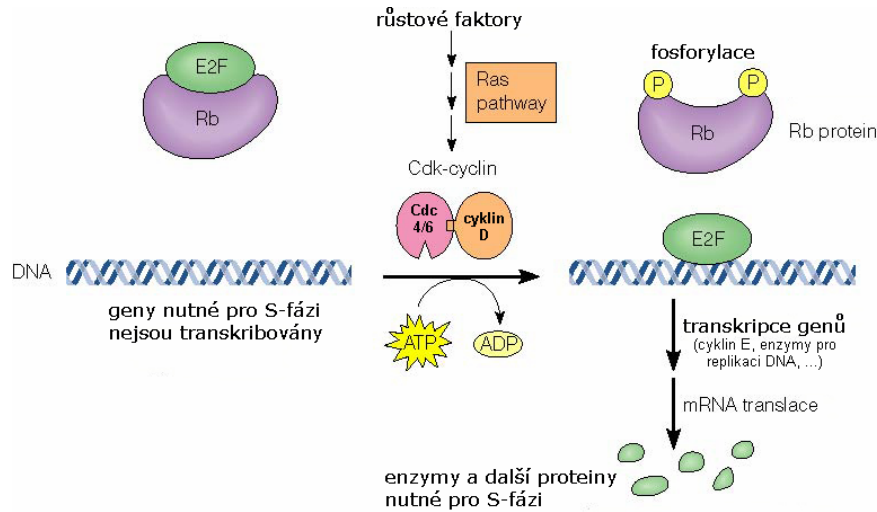
(B) - Supresorové geny

▪ kódují inhibiční proteiny zastavující b. cyklus

- (1) **Rb protein** (ch. 13q14)
 - hl. negativní regulátor b. cyklu, řídí přechod z G₁- do S-fáze, aktivita řízena de-/fosforylací (pomocí *cdk4/6* + cyklin D)
 - mutace Rb (nejč. mikrodelece) vedou ke vzniku retinoblastomu (nádor sítnice)
- (2) **p53 protein** (ch. 17p13)
 - "strážce genomu" – kontrola cyklu v G₁ a G₂ kontrolních bodech
 - při poškození DNA se zvyšuje exprese p53
 - funguje jako **transkripční faktor** genů reparace DNA a apoptózy
- (3) **p21**
 - hl. cílový gen p53 = inhibitor Cdk – zastavení cyklu v G₁ fázi inhibicí Cdk2/cyklin E komplexu
- (4) **BRCA1 a BRCA2**
 - součást detekčního systému DNA poškození
- mutace v supresorových genech jsou podkladem dědičných typů rakovin
 - často názvy podle typu nádoru, který vzniká při jejich mutaci, např.
 - Rb (retinoblastom)
 - WT (Wilmsův tumor)
 - NF1 a NF2 (neurofibromatóza)
 - APC (adenomatózní polypóza coli)
 - VHL (von Hippel-Lindau syndrom)

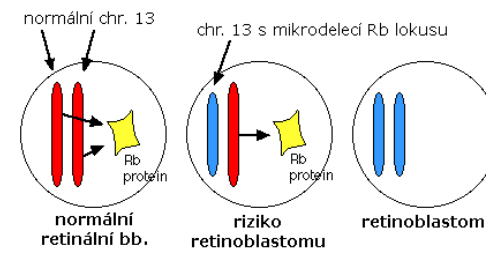
12

Rb protein (Rb/E2F G₁ checkpoint)



13

Rb protein - retinoblastom



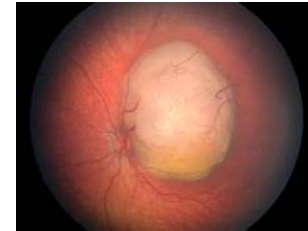
mikrodelece v oblasti chr. 13q14 vedou k poruše Rb

- vrozené - familiární retinoblastom

- pacient zdědil jednu mutovanou alelu, druhá mutace brzy v průběhu života
 - ztráta vrozené heterozygosity (LOH)

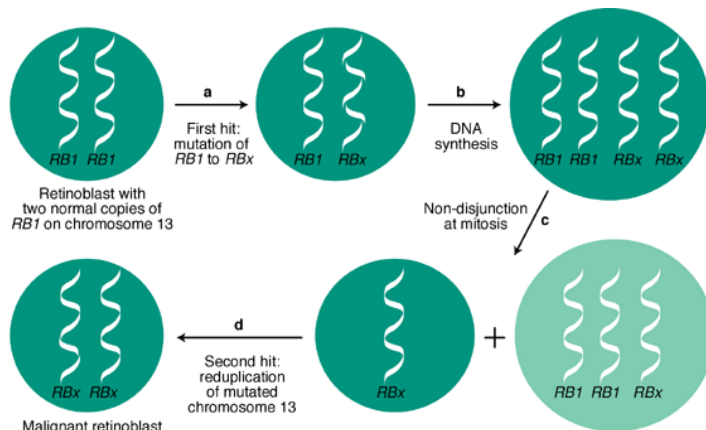
- získané - sporadický retinoblastom

- inaktivace Rb mutacemi obou alel v průběhu života



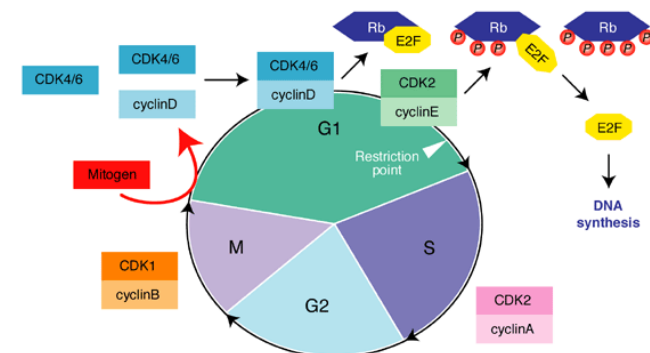
14

Vznik sporadického retinoblastomu mechanismem LOH



15

Shrnutí – nastartování b. cyklu

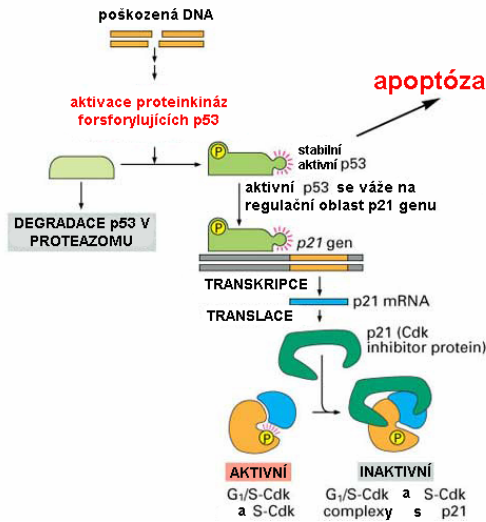


- mitogeny startují b. cyklus indukci cyklinu D a inaktivací Rb proteinu
 - průběh cyklu je koordinován postupnou aktivací jednotl. CDKs a jejich podjednotek - cyklinů (oscillating between rapid synthesis and degradation)
 - exprese cyklinu D (a do jisté míry cyklinu E) indukovaná mitogeny představuje začátek cyklu
 - cyclin D- a cyclin E-dependentní kinázy fosforylují a tak blokují Rb protein, hl. kontrolní bod přechodu G1 do S fáze
 - inaktivace Rb proteinu představuje moment, kdy b. cyklus přestává být závislý na mitogenech
 - inaktivací Rb se uvolní E2F transkripční faktory, které stimulují expresi dalších cyklinů a ostatních genů nutných pro DNA syntézu

16

Protein p53 (ch. 17p13)

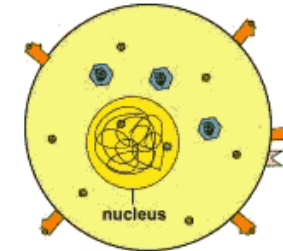
- při poškození DNA se aktivuje p53
 - stabilizací (↓ ubiquitin ligázy MDM2)
 - fosforylací prostřednictvím ATM
- p53 dále zprostředkuje:
 - (1) expresi inhibitorů b. cyklu (p21) → **dočasné zastavení b. cyklu** v G1/S kontrolním bodě, které umožní reparaci DNA
 - (2) zvyšuje expresi GADD 45 (Growth Arrest and DNA Damage) → **excizní reparace DNA**
 - (3) pokud není oprava úspěšná, zvyšuje expresi Bax → **apoptóza**
- mutace p53 jsou přítomny cca u 50% všech nádorů!!!



17

Apoptóza

APOPTOSIS

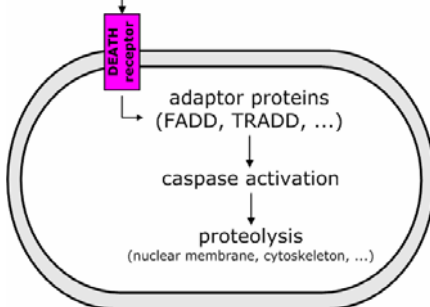


18

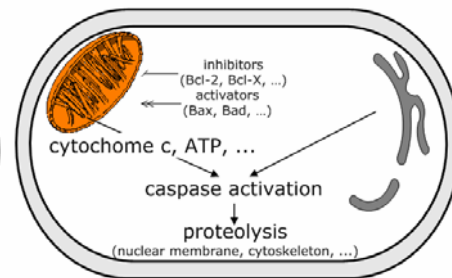
Dráhy aktivace apoptózy

EXTRINSIC PATHWAY

ligands: TNF- α , LTA, TRAIL, Fas-L



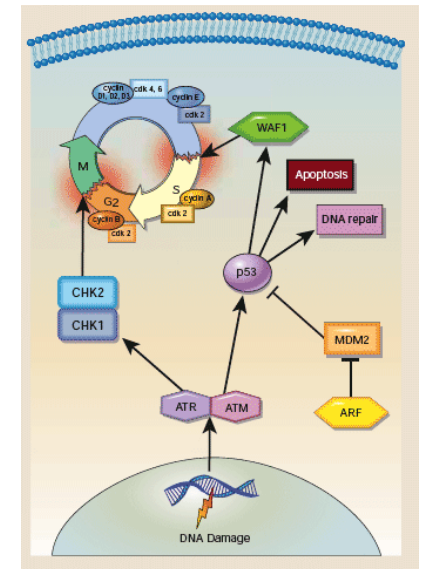
INTRINSIC PATHWAY - mitochondria-related ER-related



19

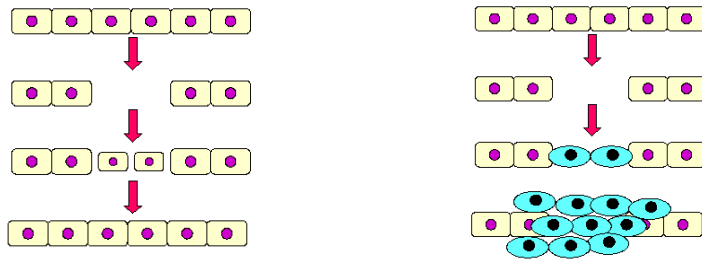
(C) - DNA reparační geny

- (1) geny reparace chybného párování ("mismatch repair")
 - nestabilita délky mikrosatelitových lokusů (např. HNPCC = Hereditary Non-Polypous Colon Cancer)
- (2) geny excizní reparace
- (3) geny homologní rekombinace
 - hlavní dráha aktivovaná při poškození DNA (double strand break) zahrnuje: ATM (ATR)/CHK2 (CHK1) → p53/MDM2 → p21 → "growth arrest"
- vrozená porucha reparačních genů je podkladem několika dědičných typů nádorových onemocnění
 - ataxia telangiectatica
 - Bloomův syndrom
 - Fanconiho anemie
 - xeroderma pigmentosum
 - Syndrom fragilního X



20

Další faktory ovlivňující b. cyklus

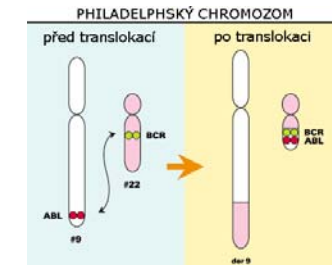
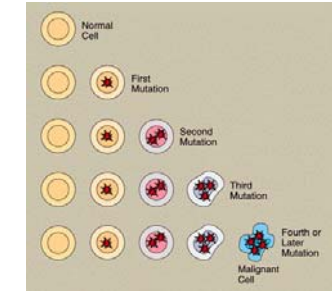


- kontaktní inhibice
- mezibuněčná komunikace
 - integriny
 - kadheriny

21

Proces nádorové transformace

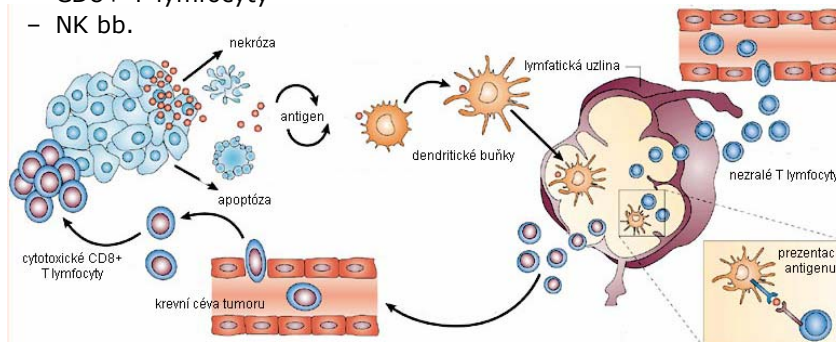
- jakákoliv mutace v kritickém místě DNA
 - tj. protoonkogen, supresor, reparační gen
- chromozomové aberace
 - translokace
 - inverze
 - delece
- genové mutace
 - bodové mutace
 - délkové (ins/del)
- mutageny/karcinogeny
 - fyzikální
 - UV (karcinom a basalion kůže, melanom)
 - ionizující záření a RTG záření (leukemie, št. žláza, kosti, ...)
 - chemické
 - polycyklické aromatické a chlorované uhlovodíky, aromatické aminy, nitrosaminy, těžké kovy, mykotoxiny
 - některé toxické až po metabolické transformaci v organismu, popř. při tepelném zpracování (potrava)
 - nádory GIT jako důsledek expozice karcinogenům v dietě
 - nádory plic jako důsledek kouření
 - alkoholická cirhóza
 - biologické = inkorporace virového genomu do hostitelského, opět v kritických místech
 - DNA viry
 - herpes (EBV - lymfomy)
 - hepdnaviry (HBV – hepatocelulární ca)
 - papovaviry (papilomaviry – ca děložního čípku, hrtanu, ústní dutiny)
 - adnaviry
 - RNA viry – retroviry
 - HIV - Kaposiho sarkom, B-lymfom
 - HTLV – T-buněčná leukemie
- prekancerózy = chronická iritace tkáně zánětem
 - Baretův jícen při GER
 - ulcer=ozní kolitida a Crohnova nemoc
 - divertikulitida



22

Imunitní systém vs. nádor

- nádorové bb. mají některé imunologické odlišnosti
 - změny přirozených povrchových antigenů (např. ztráta MHC)
 - unikají imunitnímu rozpoznání a likvidaci
 - exprese nových (tzv. onkofetálních) antigenů
 - diagnostické markery (např. CEA, α -fetoprotein aj.)
- v protinádorové imunitě se uplatňují cytotoxické mechanismy
 - CD8+ T-lymfocyty
 - NK bb.



23

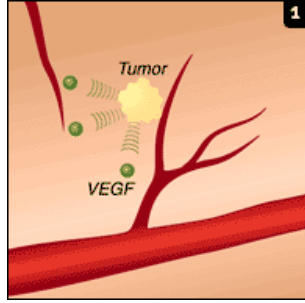
Růst tumoru

- dělení v klonu nádorových buněk: $N=2^n$
 - 2, 4, 8, 16, 32,
 - 10 dělení = $\sim 1\ 000$ bb.
 - 20 dělení = $\sim 1\ 000\ 000$ bb. (m=1mg)
 - 30 dělení = $\sim 1\ 000\ 000\ 000$ bb. (m=1g)
 - 40 dělení = m=1kg
 - při 12-ti hodinovém b. cyklu za zhruba 20 dní
- ve skutečnosti je ovšem růst nádoru mnohem pomalejší - dělení \times zánik buněk
 - prodlužování trvání b. cyklu
 - neproliferující frakce bb. (diferencované)
 - zánik bb. (malnutrice, cytotox. lymfocyty)
 - mechanické ztráty bb. (odlupování např. ve střevě)
- podmínkou růstu je vytvoření nádorového stromatu a kapilární sítě (angiogeneze)
 - pak převažuje proliferace nad zánikem buněk

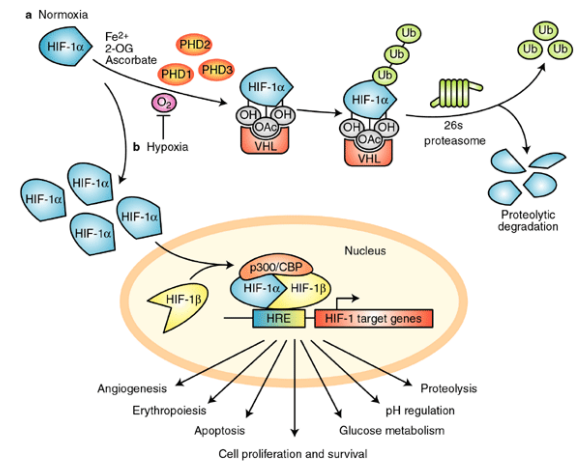
24

Angiogeneze

- **potřeba energie** (kyslík a substráty)
 - buněčná masa velikosti okolo 1mm³ (cca 1×10⁶ buněk) není bez vaskularizace schopna dále růst (proliferace je v rovnováze s apoptózou)
 - v odpovědi na **hypoxii** je produkován hypoxia-inducible factor-1a (HIF-1a), který po translokaci do jádra ovlivňuje transkripční řady genů, mimo jiné vascular endothelial growth factor (VEGF)
 - tento stimuluje novotvorbu cév (**angiogeneze**) nutných pro další růst nádoru
 - produkce proteolytických enzymů nádor. bb. (matrix metalloproteináz) degraduje extracelulární matrix a umožňuje "pučení" nových cév z existujících
 - proliferace a migrace endotelií je dále potencována angiogenními faktory secernovanými nádorem (např. VEGF, basic fibroblast growth factor (bFGF), transforming growth factor-β (TGF-β), and platelet-derived growth factor (PDGF))
 - novotvořené cévy tumoru umožňují jeho invazi do kr. řečiště a event. vzdálené metastazování
- **hormonální stimulace**
 - růst některých tumorů je výrazně potencován hormony (nejč. pohlavními)
 - ca prsu, dělohy, vaječníků, prostaty



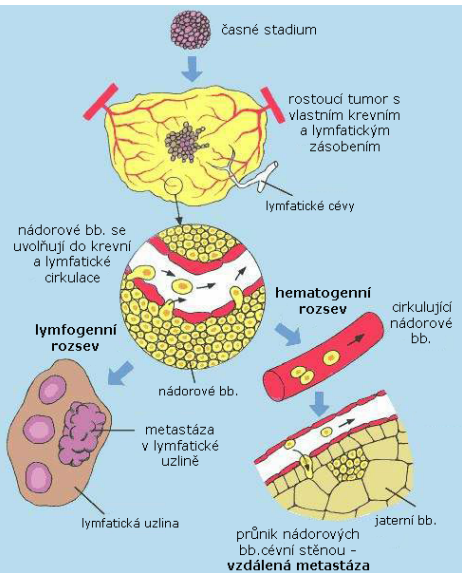
Hypoxii-indukovaná transkripce genů



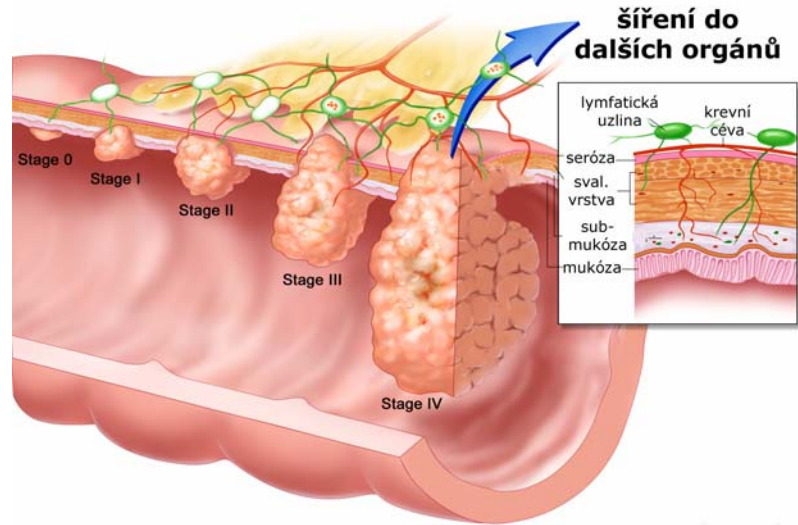
HIF-1α regulation by proline hydroxylation

Metastazování

- vytváření dceřinných nádorů vzdálených od primárního ložiska
 - krví
 - často po směru toku
 - např. z GIT do jater
 - např. venózní krví do plic
 - např. z plic tepennou krví do kostí a mozku
 - lymfou
 - nejprve nejbližší lymf. uzliny, poté vzdálenější



Příklad – kolorektální karcinom



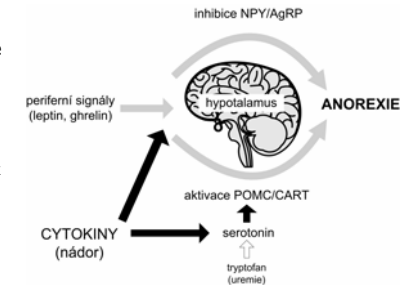
Interakce nádoru a hostitele

- **místní působení nádoru**
 - mechanický útlak (např. nádory mozku)
 - obstrukci (např. nádory žl. cest)
 - krvácení, snadná tvorba modřin (leukemie)
 - krvácení do GIT (nádory střeva a žaludku)
 - edém (např. lymfomy)
 - trombózy (DIC)
 - porucha zraku (útlak zrak. nervu adeomem hypofýzy)
 - porucha hlasu (ca hrtanu)
 - kašel (ca plic)
 - porucha polykání (ca jícnu)
 - zlomenina kosti (myelom)
- **celkové působení**
 - zvýšení teploty
 - produkce cytokinů (pyrogenů) nádorem (např. IL1, TNF α)
 - nádorová anorexie/kachexie
 - kombinovaný důsledek
 - paraneoplastické syndromy
 - některé tumory produkují hormony (adenomy)- důležitý diagnostický znak!
 - pigmentace, endokrinopatie (např. Cushing), hyperkalcemie, atd.

29

Nádorová anorexie/kachexie

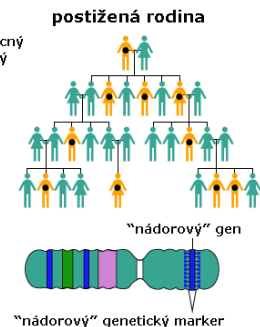
- je důsledkem sekundární anorexie u nádorového onemocnění
 - iničiální anorexie je zřejmě součástí nespecifických obranných mechanismů organismu (energetická deprivace rostoucího nádoru)
 - postupně se stává přitěžující komplikací vedoucí k progresivní kachektizaci a dalšímu narušení obranyschopnost nemocného
- anorexie u nádorových onemocnění (patogeneticky spjatá s existencí nádoru jak bylo experimentálně prokázáno) je odlišná od nevolnosti a zvracení, které vzniká jako vedlejší efekt léčby!
- důsledky nádorové anorexie jsou rovněž závažnější než efekt pouhého hladovění u jinak zdravého člověka, protože jsou vlivem onemocnění zvýšeny energetické nároky (opět na vrub rostoucího tumoru).
- patofyziologicky se při rozvoji nádorové anorexie primárně uplatňuje změněná aktivace regulačních center v hypothalamu, ovlivňujících příjem potravy (zejm. n. arcuatus) v důsledku působení cytokinů produkovaných nádorem, popř. imunitním systémem hostitele
 - v hypothalamických centrech dochází k dlouhodobému snížení koncentrace NPY a naopak k hyperaktivaci systému POMC/CART
 - cytokiny produkované nádorem, popř. imunitním systémem hostitele (IL-1, IL-6, TNF- α), stimuluji uvolňování serotoninu a tím perzistentní aktivaci POMC/CART neuronů



30

Typy nádorů s familiárním výskytem

- (1) některé vzácné typy nádorů v důsledku vrozených mutací (většinou se vyskytují v dětském věku):
 - retinoblastom (nádor sítnice)
 - Wilmsův tumor (nádor ledvin)
 - Li-Fraumeni syndrom (různé typy nádorů vč. sarkomů, nádorů mozku, leukemií)
 - familiální adenomatózní polypóza (nádory tl. střeva)
- (2) jiné mutace zvyšují pravděpodobnost k běžným typům nádoru (za spolupůsobení faktorů prostředí): ~5 – 10% všech nádorů
 - nicméně protože tyto typy nádorů jsou velmi běžné i malé procento reprezentuje velký absolutní počet osob! (např. 1/300 žen je nositelkou mutace predisponující k rakovině prsu a přibližně totéž platí pro rakovinu střeva)
 - nádory kolorekta
 - nádory prsu
 - varianty BRCA1 genu
- možná predikce – genetické vyšetření a poradenství



31

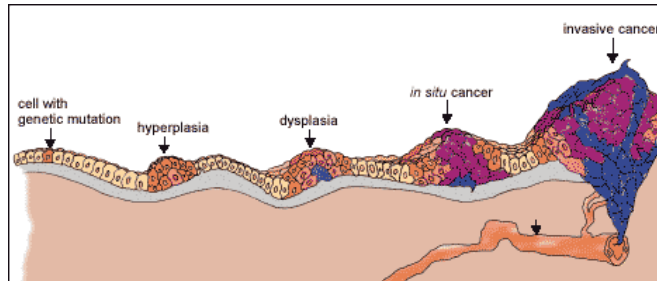
Syndrome	Major tumor types	Mode of inheritance	Type of gene	Genes
Adenomatous polyposis of the colon	Colon, thyroid, stomach, intestine, hepatoblastoma	Dominant	TS	APC
Juvenile polyposis	Gastrointestinal	Dominant	TS	SMAD4/DPC4
Peutz-Jeghers syndrome	Intestinal, ovarian, pancreatic	Dominant	TS	STK11
Neurofibromatosis type 1	Neurofibroma, optic pathway glioma, peripheral nerve sheath tumor	Dominant	TS	NF1
Neurofibromatosis type 2	Vestibular schwannoma	Dominant	TS	NF2
Tuberous sclerosis	Hamartoma, renal angiomyolipoma, renal cell carcinoma	Dominant	TS	TSC1/TSC2
Xeroderma pigmentosum	Skin, melanoma, leukemia	Recessive	SG	XPA,B,C,D,E,F,G, POLH
Bloom syndrome	Leukemia, lymphoma, skin	Recessive	SG	BLM
Fanconi anemia	Leukemia, squamous cell carcinoma, gynaecological system	Recessive	SG	FANCA,B,C,D ₂ ,E,F,G
Nijmegen breakage syndrome	Lymphoma, medulloblastoma, glioma	Recessive	SG	NBS1
Ataxia teleangiectasia	Leukemia, lymphoma	Recessive	SG	ATM
Von Hippel-Lindau syndrome	Retinal and central nervous hemangioblastoma, pheochromocytoma, renal cell carcinoma	Dominant	TS	VHL
Wilms tumor syndrome	Wilms tumor	Dominant	TS	WT1
Retinoblastoma	Retinoblastoma, osteosarcoma	Dominant	TS	RB1
Li-Fraumeni syndrome	Soft tissue sarcoma, osteosarcoma, breast, adrenocortical carcinoma, leukemia, brain tumor	Dominant	TS	TP53
Multiple exostosis	Chondrosarcoma	Dominant	TS	EXT1/EXT2
Werner syndrome	Osteosarcoma, meningioma	Recessive	SG	WRN
MEN 1	Pancreatic islet cell tumor, pituitary adenoma, parathyroid adenoma	Dominant	TS	MEN1
MEN 2	Medullary thyroid carcinoma, pheochromocytoma, parathyroid hyperplasia	Dominant	OG	RET

TS - tumor suppressor gene; OG - oncogene; SG - stability gene; OMIM - online Mendelian inheritance in man

32

Klasifikace nádorů

- morfologická diagnostika = typing
 - určení histologického typu
- hodnocení invazivity = grading
 - stupeň benignity × malignity
- určení iniciálního rozsahu = staging
 - TNM klasifikace (T = tumor, N = node (uzliny), M = metastasis)



33



34