

Malignaní transformace

Stádia rozvoje nádorového onemocnění

Teorie kancerogeneze

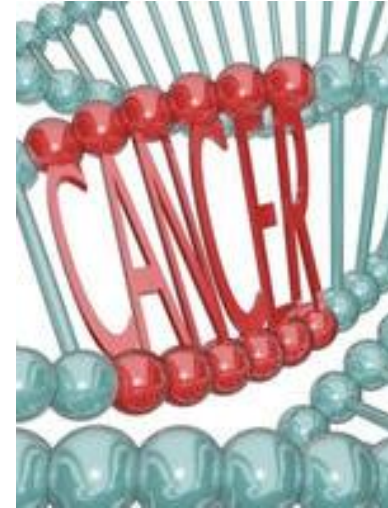
Znaky nádorových buněk

Onkogeny a nádorové supresory

Metastázování

Interakce nádoru a organismu

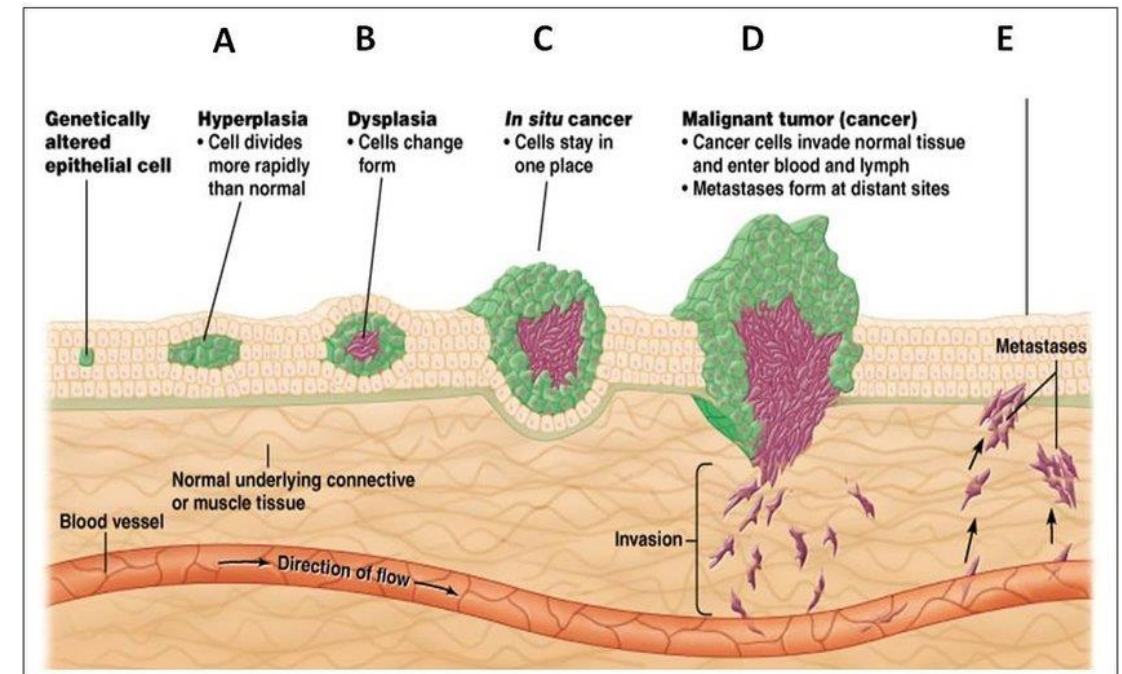
Nádorové biomarkery



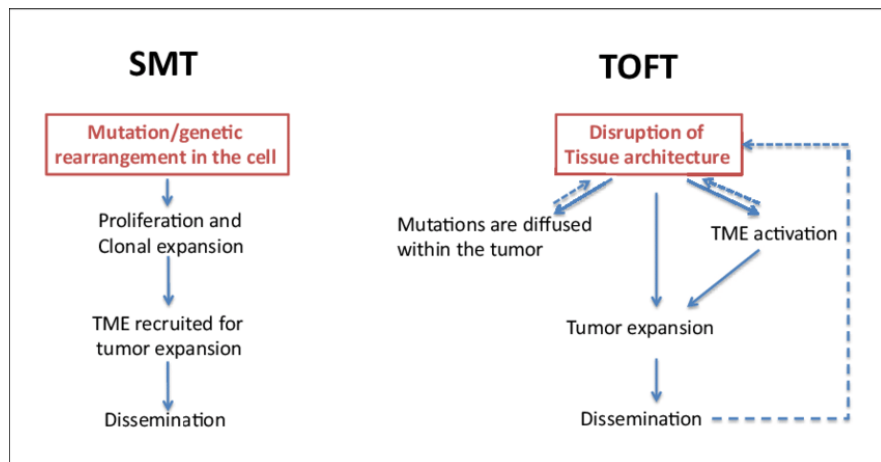
Rozvoj nádorového onemocnění

- Proces formování nádorů je **komplexní** a zahrnuje řadu změn v buňkách/tkáních a jejich fyziologických kontrolních mechanismech.
- Komplexita procesu se projevuje **dlouhými časovými intervaly** nutnými pro rozvoj většiny nádorových onemocnění.
- Vícekrokovou progresi nádorů lze popsat jako formu **Darwinovské evoluce** odehrávající se ve tkáních.

Kancerogeneze



Teorie kancerogeneze: somatické mutace versus organizace tkání



Somatické mutace versus narušení organizace tkání

Teorie tkáňového pole (Tissue Organization Field Theory =**TOFT**)

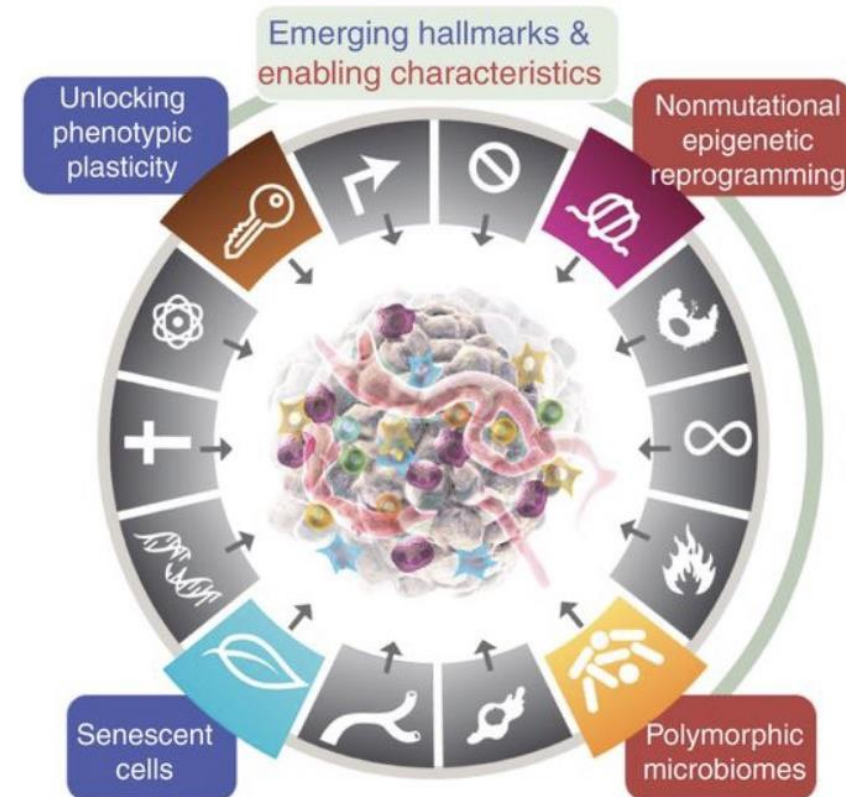
- Karcinogeneze je "neúspěšný vývoj".
- Normální tkáň blokuje proliferaci a pohyblivost buněk (homeostáza tkáně).
- Narušení normálního uspořádání tkáně vede ke ztrátě omezujících mechanismů a následné proliferaci a invazi buněk.
- Abnormální architektura tkání.
- Signifikantní role mikroprostředí.
- DNA mutace jsou méně významné.

Teorie somatických mutací (Somatic Mutation Theory=**SMT**)

- Změny v DNA zakladatelské buňky způsobují, že tato buňka není schopna řídit svou proliferaci.
- Klonální expanze.

Znaky umožňující rozvoj nádorového onemocnění

- Genomická nestabilita a epigenetické přeprogramování
- Odblokování fenotypové plasticity
- Nádorové mikroprostředí
- Polymorfní mikrobiomy



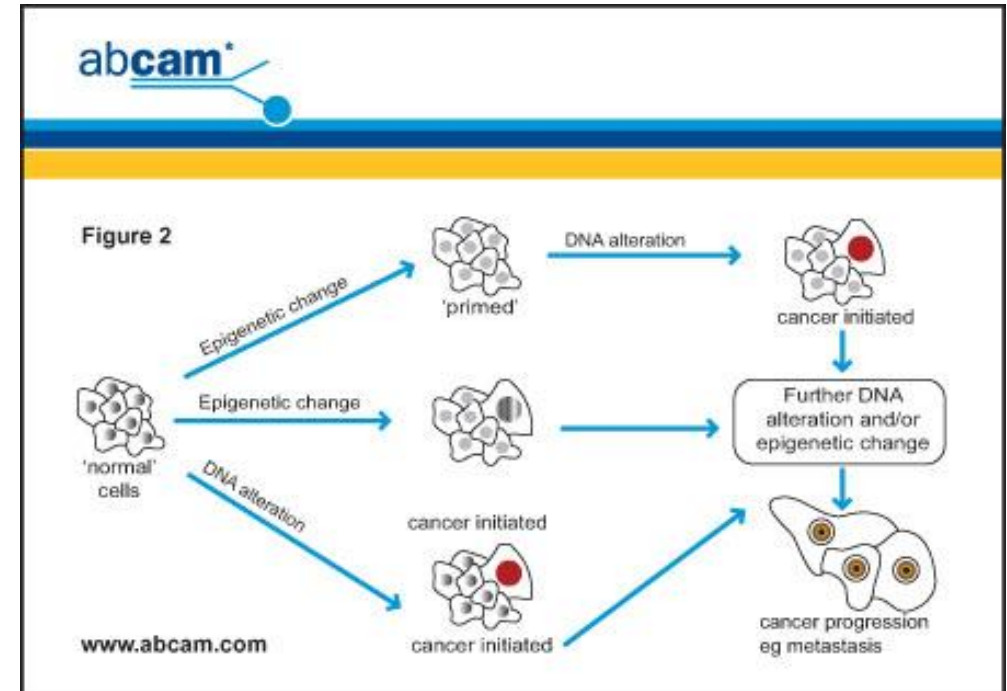
Genomická nestabilita a epigenetické přeprogramování

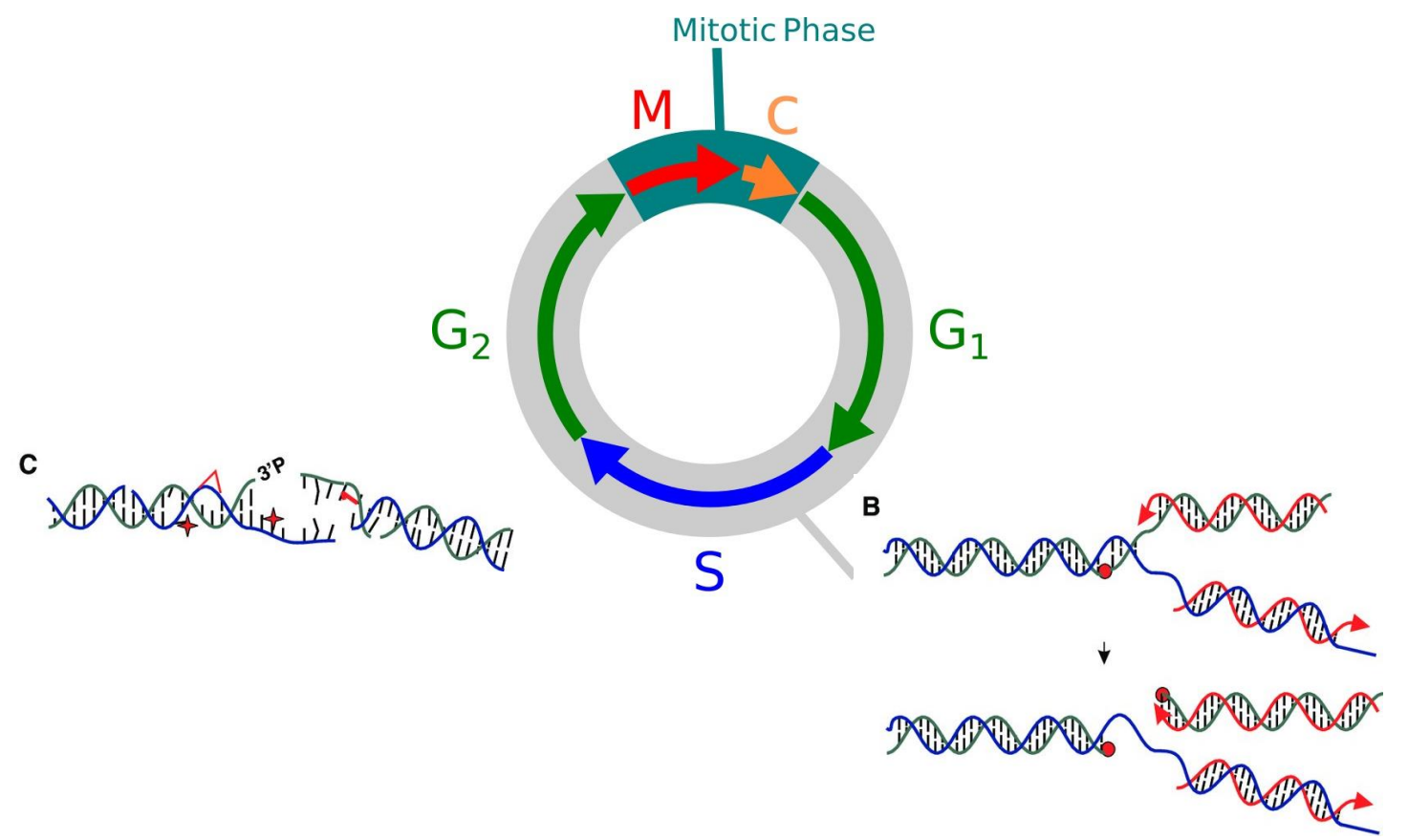
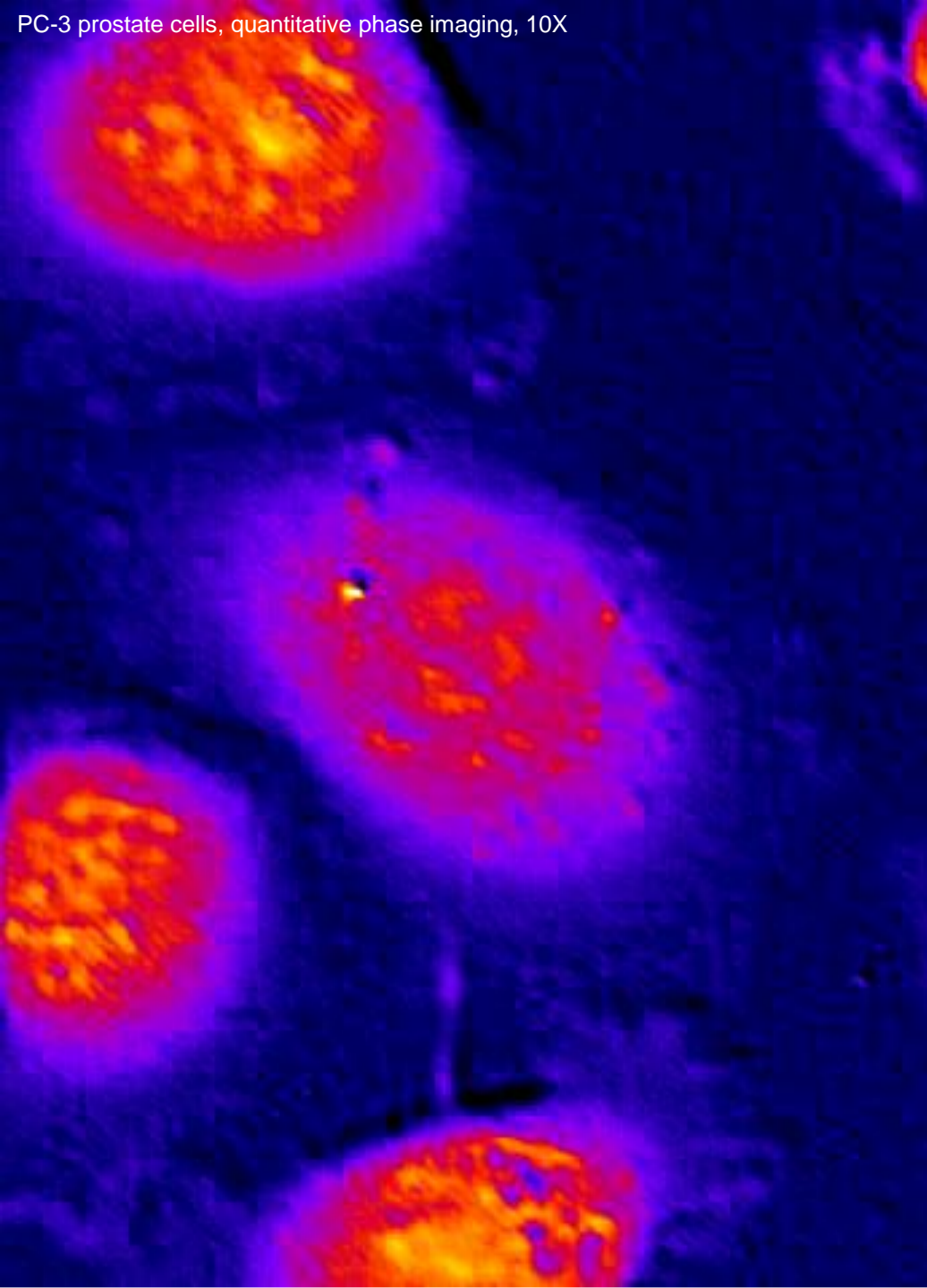
Genetické změny mohou vzniknout

- (1) vinou interních chyb při replikaci DNA a dělení buněk
- (2) jako následek vystavení externím faktorům (**karcinogenům**)
 - fyzikální – např. UV a ionizující záření
 - chemické – organické sloučeniny, toxiny, těžké kovy
 - biologické – některé RNA a DNA viry

Epigenetické změny mohou přispívat k získání charakteristických onkogenních znaků během maligní progrese.

- epigenetické změny zprostředkované hypoxií
- epigenetické změny zprostředkované kyselým mikroprostředím nádoru
- motivy extracelulární matrix (ECM) nebo signalizace vyvolaná tuhostí ECM





Dvouřetězcový zlom DNA

Jednořetězcový zlom DNA

50/buněčný cyklus

5000/cyklus

U člověka 30 000 000 000 000 000 zlomů/den

Genomická nestabilita–nové příležitosti pro evoluci

- Poškození DNA může jednotlivce předurčovat ke zvýšené tvorbě nádorů.
- Vyšší množství kopií chromozomů nebo genů umožňuje buňkám zvýšenou expresi určitých genů, nebo mutace nadbytečných kopií pro získání výhod v růstu, přežívání či tvorbě metastáz.
- Genomová nestabilita je charakteristická pro většinu nádorových buněk, a to v důsledku nadměrné replikace.
- Rozsáhlé poškození DNA je spojeno s problémy v DNA replikaci (zlomy chromozomů, aneuploidie).
- Genomová integrita je pečlivě monitorována několika kontrolními mechanismy (checkpointy pro mitózu a DNA poškození, aparát pro opravu DNA).
- Stav DNA metylace je důležitý pro integritu genomu.

Geny/proteiny pro opravu DNA

MMR geny/proteiny (oprava chybného párování bazí = Mismatch repair)

Defekty v těchto genech vedou k mikrosatelitové nestabilitě (MSI). Různé délky mikrosatelitů (např. (CA)_n repetice) vedou k chybám v DNA replikaci. MSI je nejčastější v nádorech tlustého střeva.

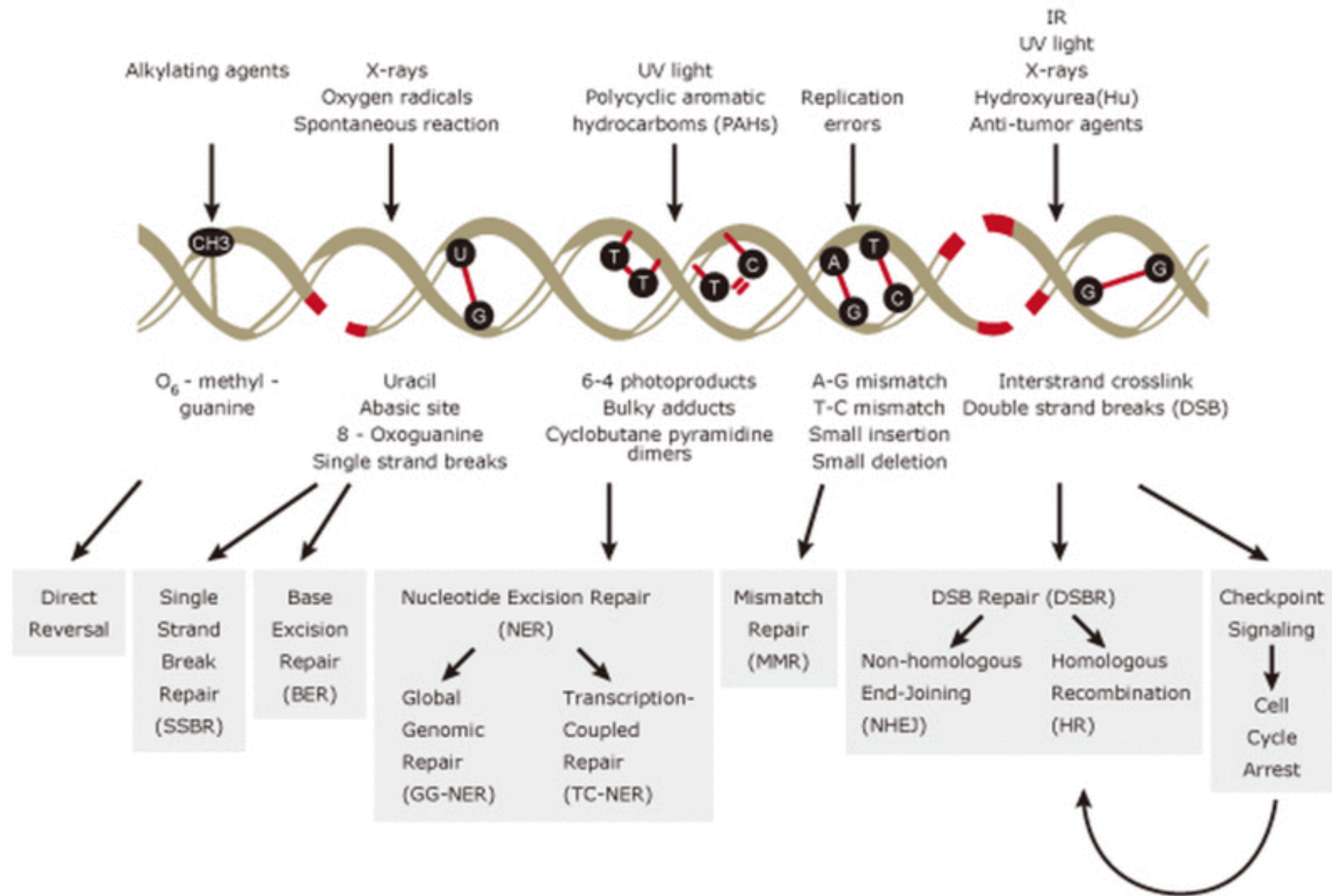
Geny/proteiny nukleotidové excizní reparační (oprava jednořetězcových zlomů)

NER defekty způsobují onemocnění xeroderma pigmentosum (XP). Pacienti s XP trpí silnou citlivostí ke slunci a již v dětství se u nich vyvíjí rakovina kůže.

Geny/proteiny homologní rekombinace (oprava dvouřetězcových zlomů)

BRCA1 a BRCA2 „breast cancer susceptibility genes”

ATM a ATR (ATM-related) kinázy „mutated in ataxia-telangiectasia“



Odblokování fenotypové plasticity

Narušení buněčné diferenciace

Dediferenciace ze zralé formy do progenitorové buňky

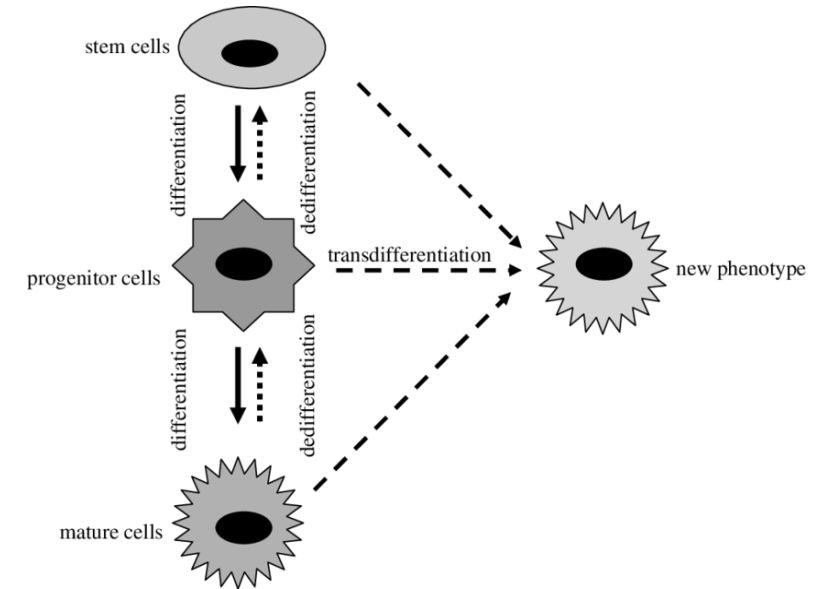
Potlačená exprese hlavního regulátoru diferenciace melanocytů MITF se podílí na vzniku agresivních forem maligního melanomu.

Blokovaná (terminální) diferenciace

Akutní promyelocytární leukemie může být důsledkem chromozomální translokace, která spojuje proteinový lokus promyelocytární leukemie (PML) s genem kódujícím jaderný receptor kyseliny retinové α (RAR α). Myeloidní progenitorové buňky nesoucí takovou translokaci nejsou schopny diferenciace v granulocyty, což vede k tomu, že buňky uvíznou v proliferativním, promyelocytárním progenitorovém stadiu.

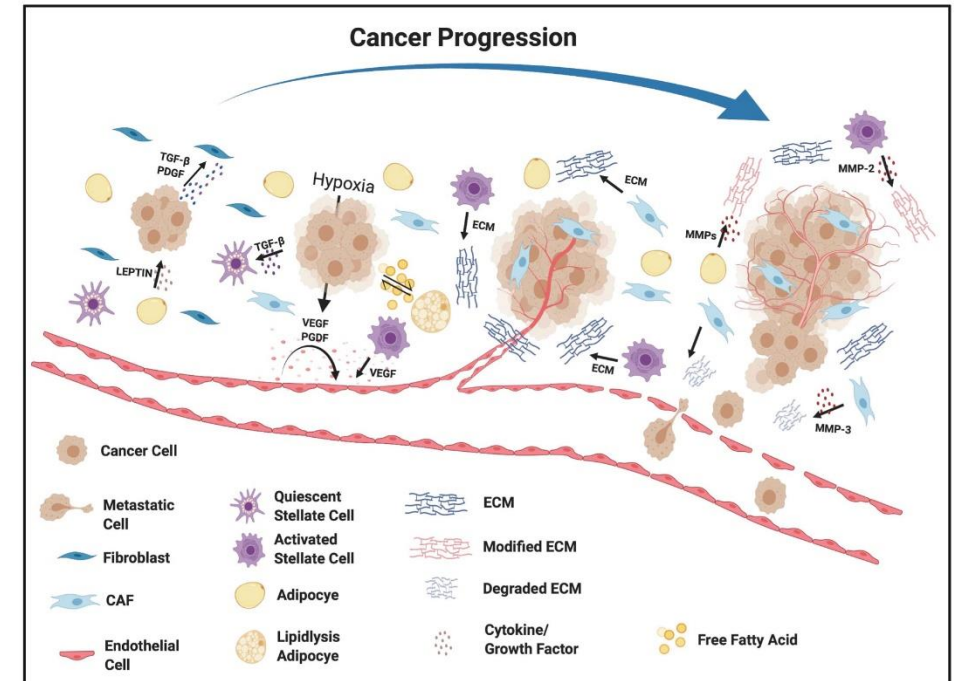
Transdiferenciace do jiných buněčných typů.

1. Pankreatické acinární buňky se mohou během iniciace neoplastického vývoje transdiferencovat do fenotypu duktálních buněk.
2. U Barrettova jícnu chronický zánět stratifikovaného dlaždicového epitelu indukuje transdiferenciaci v jednoduchý sloupcový epitel (vznik adenokarcinomů, nikoliv dlaždicobuněčných karcinomů).



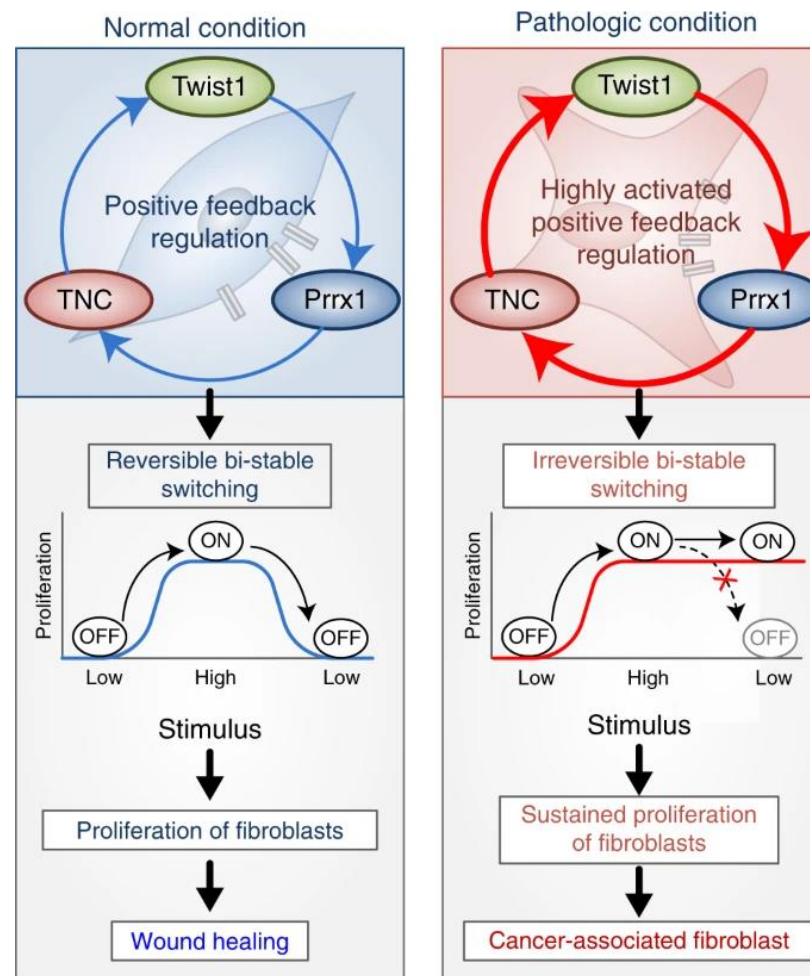
Nádorové mikroprostředí

- Od počátku růstu nádoru se mezi nádorovými buňkami a složkami TME vyvíjí dynamický a vzájemný vztah.
- Nádorové buňky stimulují významné molekulární, buněčné a fyzikální změny v hostitelských tkáních, které podporují růst a progresi nádoru.
- Nádorové buňky během nádorového bujení rekrutují buňky ze sousedních tkání.
- TME zahrnuje imunitní buňky, stromální buňky, cévy a extracelulární matrix (ECM) a může mít pro-nádorový nebo protinádorový účinek.
- Složení stromálních buněk se u jednotlivých typů nádorů liší, ale zahrnuje endotelové buňky, fibroblasty, adipocyty a hvězdicovité (stelátové) buňky.
- TME řídí angiogenezi, proliferaci, invazi a metastazování prostřednictvím sekrece růstových faktorů a cytokinů.
- Pro nádorovou ECM je typické zvýšené zesíťování a hustota, enzymatické modifikace a změněné molekulární složení, které společně organizují - částečně prostřednictvím integrinových receptorů pro motivy ECM - signální a genové expresní sítě vyvolávající invazivitu a další charakteristické vlastnosti.
- V nádorovém mikroprostředí se v důsledku vysoké metabolické aktivity a nedostatečné perfuze hromadí kyselé metabolické zplodiny. pH TME ovlivňuje funkci nádorových a stromálních buněk, jejich vzájemnou interakci a jejich interakce s ECM.



Zánět

- Mezi nádory a zánětlivou reakcí spojenou s hojením ran existují významné podobnosti.
- **"Nádory: Rány, které se nehojí".**
- Mnoho nádorů vzniká v místech infekce, chronického podráždění a zánětu.
- Chronický zánět může způsobit poškození DNA a trvalou aktivaci fibroblastů.

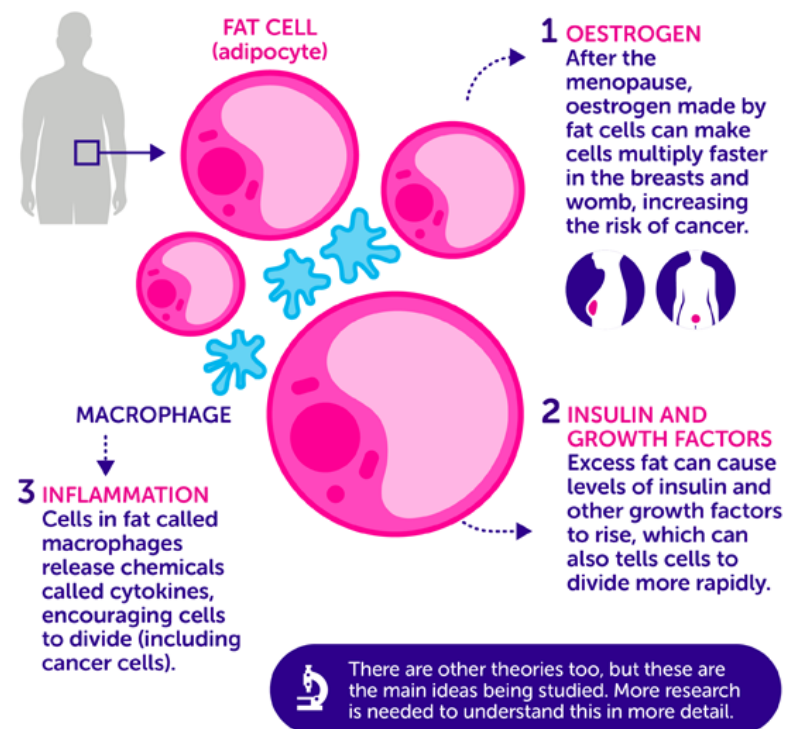


Za normálních podmínek funguje smyčka pozitivní zpětné vazby jako reverzibilní spínač, kterým se aktivace fibroblastů při dostatečné úrovni stimulace "zapíná" a "vypíná" při stažení stimulu. Tento spínač však může být za patologických podmínek trvale zapnut přetrvávající aktivací pozitivní zpětné vazby, což vede k trvalé proliferaci fibroblastů.

Záněť a obezita

HOW COULD OBESITY LEAD TO CANCER?

Research has identified three main ways

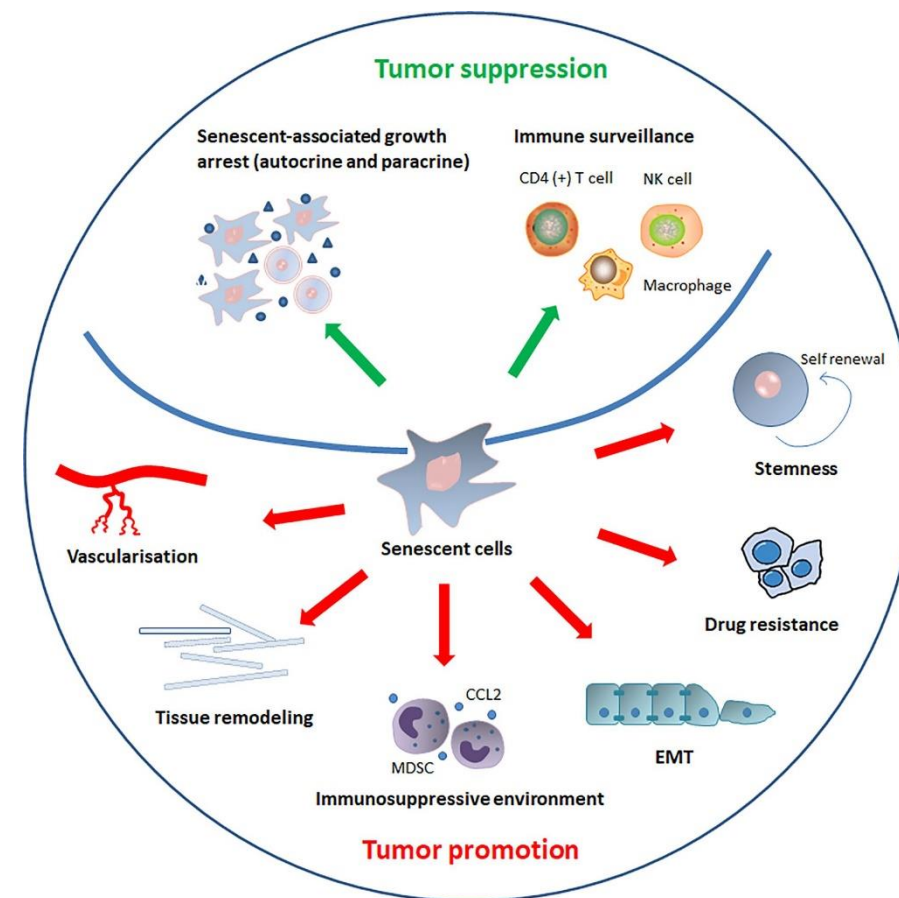


- Při postupující obezitě se v tkáních hromadí tukové buňky a stále více makrofágů je rekrutováno kvůli uklízení mrtvých adipocytů. Množství makrofágů v obézní tukové tkáni může být až 4 z 10 buněk.
- Makrofágy vypouštějí koktejl cytokinů, které mohou vyvolat chronický záněť.
- Obézní lidé mají obecně vyšší hladiny prozánětlivých cytokinů v krvi.
- **Tuk není pouze vycpávka: je to orgán jako každý jiný. V zásadě se jedná o velkou žlázu** vysílající biologické informace ovlivňující zbytek těla. Estrogen a růstové faktory produkované tukovými buňkami zvyšují riziko vzniku nádorového onemocnění.

Senescentní buňky

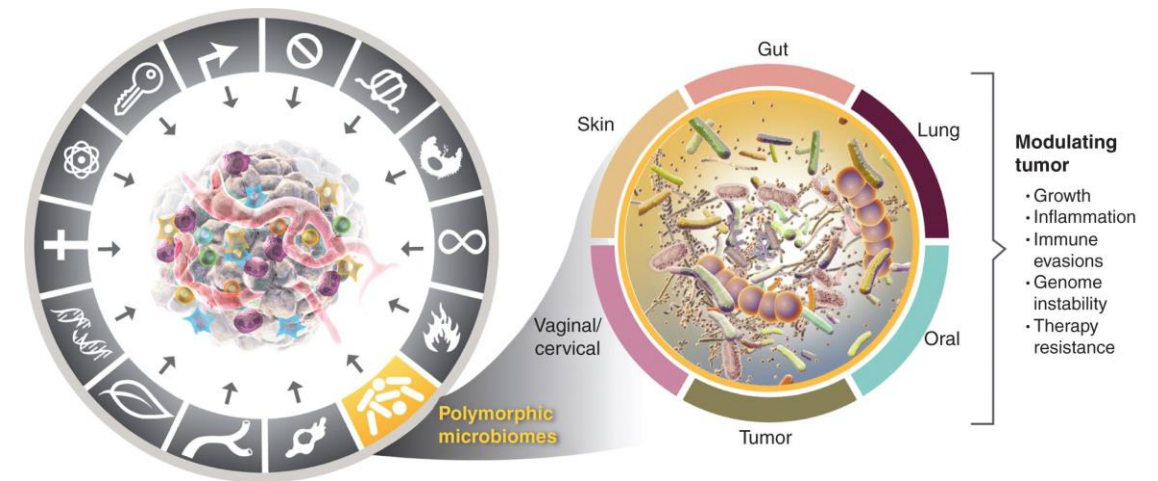
Duální role

- Buněčná senescence byla původně popsána jako tumor-supresorový mechanismus, protože rozvoj nádorů vyžaduje buněčnou proliferaci.
- Kromě zastavení buněčného cyklu vyvolává senescence změny v buněčné morfologii a metabolismu a především aktivaci sekrečního fenotypu spojeného se senescencí (SASP), který zahrnuje uvolňování množství bioaktivních proteinů, včetně chemokinů, cytokinů a proteáz.
- Složky SASP mohou přímo či nepřímo podporovat růst, invazi a metastazování nádorových buněk tím, že podporují vaskularizaci nádoru, udržují vlastnosti kmenových buněk, vytvářejí imunosupresivní prostředí, remodelují strukturu tkáně, vyvolávají rezistenci vůči léčbě a stimulují epitelovo-mezenchymová tranzice (EMT).



Polymorfní mikrobiom

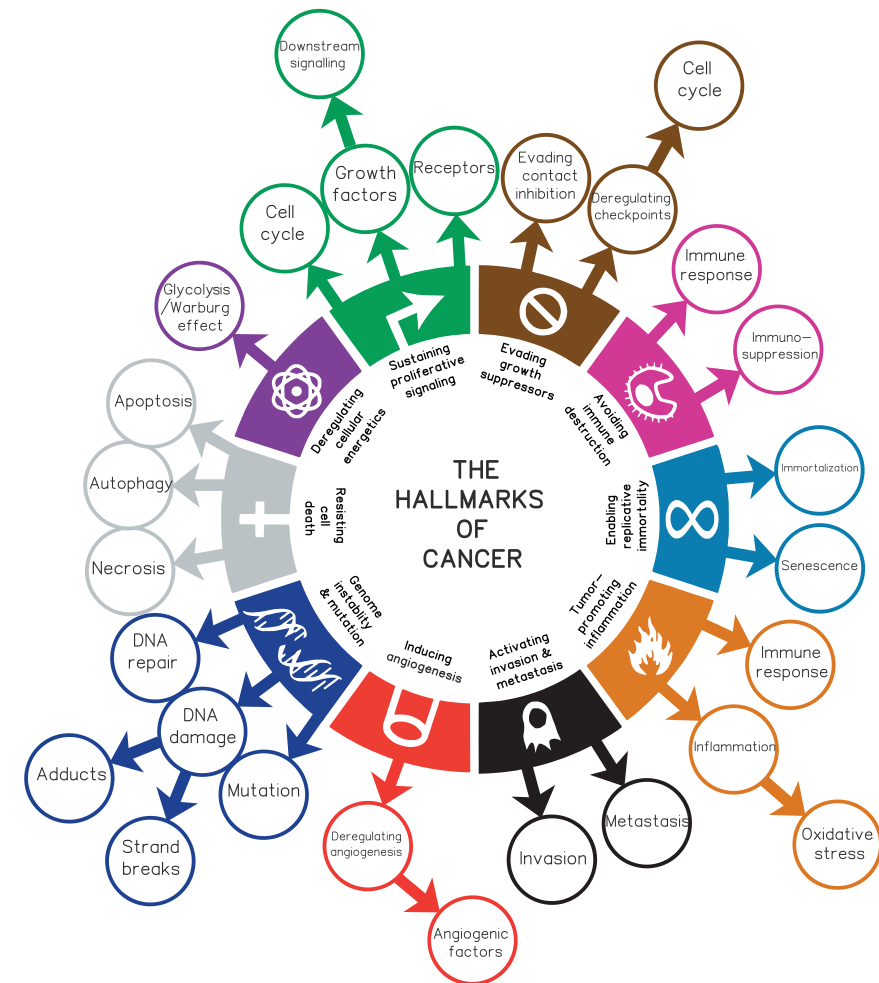
- Stále více důkazů svědčí o tom, že variabilita mikrobiomů mezi jednotlivci v populaci může mít zásadní vliv na fenotypy rakoviny.
- Mikrobiomy mohou modulovat výskyt a patogenezí nádorů.
- V myším modelu karcinogeneze tlustého střeva osídleném bakteriemi *Porphyromonas* se vyvinulo více nádorů než u myší, které tyto bakterie postrádají.



Znaky nádorových buněk

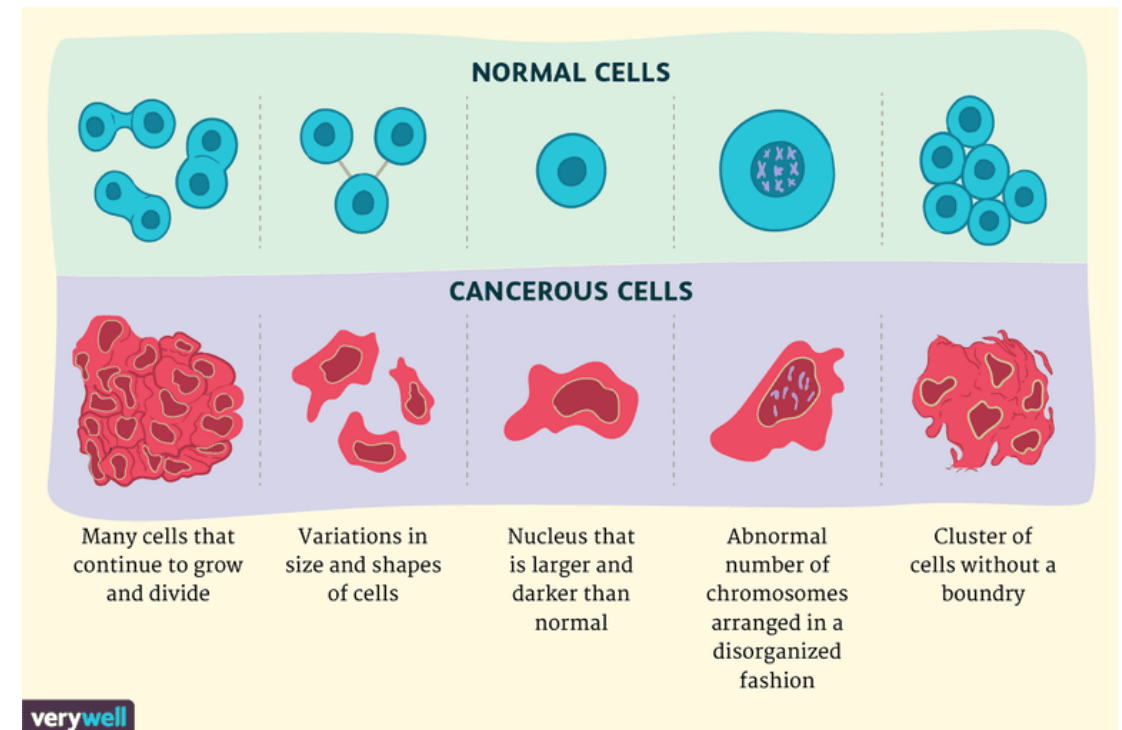
- Nepřetržitá neregulovaná proliferace nádorových buněk (udržení proliferativní signalizace a únik růstovým supresorům)
- Replikativní nesmrtelnost
- Genomová nestabilita
- Rezistence k buněčné smrti a senescenci
- Indukce angiogeneze
- Záněť
- Únik před destrukcí imunitním systémem
- Změny v metabolismu
- Invazivita a metastázování

Všechny tyto znaky nemusejí vznikat nově, protože jsou součástí fyziologických procesů jako embryogeneze a hojení ran. Nádorové buňky tyto procesy využívají ve špatné míře na nesprávném místě a ve špatný čas. Rakovina je tedy onemocněním regulačních systémů.



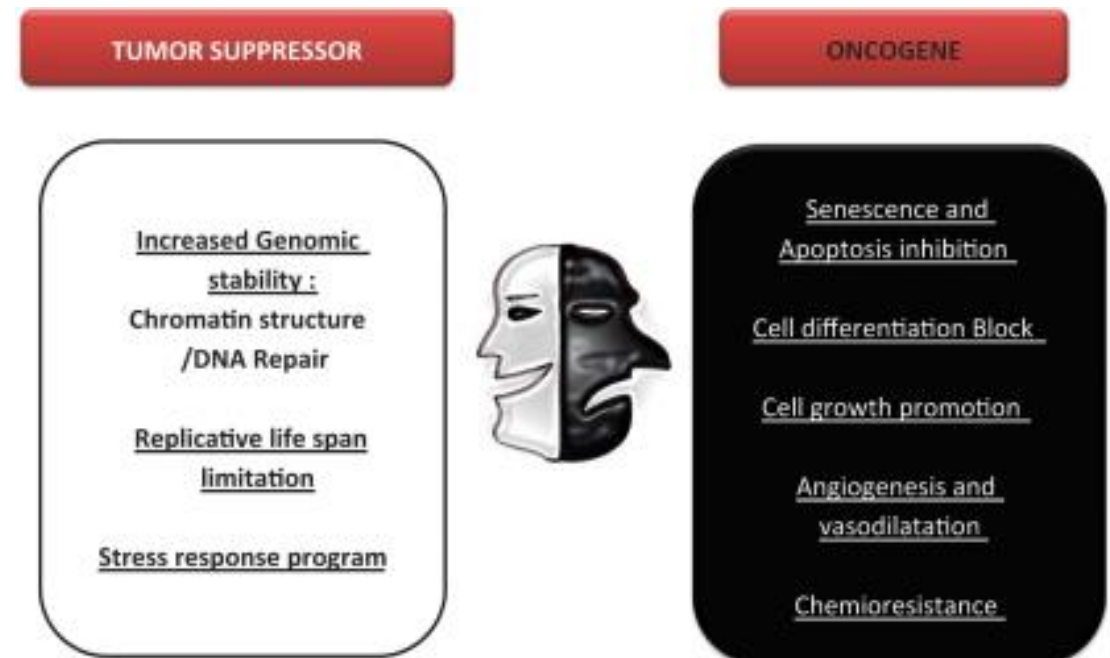
Nádorová buňka

- Nádorové buňky se nadměrně dělí – mají příliš mnoho signálů „START“ a nedostatek signálů „STOP“ a mohou také ignorovat signály „ZEMŘI“, „DIFERENCUJ SE“ nebo „ZESTÁRNI“

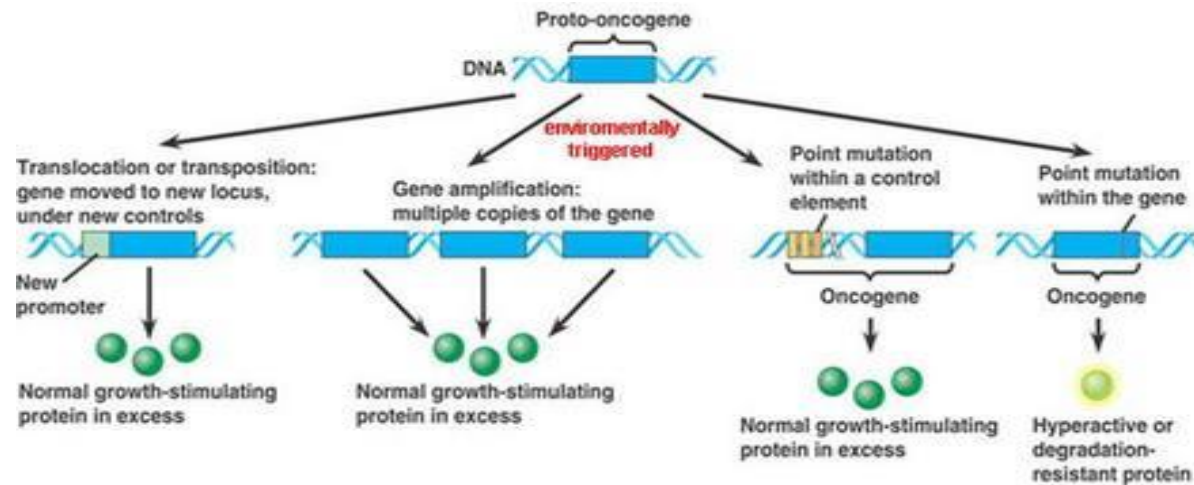


Onkogeny a nádorové supresory

- **Proto-onkogeny** – Geny, jejichž produkty kódují složky molekulárních kaskád, které zprostředkovávají buněčný růst, přežívání buněk a blokují buněčnou diferenciaci.
- Abnormální, **mutované formy** těchto proto-onkogenů, které vedou ke vzniku nádorů, se nazývají **onkogeny**.
- Proteiny kódované **nádorovými supresorovými geny** inhibují proliferaci nebo přežití buněk a podporují jejich diferenciaci.



Onkogeny



Onkogeny se od proto-onkogenů liší třemi základními způsoby:

1. načasováním a kvalitou exprese
2. strukturou a funkcí proteinových produktů
3. mírou regulace proteinových produktů buněčnými signály

Nekontrolovaný růst

- Mnoho různých mechanismů v nádorových buňkách zajišťuje, aby buněčná proliferace nebyla omezována.
- Nádorové buňky produkují růstové faktory, stimulují tak svou vlastní proliferaci (**autokrinní růstová stimulace**) a **zneužívají buněčné mitogenní signály**.

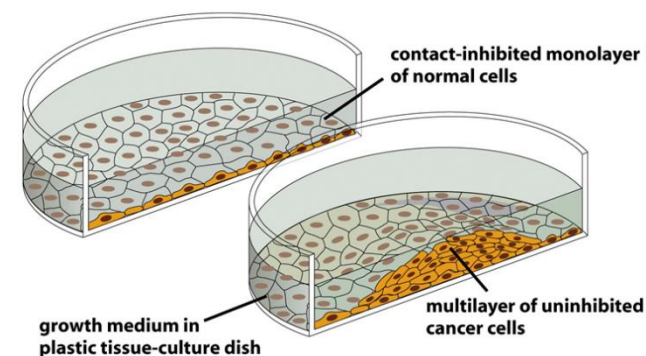
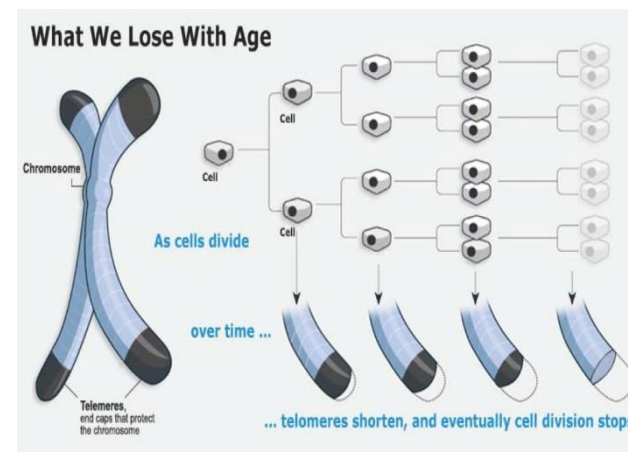
Nekontrolovaný růst – „START“ signály

„START“ signály = hlavní mitogenní signály zahrnují:

1. růstové faktory (např. EGF, VEGFA, PDGF)
2. receptory růstových faktorů (např. receptory pro epidermální růstový faktor EGF (EGFR) a jeho blízký homolog HER2/neu (ERBB2))
3. molekuly signální transdukce spojené s receptory (rodina RAS)
4. proteinkinázy (SRC, ABL)
5. transkripční faktory (MYC, MYB, FOS, JUN)
6. cykliny
7. cyklin-dependentní kinázy (cdk)

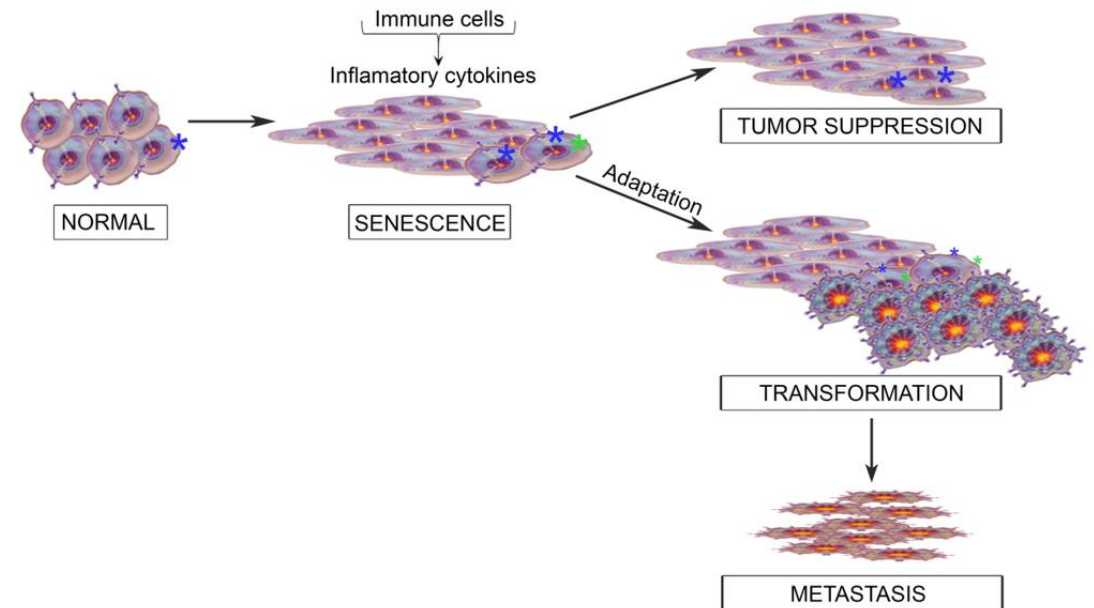
Kontaktní inhibice a imortalizace

- Proliferace většiny zdravých buněk je inhibována mezibuněčným kontaktem (**kontaktní inhibice**) a zkracováním telomer (**Hayflickův limit**), nádorové buňky jsou ale k těmto inhibitorům růstu typicky necitlivé.
- Většina pre-maligních buněk uniká Hayflickově limitu pomocí stabilizace vlastních telomer (**telomeráza**, hTERT).
- Buňky se stabilizovanými telomerami mohou proliferovat neomezeně dlouho a jsou proto označovány jako **imortalizované**. Nesmrtelné buňky nemusejí být nutně transformovanými (tumorigenními) buňkami.



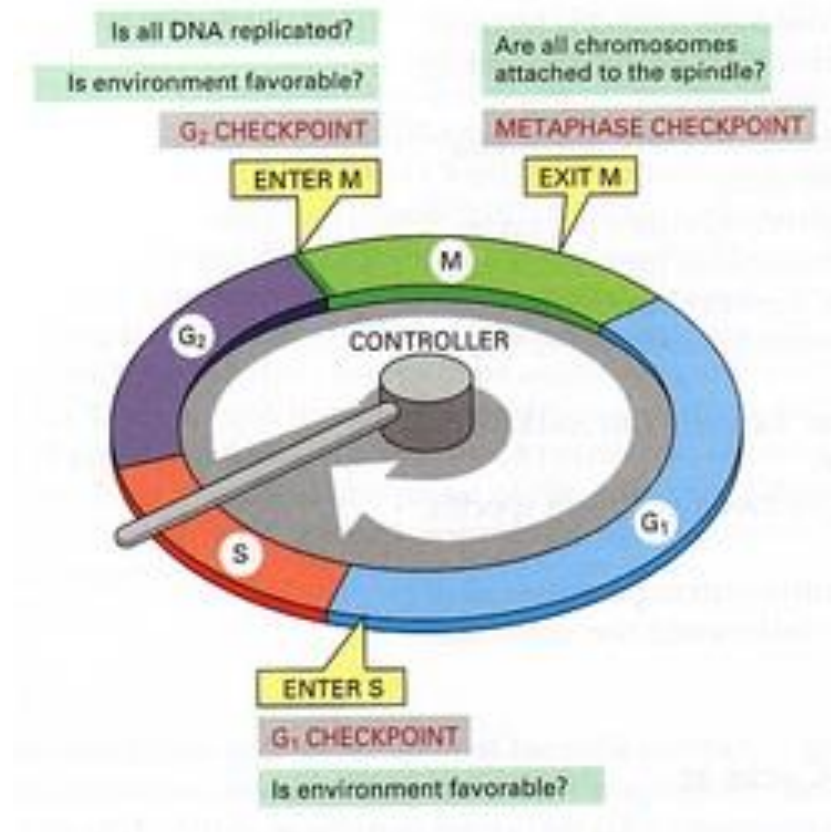
Rezistence k senescenci vyvolané onkogeny

- Buněčná senescence je proces zastavení buněčného růstu, který limituje délku života buňky a brání neomezené buněčné proliferaci.
- Určité mitogenní onkogeny nebo ztráta antimitogenních nádorových supresorů vyvolává senescenci. Tomuto jevu se říká **senescence vyvolaná onkogeny**.
- Mnoho nádorových buněk nemá plně aktivní mechanismy senescence nebo se u nich vyvine vedlejší mechanismus pro obnovení schopnosti proliferace (overexprese c-myc).



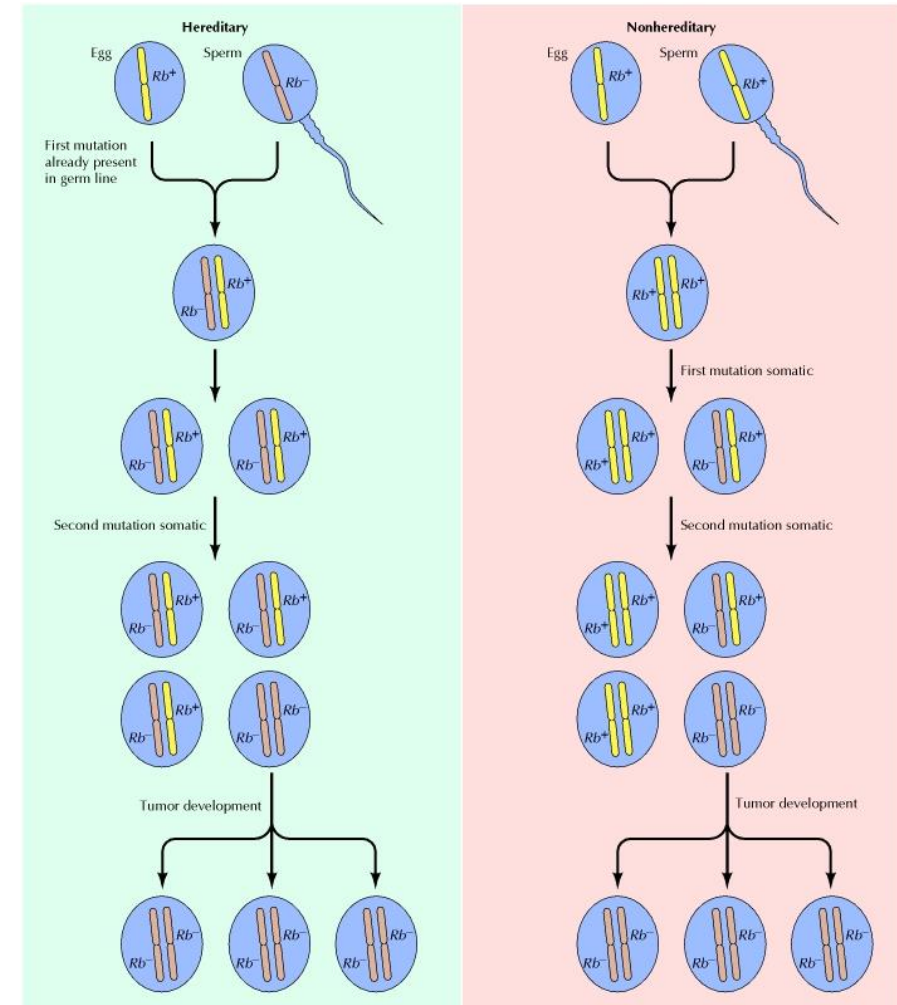
Nekontrolovaný růst – ztráta „STOP” signálů

- Zásadní rozhodnutí ohledně pokračování v růstu nebo vstupu do klidového stavu se odehrávají v G1 fázi buněčného cyklu.
- Růst zdravých buněk je kontrolován signály z okolního prostředí (extracelulární matrix, povrch sousedních buněk) a přímo z buňky (poškození DNA, poškození buňky, poškození dělicího vřeténka).



Nádorové supresory

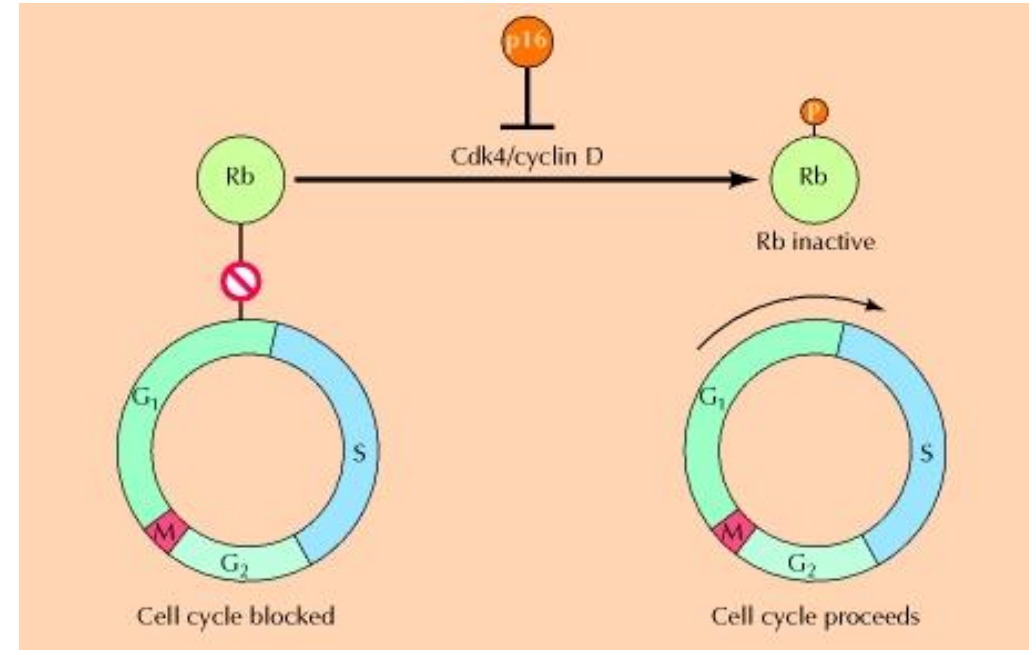
- V mnoha tumorech chybí nebo jsou inaktivovány.
- Tumor supresorové proteiny inhibují stejné buněčné regulační dráhy, které jsou stimulovány produkty onkogenů.
- Většina **familiárních nádorových syndromů** se dědí jako recesivní znak a odpovídá trvalé inaktivaci důležitého nádorově supresorového genu.
- Nádorové supresory jsou často pojmenovány podle typu nádoru, který vzniká při ztrátě jejich funkce.
- Rb (= retinoblastom)
- WT (= Wilmsův tumor)
- NF1 a NF2 (= neurofibromatóza)
- APC (= Adenomatous Polyposis Coli - Familiární adenomatózní polypóza)
- DCC (= Deleted in Colon Cancer - deletovaný v nádorech střeva)
- VHL (= von Hippel-Lindau syndrom)



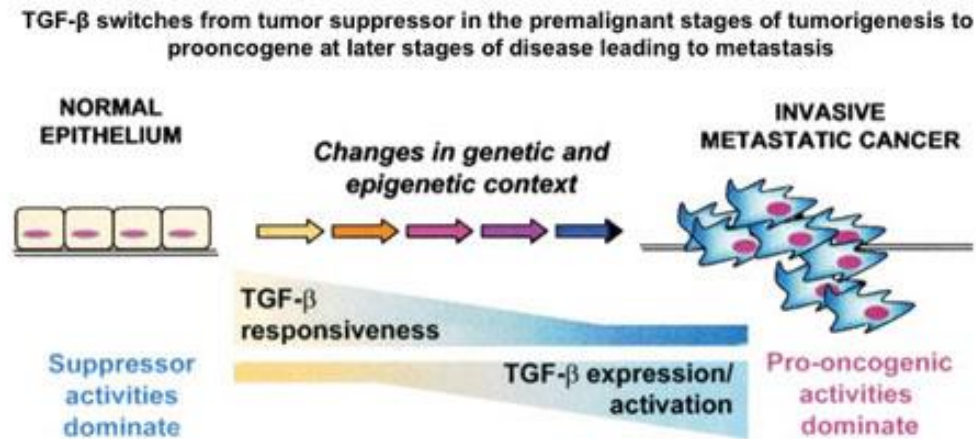
hypotéza „dvou zásahů“ vysvětluje dědičnost retinoblastomu, vzácného typu dětských nádorů (1971, Knudsen)

Rb protein – pravý tumor supresor

- Rb je hlavní inhibitor buněčného cyklu a kontroluje přechod z G1- do S-fáze.
- Rb inhibuje transkripční faktor E2F, který po uvolnění z Rb zvyšuje expresi genů S-fáze (např. enzymy DNA replikace)
- Rb je v buňce přítomný neustále, jeho aktivita je řízena fosforylací
 - fosforylovaný Rb = neaktivní
 - defosforylovaný Rb = aktivní
- Rb mutace se účastní také rozvoje nádorů u dospělých (karcinomy močového měchýře, prsu, plic).
- Důležitost genu pro nádorový supresor Rb tedy sahá dále než pouze ke vzniku retinoblastomu.



Budeš mým nádorovým supresorem navždy?



- Nádorová suprese je závislá na kontextu.
- TGF- β (transforming growth factor- β) má antiproliferativní efekt a udržuje genomovou stabilitu. Během vývoje nádoru se mění reakce nádorových buněk na TGF- β .
- V pozdních stádiích nádorů TGF- β podporuje buněčnou migraci, invazivitu a stává se faktorem podporujícím přežití buněk.

Další “ STOP“ signály

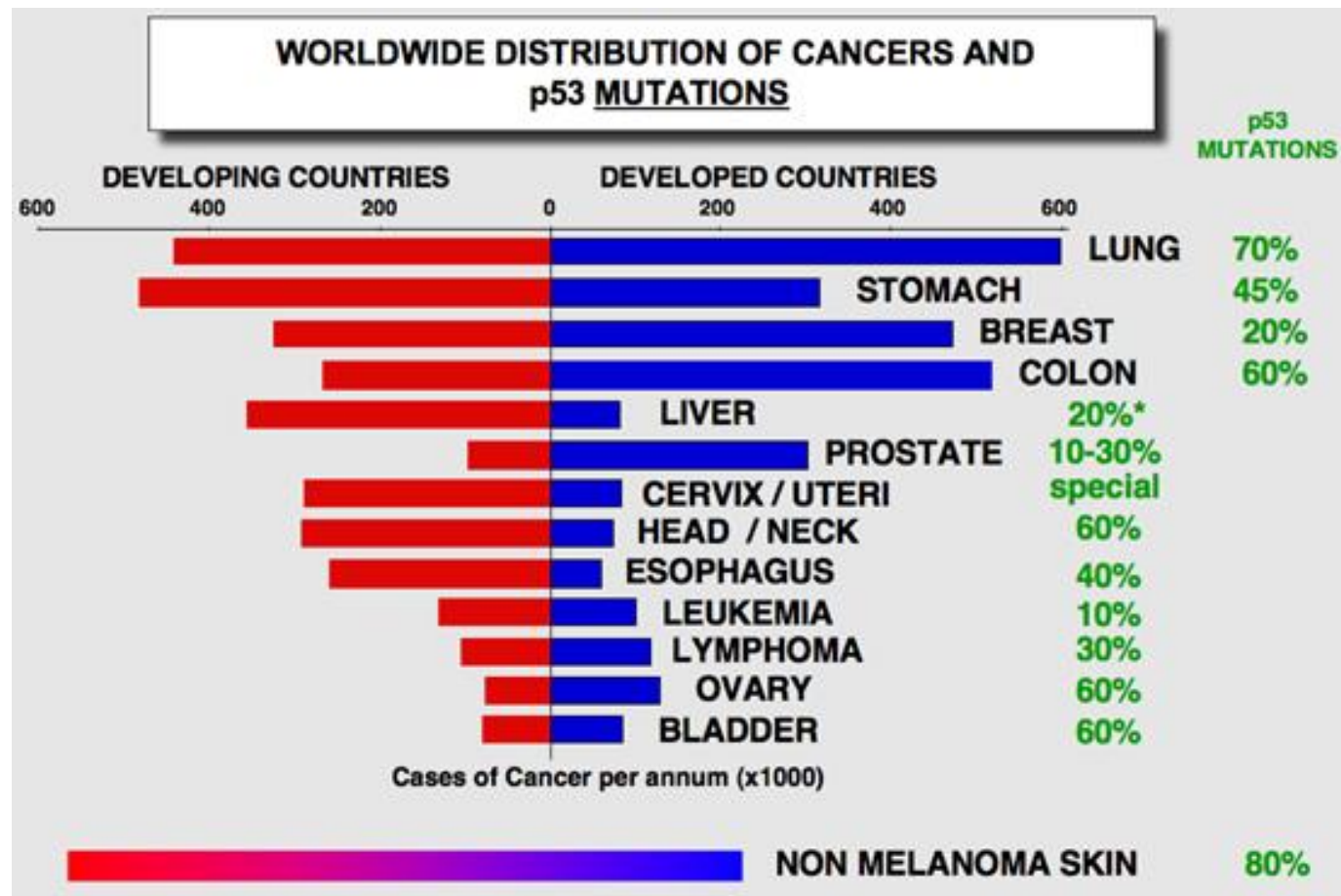
p53 protein (ch. 17p13)

- „strážce genomu“ – aktivní v G1 a G2 kontrolních bodech buněčného cyklu
- poškození DNA zvyšuje expresi p53
- funguje jako transkripční faktor genů spojených s opravami DNA a s apoptózou

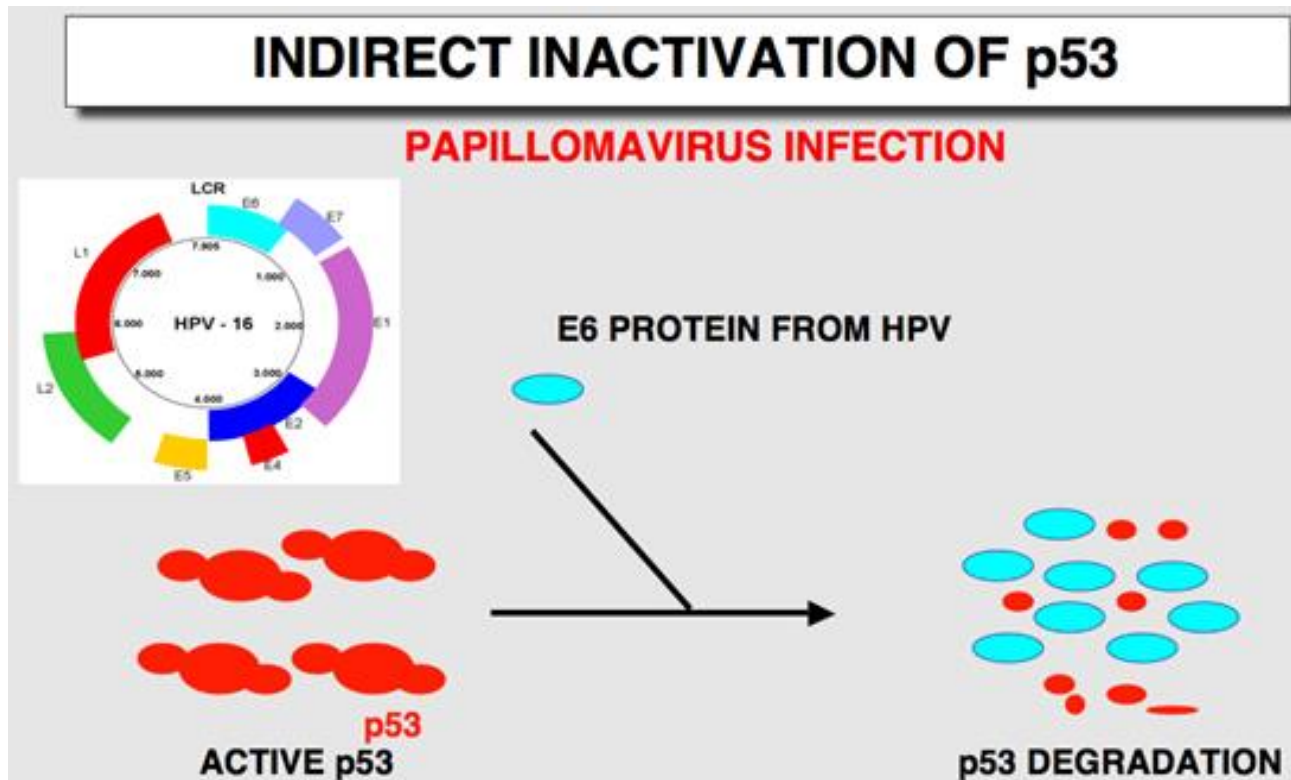
inhibitory cyklin-dependentních kináz (např. p21, p27, p16, ...)

- p21 je hlavním cílem p53 = inhibitor Cdk – zastavení buněčného cyklu ve fázi G1 inhibicí komplexu Cdk2/cyklin E

Procenta nádorů nesoucí mutaci p53



HPV a p53



- Virový protein E6 exprimovaný HPV se specificky váže k proteinu p53 a vyvolává jeho degradaci. Toto pozorování vysvětluje vzácnost p53 mutací v nádorech děložního čípku.

Buněčná smrt

- **Apoptóza**

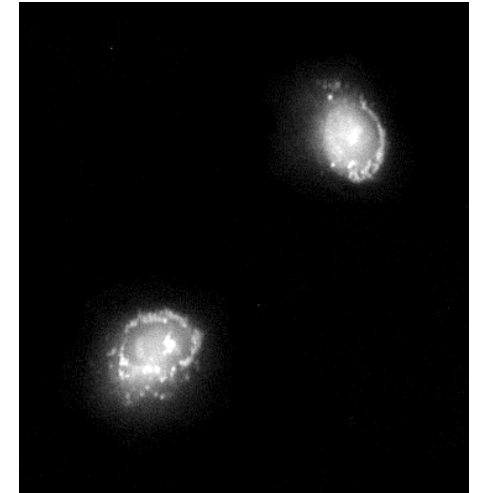
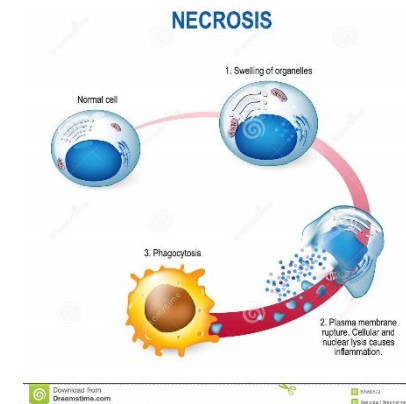
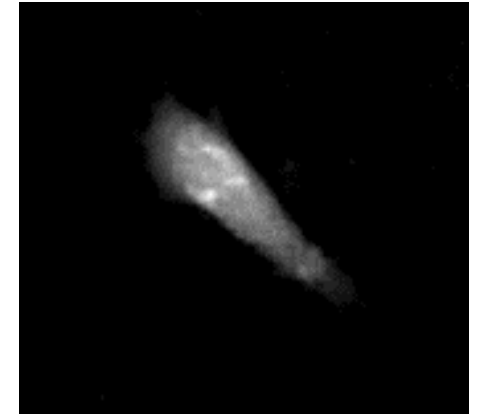
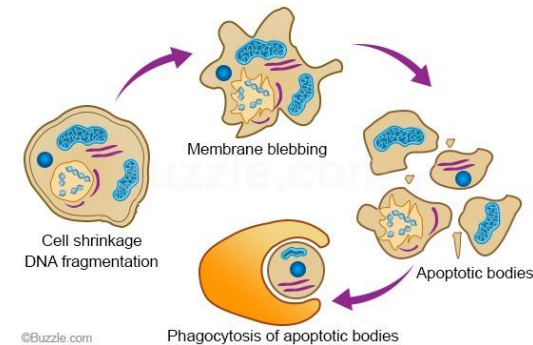
- Aktivní (= spotřeba energie) programovaná buněčná smrt. Aktivita kaspáz a dalších apoptotických enzymů (proteáz a nukleáz) vede k fragmentaci buňky do apoptotických tělísek, která jsou následně odstraněna makrofágy.

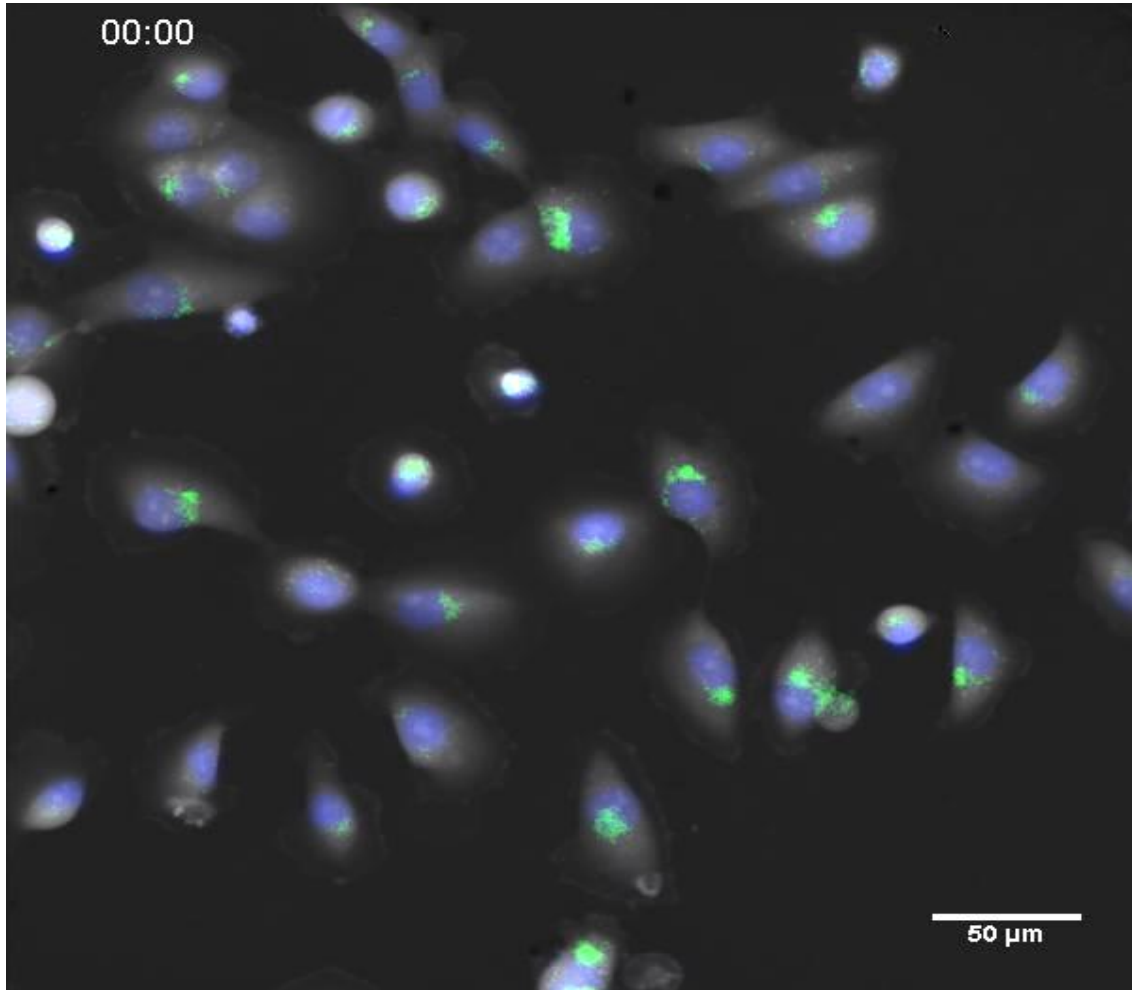
- **Nekróza**

- Náhodná buněčná smrt způsobená převážně vnějšími faktory (infekce, toxiny apod.). Buněčný obsah je vypuštěn do prostředí a poškozuje okolní tkáň. Nekróza podporuje vznik zánětu a nádorů.

- **Regulovaná nekróza**

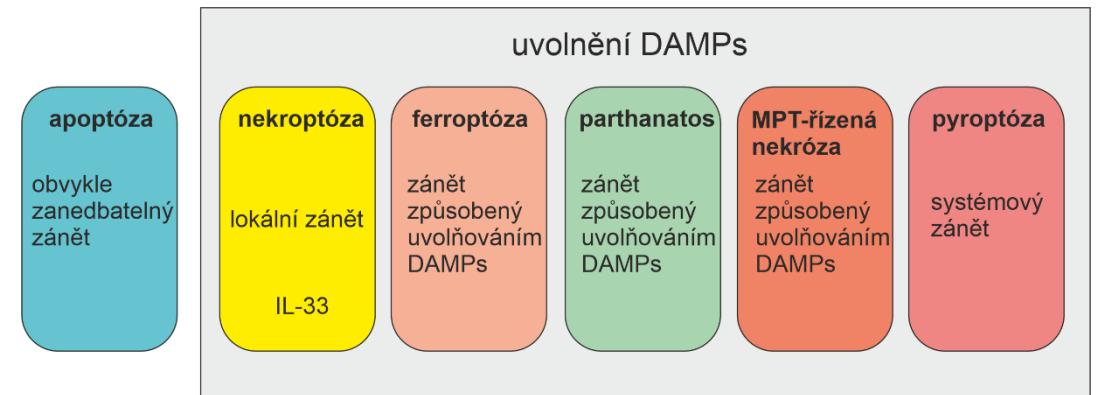
1. **Nekroptóza** (řízena kinázami RIP1 a RIP3).
2. **Ferroptóza** (závislá na železe a akumulaci peroxidovaných lipidů).
3. **Parthanatos** (závislá na aktivitě poly (ADP-ribóza)-polymerázy (PARP)).
4. **MPT-řízená nekróza** (indukce propustnosti mitochondriální membrány může vést k bobtnání mitochondrií a buněčné smrti; membrane permeability transition=MPT)
5. **Pyroptóza** (zánětlivá buněčná smrt obvykle způsobená mikrobiální infekcí, doprovázená aktivací inflammasomů a zráním prozánětlivých cytokinů interleukinu-1 β a interleukinu-18. Proteiny z rodiny gasderminů jsou vykonavateli pyroptózy).





Imunogenicita různých typů buněčné smrti

- Ztráta integrity plazmatické membrány, která nastává při regulované nekróze vede k uvolnění molekulárních vzorů spojených s poškozením (DAMPs) do extracelulárního prostoru.
- Během nekroptózy se mohou uvolňovat cytokiny, které mají v určitém kontextu protizánětlivé účinky, příkladem může být IL-33. IL-33 podporuje nábor regulačních T-lymfocytů do střevní sliznice, čímž může omezit imunogenní odpověď při nekroptóze.
- Během ferroptózy nebo MPT-řízené nekrózy nebyla popsána žádná aktivní produkce protizánětlivých cytokinů nebo imunomodulačních faktorů.
- **Nejvíce imunogenní formou regulované nekrózy je pyroptóza**, která zahrnuje aktivní produkci prozánětlivých cytokinů (IL-1 β , IL-18), což vede k systémové zánětlivé odpovědi.



Odolnost k apoptóze

U nádorových buněk se vyvinula řada strategií pro omezení apoptózy.

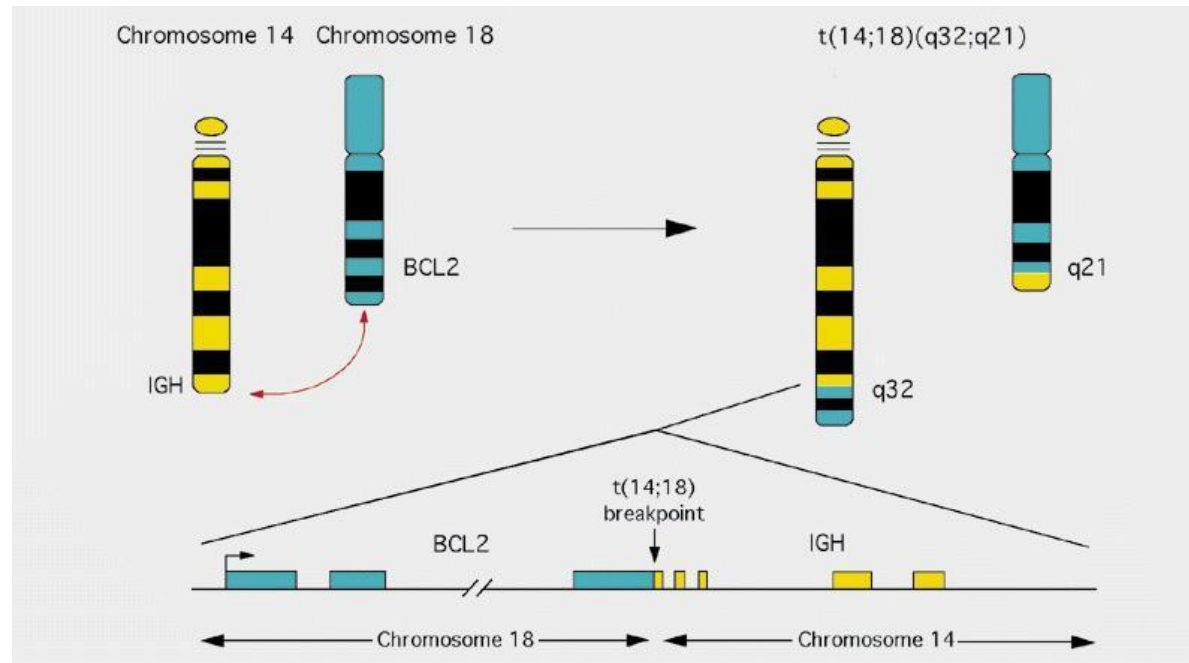
Nejznámější jsou:

- ztráta p53
- zvýšená exprese antiapoptotických regulátorů (Bcl-2, Bcl-xL) a signálů podporujících přežití (insulin-like growth factors; Igf1/2)
- downregulace proapoptotických faktorů (Bax, Bim, Puma)

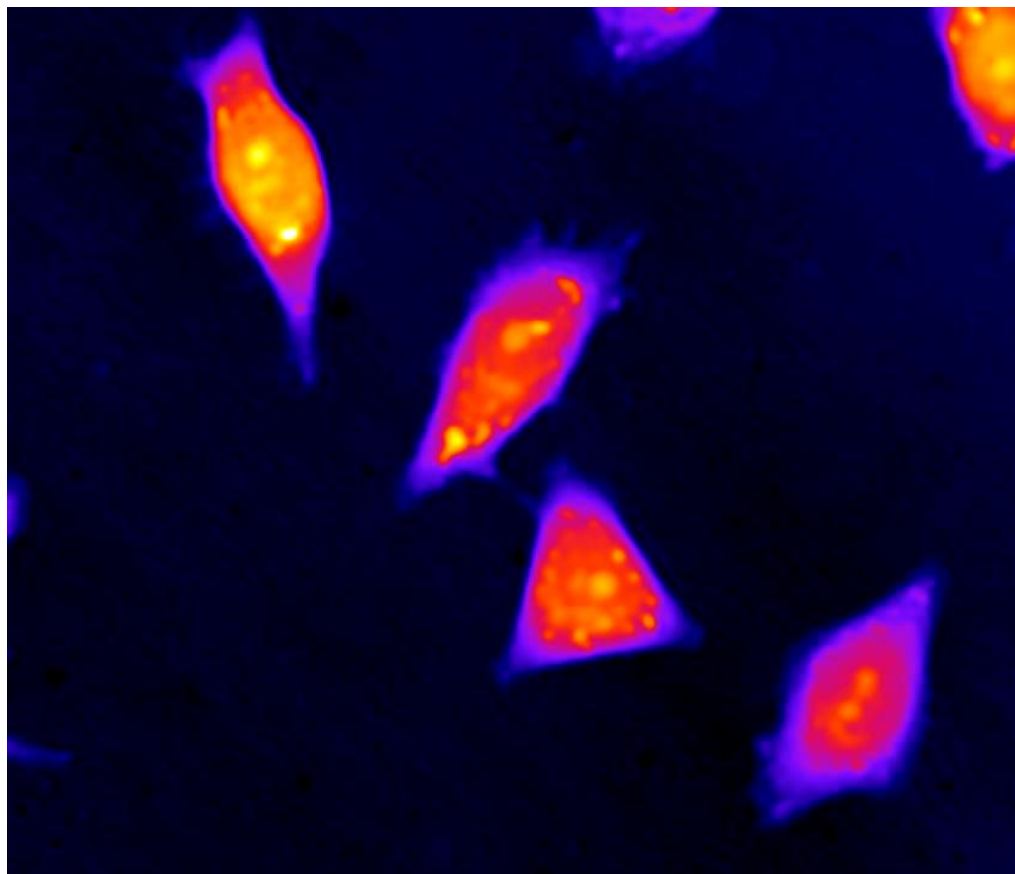
Odolnost k apoptóze

- Chromozomální translokace spojené s B-buněčným lymfomem.

Gen Bcl-2 je translokován za silný imunoglobulinový promotor. Zvýšená exprese Bcl-2 je spojena s inhibicí apoptózy.



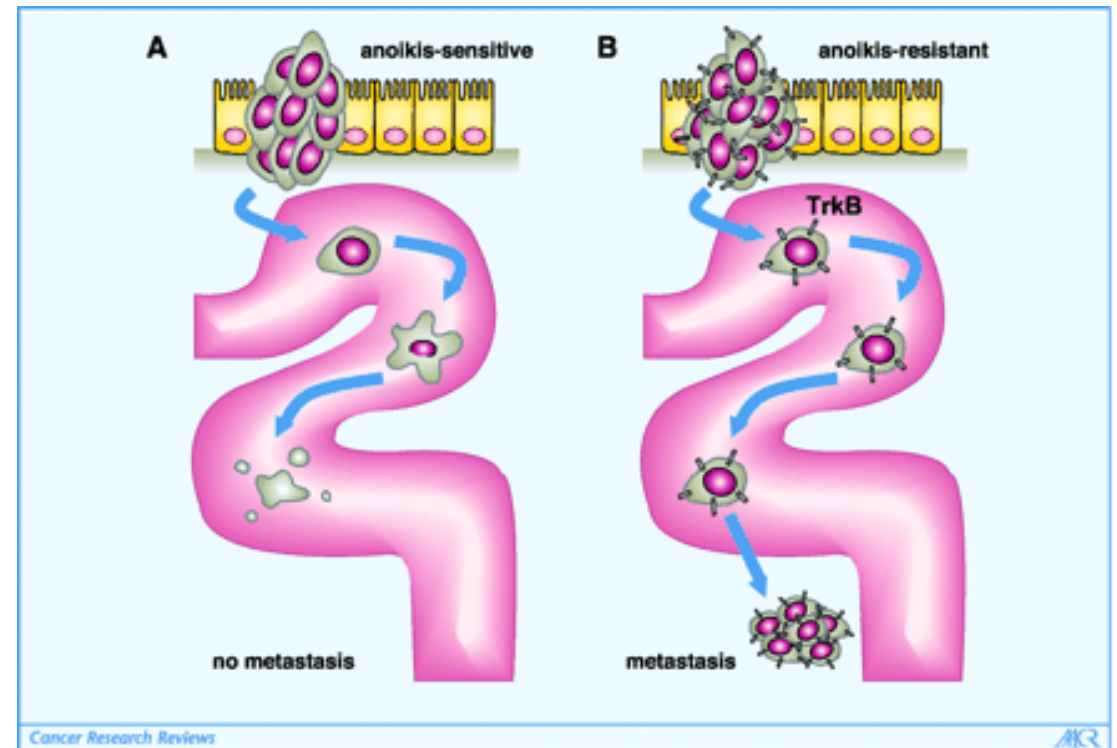
Odolání buněčné smrti pomocí buněčné fúze



- Oportunistické chování nádorových buněk

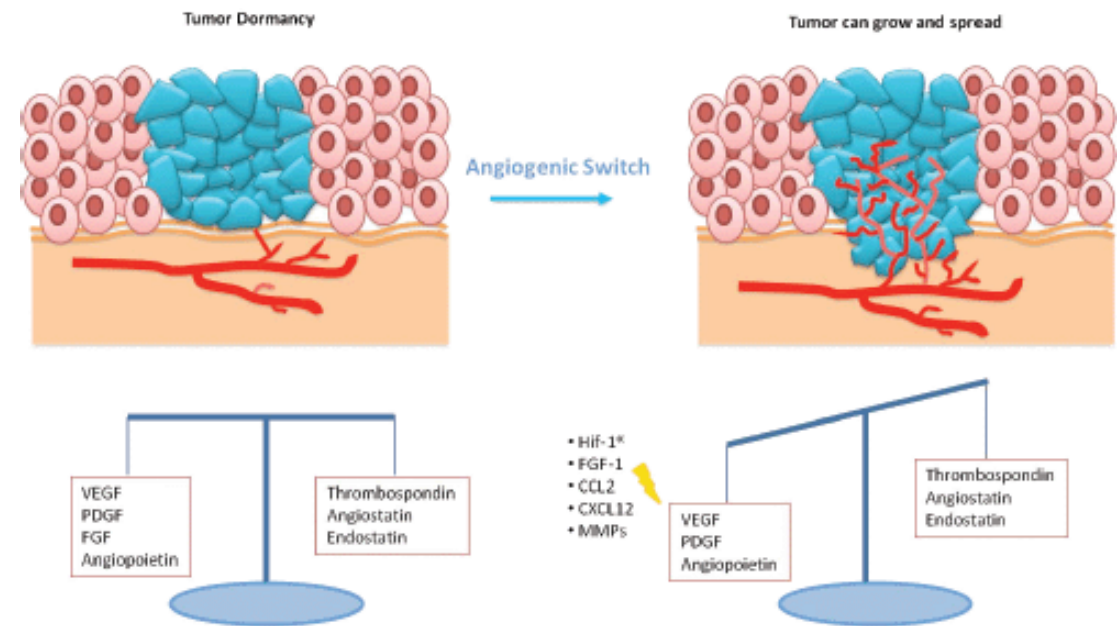
Resistance k anoikis

- **Anoikis** je formou programované buněčné smrti nastávající při ztrátě kontaktu s okolní extracelulární matrix.
- Bariéra proti vzniku metastáz.
- Cirkulující nádorové buňky jsou k anoikis rezistentní.
- Overexprese TrkB (neurotrofický receptor) chrání diseminované cirkulující nádorové buňky před anoikis.



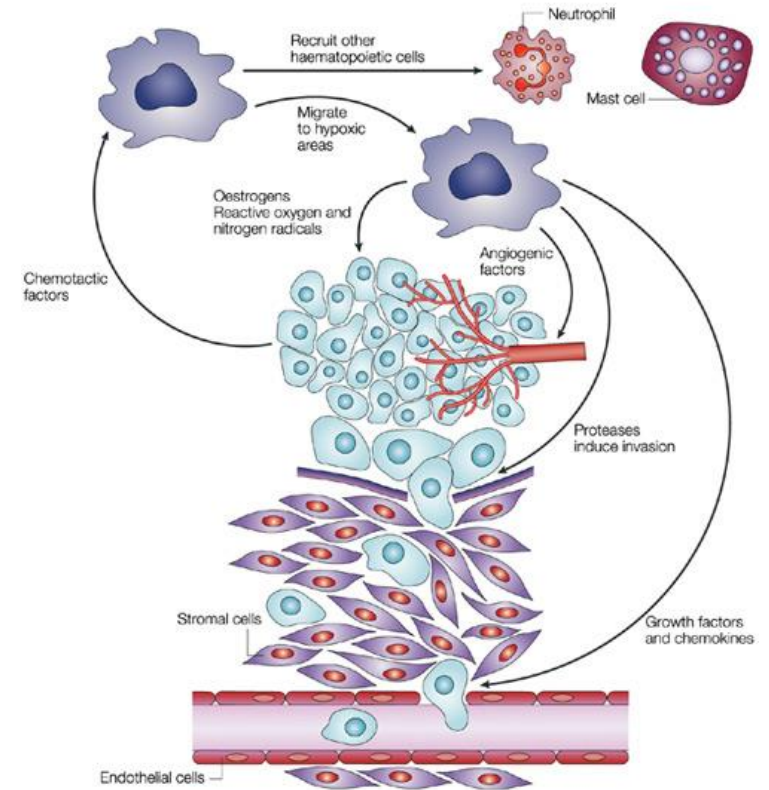
Indukce angiogeneze

- Stejně jako zdravá tkáň, nádory potřebují živiny a kyslík.
- Nádor bez krevního oběhu roste do velikosti 1–2 mm³. Při absenci vaskulární podpory mohou tumory nekrotizovat.
- Zvýšení aktivity angiogenních faktorů není dostatečné pro vyvolání angiogeneze v neoplastické tkáni. Je třeba i oslabení negativních regulátorů růstu cév.
- Nové cévy umožňují invazi nádorových buněk do cirkulace a tvorbu vzdálených metastáz.



Indukce angiogeneze

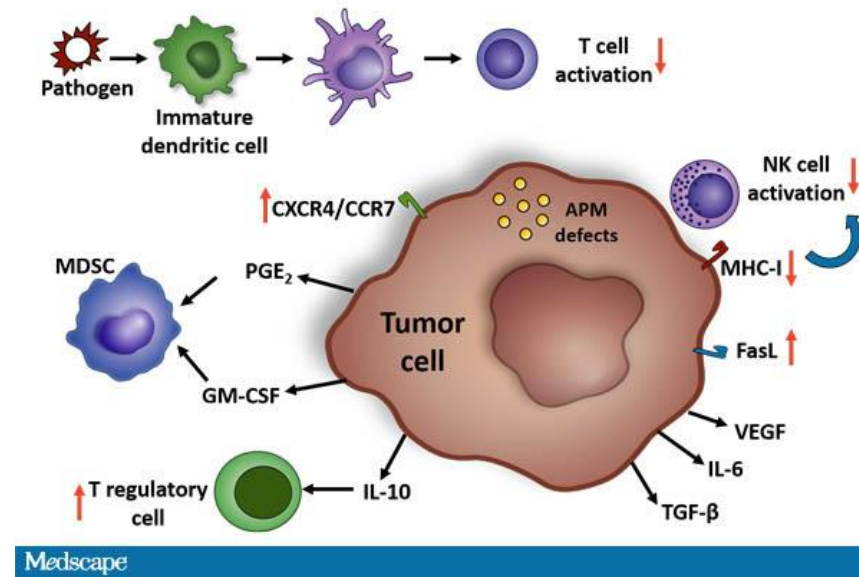
- Buňky vrozené imunity (makrofágy, neutrofily, žírné buňky, myeloidní progenitory) mohou infiltrovat premaligní léze a přispívat k nádorové angiogenezi.
- VEGF (Vascular endothelial growth factor) produkovaný stromálními fibroblasty hraje důležitou roli v nádorové angiogenezi.



Nature Reviews | Cancer

Únik před destrukcí imunitním systémem

- **Defektivní antigení prezentace** vlivem oslabení mechanismů prezentujících antigeny (\downarrow hlavní histokompatibilní komplex, MHC)
- **Imunosuprese** v nádorovém mikroprostředí zprostředkovaná regulačními CD4+CD25+ FoxP3+ T buňkami (Tregs) nebo jinými typy supresivních buněk.
- **Paralýza cytotoxických T lymfocytů (CTL) a „přirozených zabijců“ (natural killer - NK)** produkcí imunosupresivních cytokinů nádorovými buňkami nebo nenádorovými buňkami v nádorovém mikroprostředí. TGF- β je v tomto případě hlavním mediátorem.
- **Snížená exprese receptorů smrti** brání zničení nádorových buněk vyvolanému ligandy smrti z CTL a NK buněk.

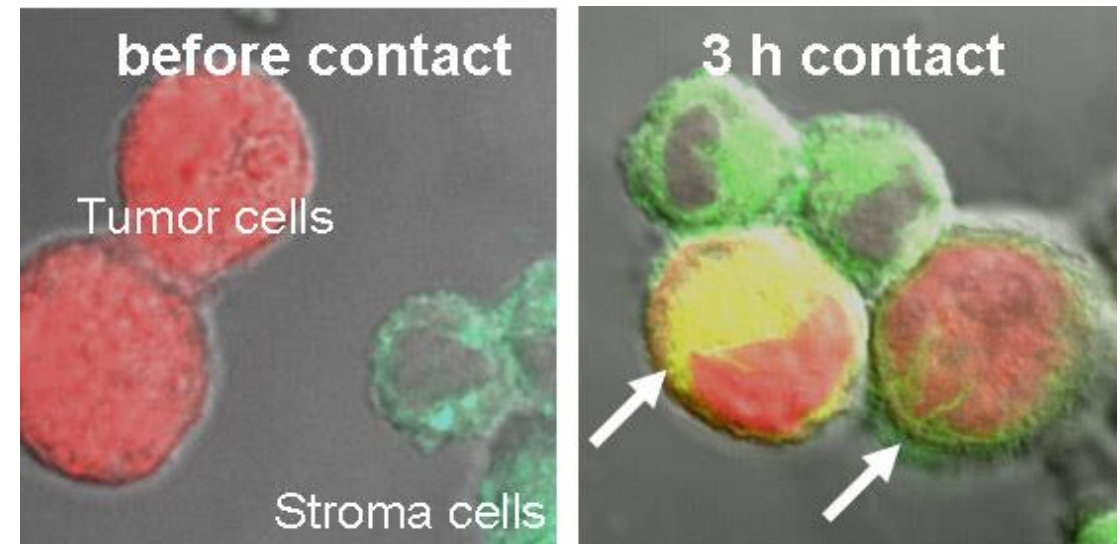


Nádorové neoantigeny: Slibný zdroj imunogenů pro nádorovou imunoterapii

- Somatické mutace v nádorových genech mohou být reflektovány v proteinech. Mutace měnící smysl nebo čtecí rámec (missense, frameshift) mají potenciál vytvořit nádorově specifické antigeny (tumor-specific antigen - TSA), které mohou být hostitelským imunitním systémem teoreticky rozpoznány jako „cizí“.
- TSA, také známé jako „nádorové neoantigeny“, mají potenciál k využití jako biomarkery předpovídající klinickou odpověď a výsledky imunoterapie, nebo přímo jako imunoterapeutické cíle.

Onkologická trogocytóza – způsob, jak se zbavit antigenů

- Meziguněčná výměna větších neporušených částí membrán.
- Výměna membránových molekul/antigenů.
- Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) může být přemístěn z nádorových buněk na monocyty pomocí trogocytózy.

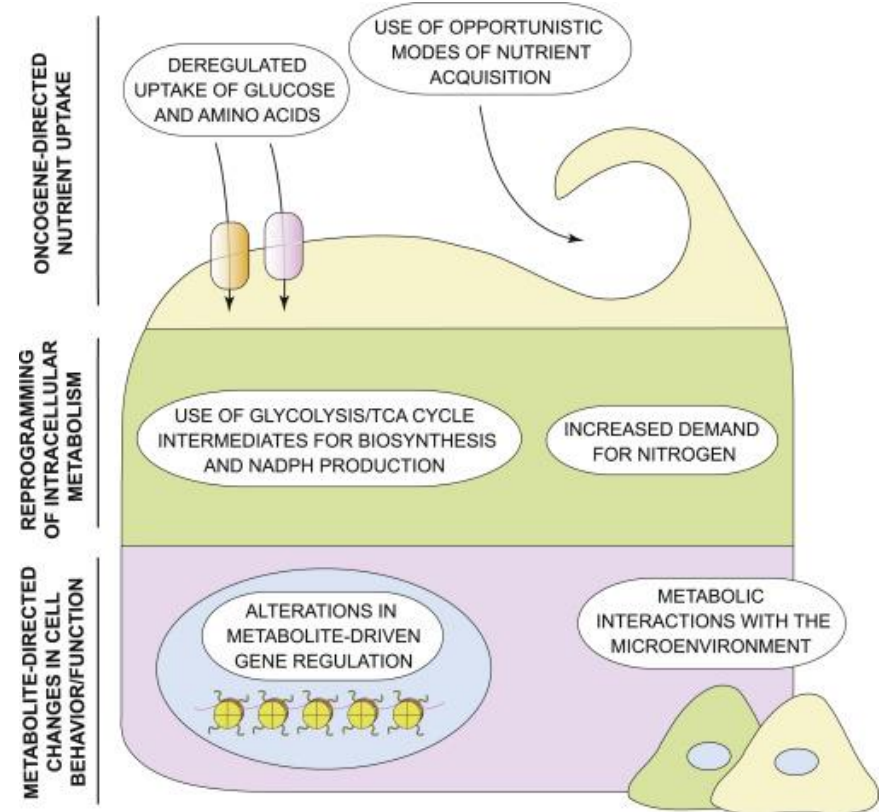


Změny v metabolismu

- Schopnost získat nezbytné živiny z nepřátelského (hypoxie, oxidativní stres) a nutričně chudého (nízká glukóza) prostředí a následně je využít pro udržení viability a pro stavbu nové biomasy.
- Metabolické změny spojené s nádory mají výrazný vliv na genovou expresi, buněčnou diferenciaci a na nádorové mikroprostředí.
- Tyto adaptace zahrnují schopnost získávat živiny z běžně nepřístupných zdrojů.

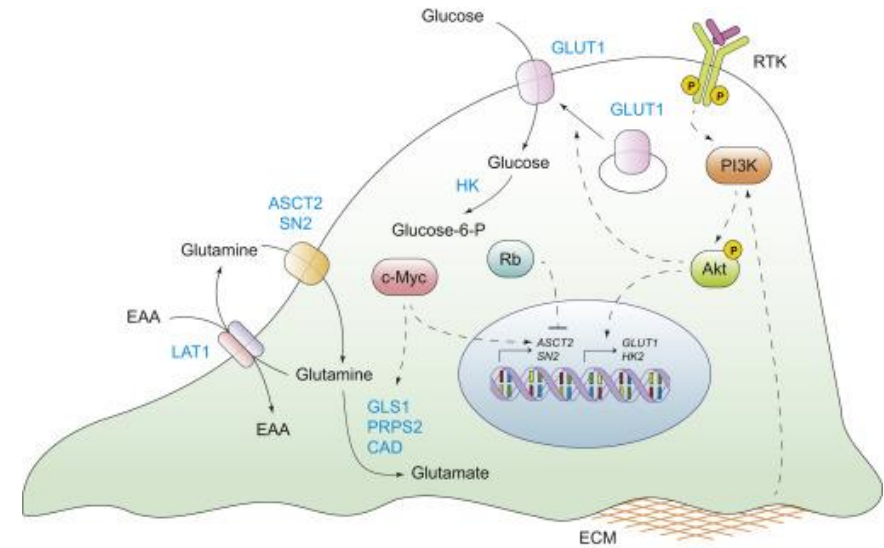
Znaky nádorového metabolismu

- (1) deregulovaný příjem glukózy a aminokyselin
- (2) využití oportunistických modelů získávání živin
- (3) využití intermediátů glykolýzy/Krebsova cyklu pro biosyntézu a produkci NADPH
- (4) zvýšené požadavky na dusík
- (5) změny v genové regulaci spojené s metabolity – metabolity ovlivňují enzymy účastnící se ukládání a odstraňování epigenetických znaků
- (6) metabolické interakce s mikroprostředím



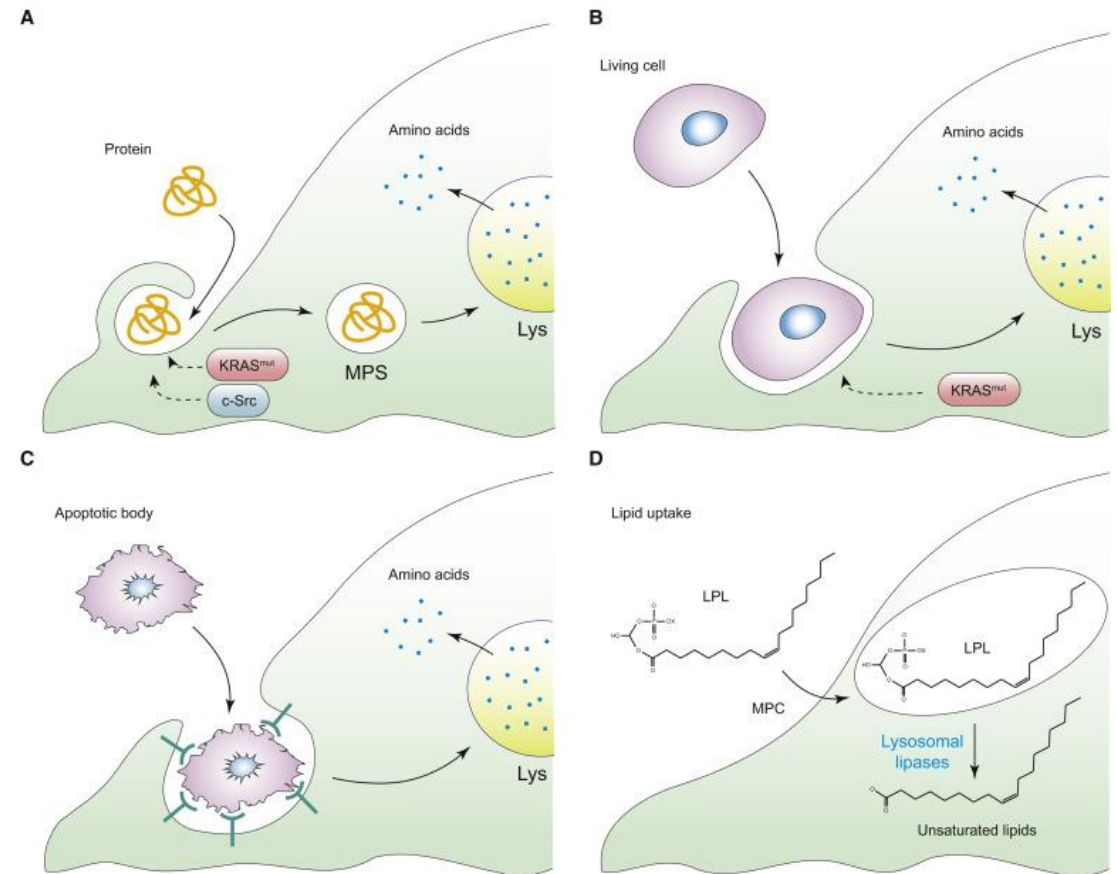
Metabolické změny

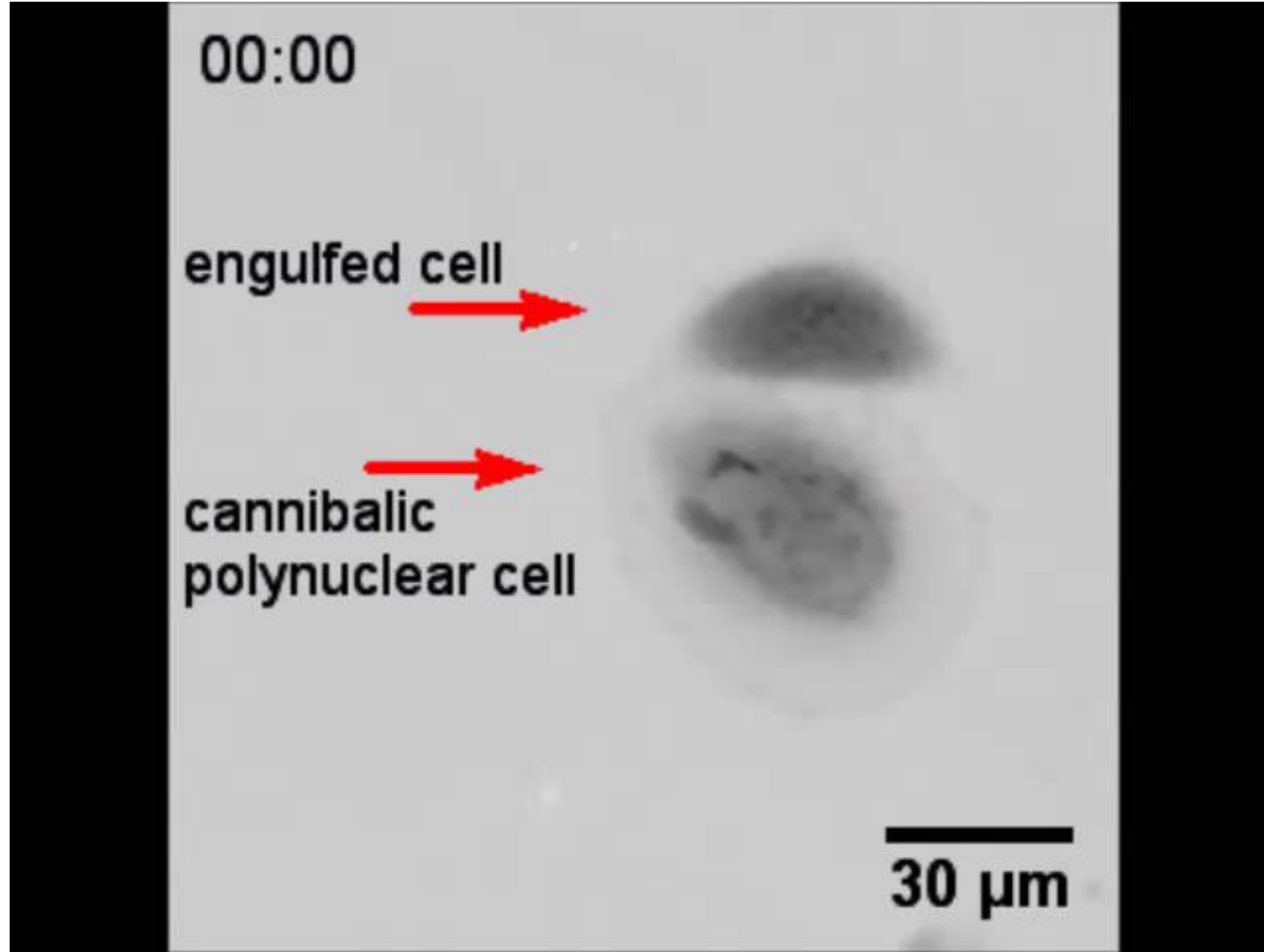
- Dvě hlavní živiny odpovědné za přežití a biosyntézu jsou glukóza a glutamin.
- Glutamin poskytuje dusík nutný pro biosyntézu purinových a pyrimidinových nukleotidů a neesenciálních aminokyselin.
- Warburgův efekt – významně zvýšená spotřeba glukózy některými nádory v porovnání se zdravou neproliferující tkání.
- Pozitronová emisní tomografie (PET) je zobrazovací metoda založená na zvýšeném příjmu radioaktivně značeného analogu glukózy (18F-fluorodeoxyglukózy - 18F-FDG), která je úspěšně využívána v klinické praxi pro diagnózu nádorů.
- Onkogenní signální protein Ras zvyšuje expresi GLUT1 mRNA a zvyšuje spotřebu glukózy.

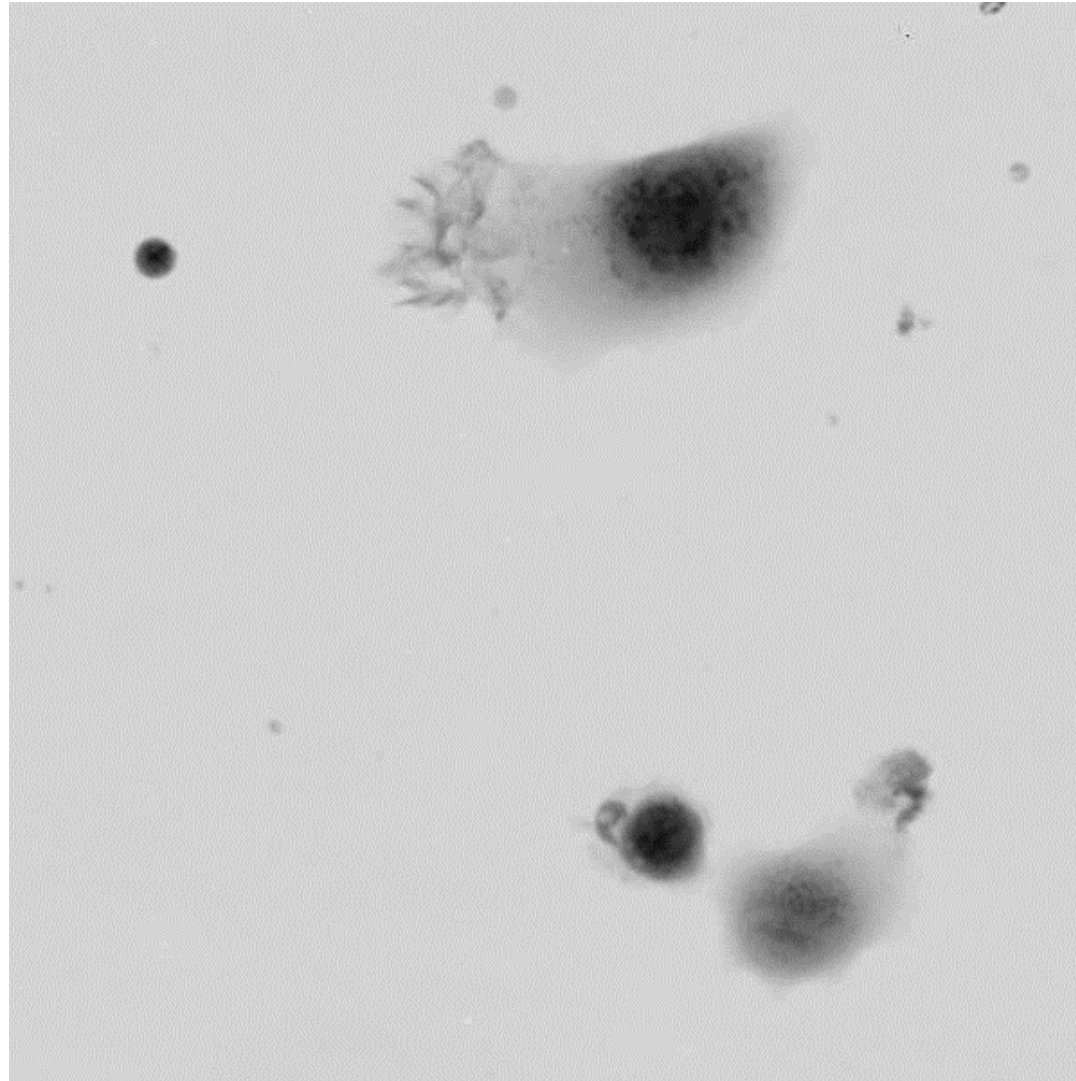


Využití oportunistických modelů získávání živin

- Ras nebo c-Src onkogeny umožňují opětovné využití volných aminokyselin prostřednictvím **lysozomální degradace extracelulárních proteinů**.
- **Makropinocytóza**.
- **Makroautofagie** - autofagie nemůže poskytovat novou biomasu a podporovat tak proliferaci buněk v prostředí chudém na živiny.
- **Fagocytóza** apoptotických tělísek.
- **Kanibalismus**.

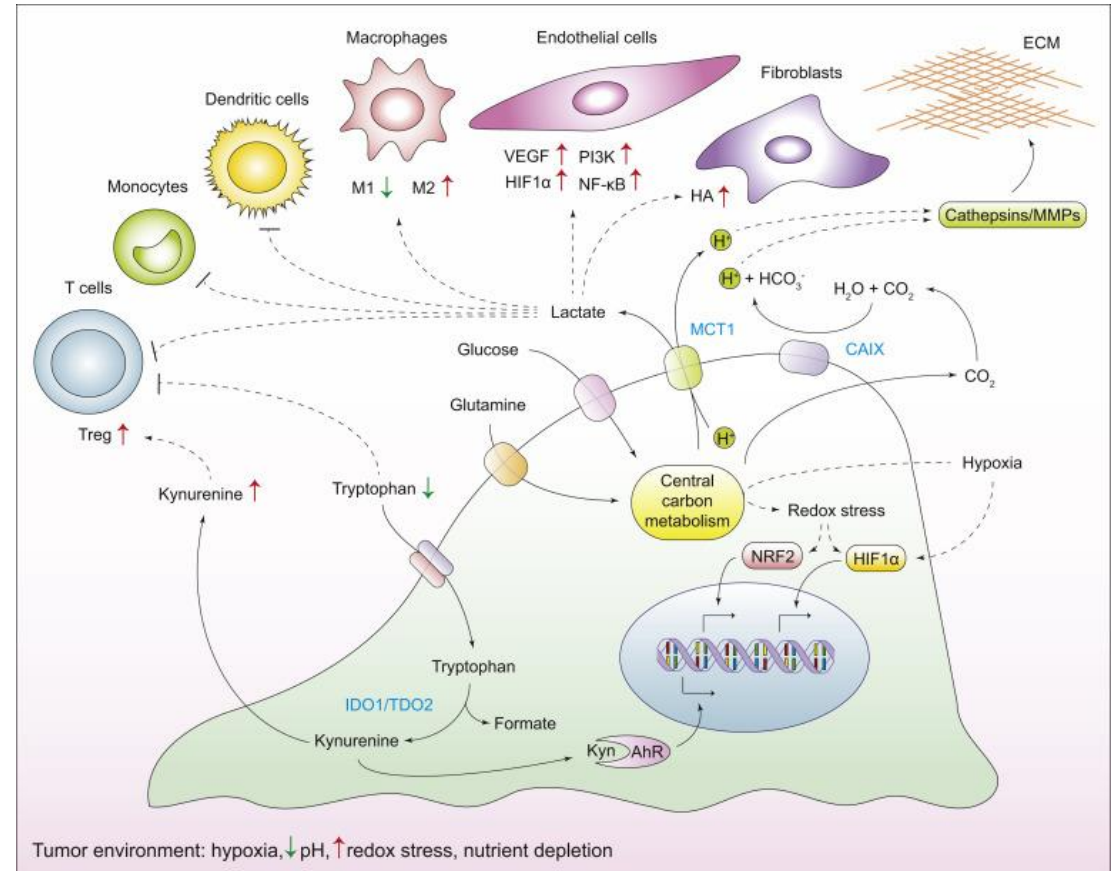






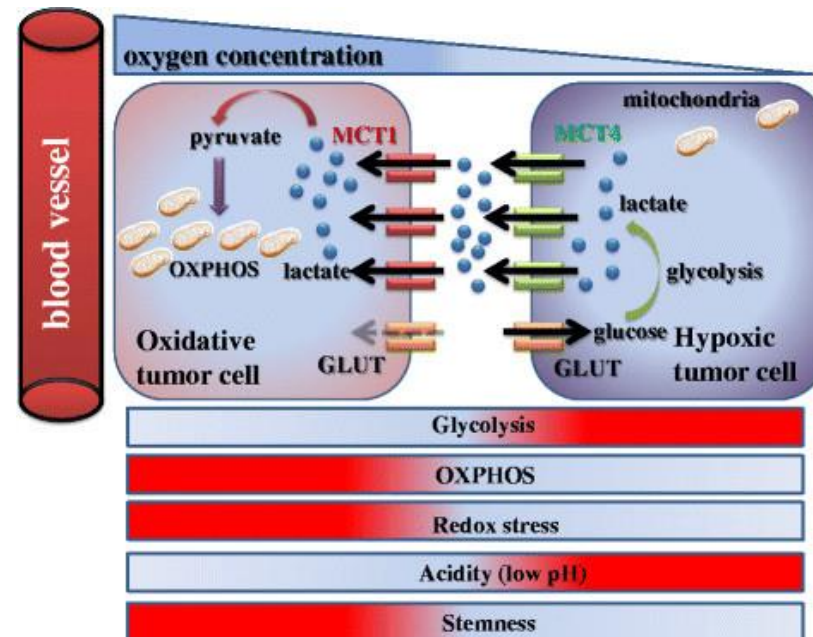
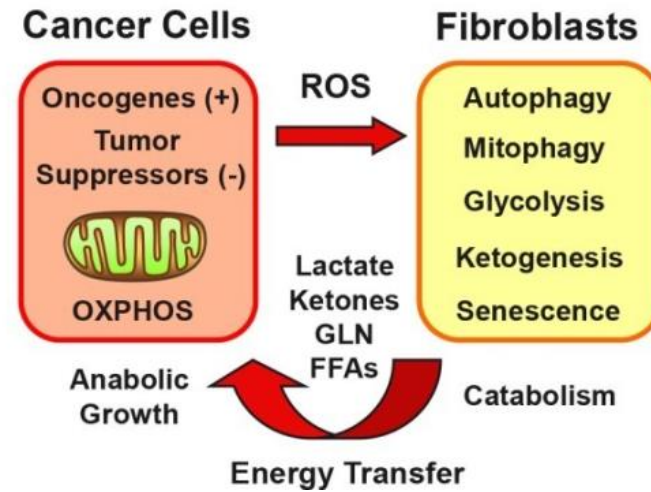
Metabolické interakce s mikroprostředím

- Nádorové buňky mění chemické složení extracelulárního prostředí, což **pleiotropně mění fenotyp zdravých buněk** v okolí nádoru.
- Stejně tak mikroprostředí ovlivňuje metabolismus a signální dráhy nádorových buněk.
- Vysoké metabolické nároky nádorových buněk vedou k akumulaci H^+ iontů v mikroprostředí nádoru – **acidóza**.



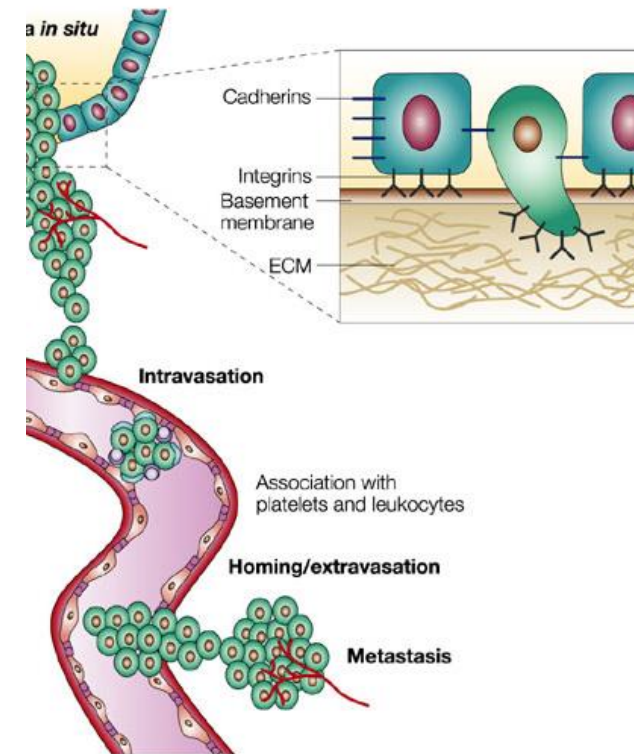
Metabolická symbióza

- Katabolické fibroblasty jsou bohatým zdrojem energie a biomasy pro růst a přežívání anabolických nádorových buněk.
- Lineární posloupnost a klonální model vývoje nádoru jsou příliš zjednodušené pohledy na věc – ve skutečnosti v nádorové tkáni existuje řada geneticky odlišných podtypů buněk: **metabolická heterogenita** - oxidativní a glykolytické nádorové buňky v jednom tumoru.

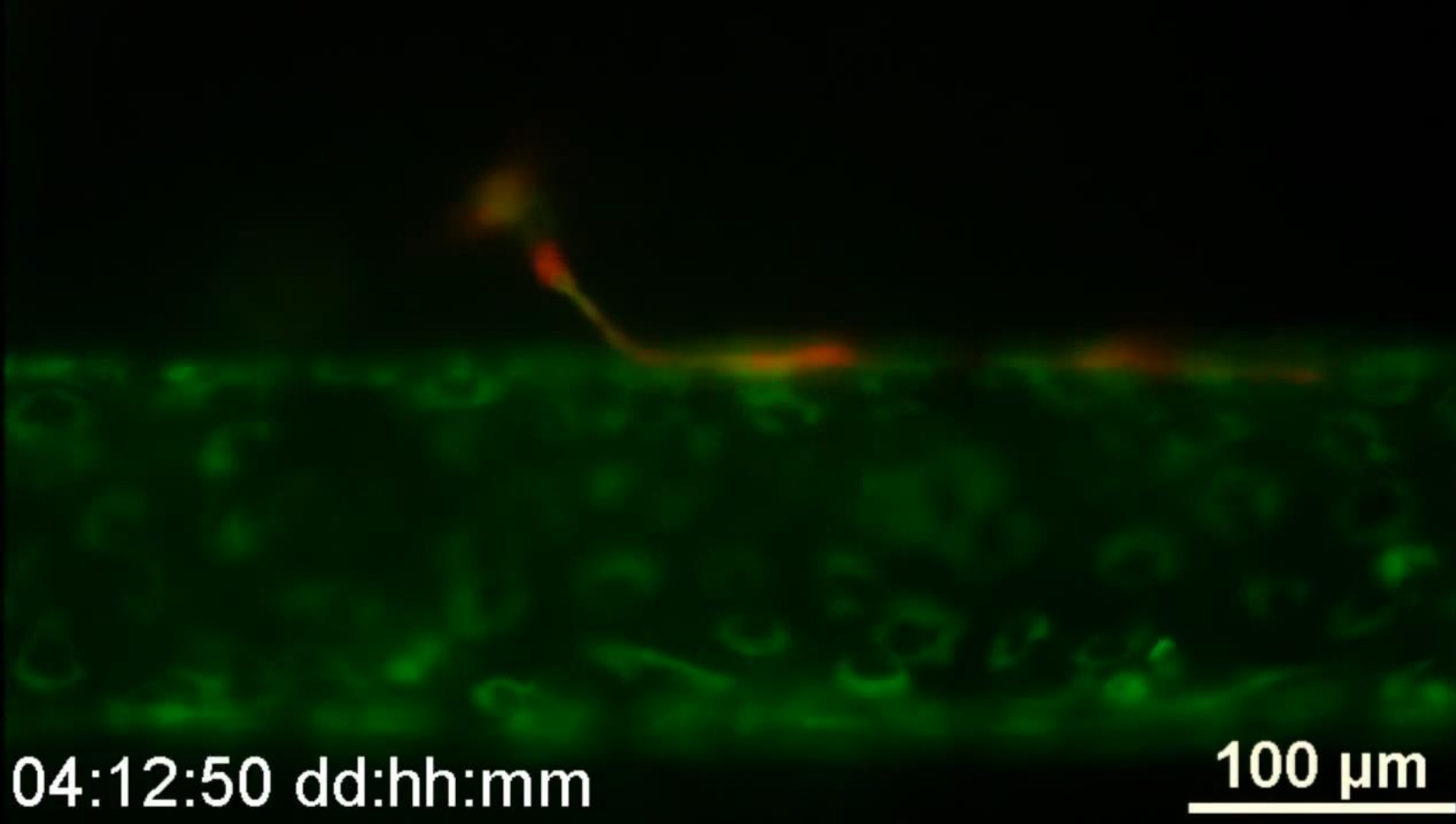


Invaze a metastázování

- Nádorové buňky **ztrácejí mezibuněčnou adhezi závislou na E-cadherinu** a získávají **migrační fenotyp** (rezistence k anoikis, epitelovo-mezenchymová tranzice EMT), penetrují bazální membránu a invadují intersticiální matrix (produkce MMP).
- Nádorová angiogeneze umožňuje nádorovým buňkám vstoupit do krevního oběhu (cirkulující nádorové buňky) procesem **intravazace** a to buď přímo, nebo přes lymfatický systém.
- V krevním oběhu nádorové buňky tvoří malé agregáty s krevními destičkami a leukocyty.
- Po zastavení v mikrocirkulaci cílového orgánu nádorové buňky opouštějí krevní oběh procesem **extravazace** a dochází k jejich lokální expanzi.



Nature Reviews | Molecular Cell

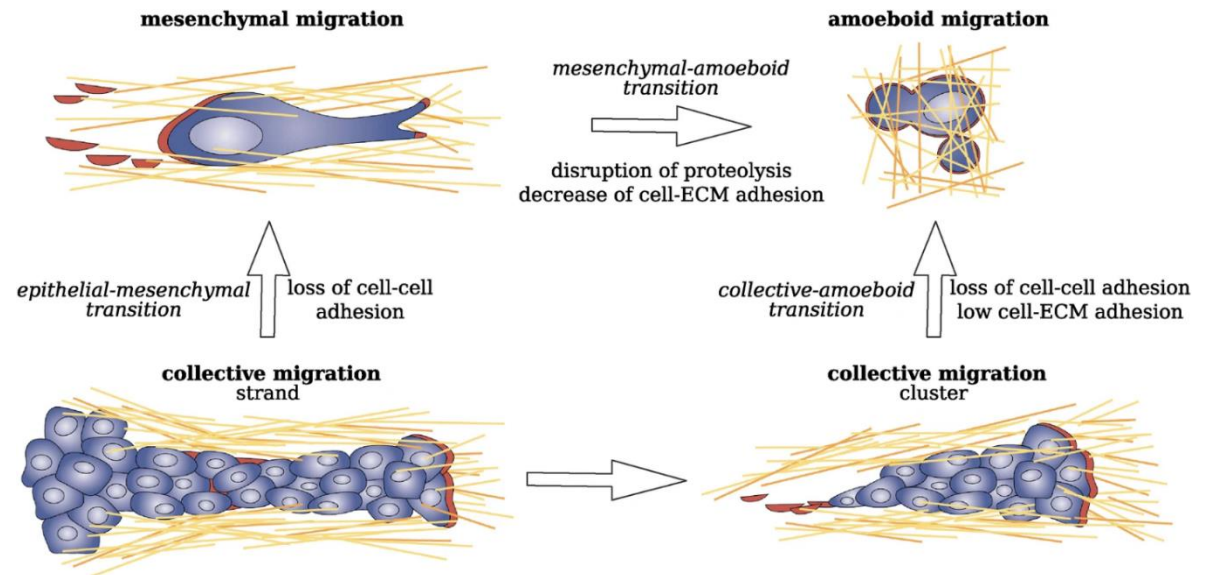


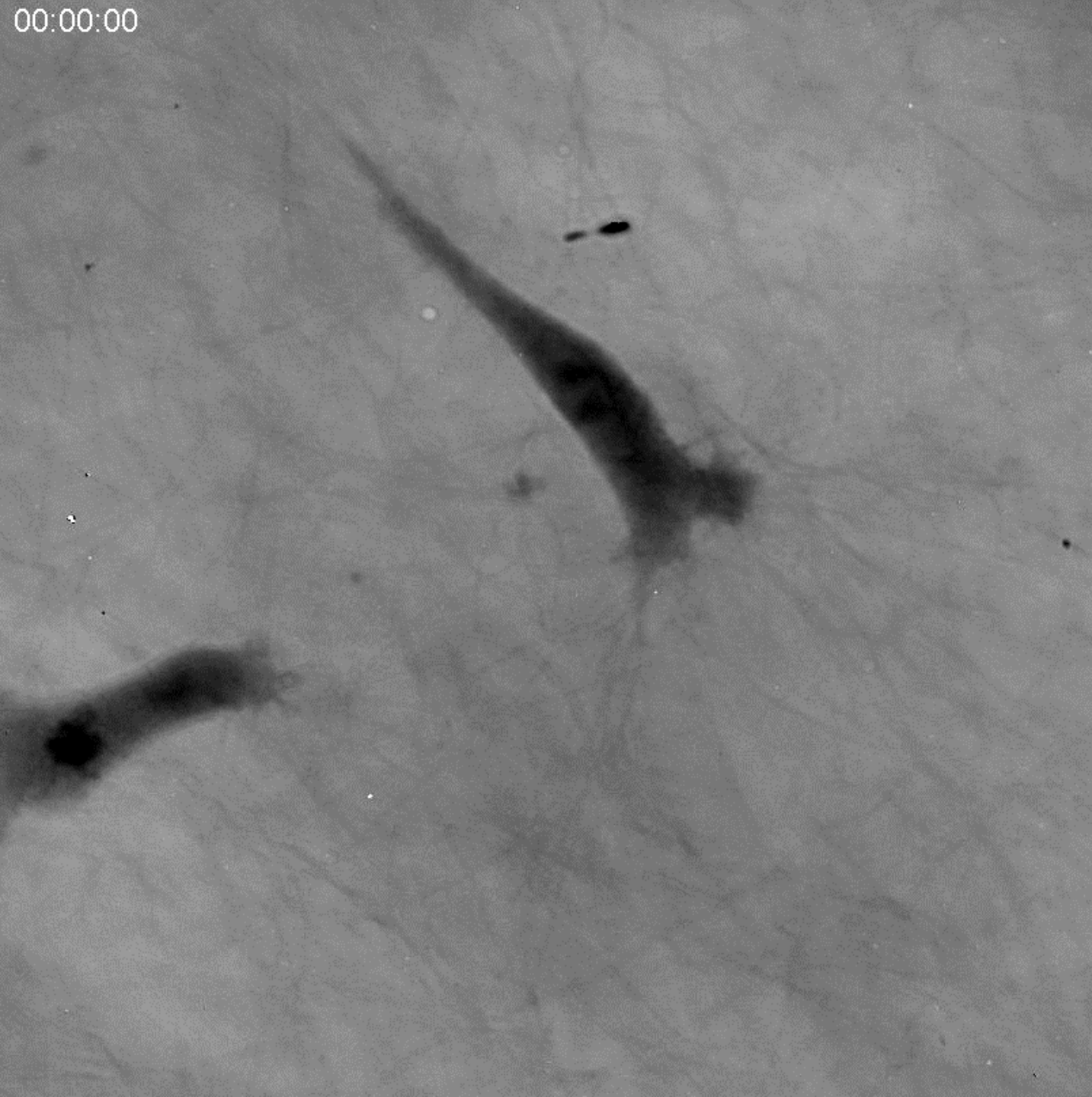
Prsní nádorová buňka invaduje cévu

Andrew D. Wong and Peter C. Searson,
Cancer Research September 1, 2014
74:4937-4945; Published OnlineFirst
June 26, 2014; doi:10.1158/0008-
5472.CAN-14-1042

Migrační fenotyp

- Migraci buněk lze rozdělit na migraci jednotlivých buněk (**mezenchymální, améboidní**) a způsoby **kolectivní migrace** (buněčné řetězce, vrstvy, shluky).
- Tyto způsoby migrace jsou spojeny s energetickým stavem buněk, charakteristickou strukturou cytoskeletu, specifickým využitím integrinů, enzymů rozkládajících matrix a adhezních molekul.
- **Epitelovo-mezenchymová tranzice (EMT).**
- Mezenchymální typ migrace buněk je způsob pohybu, který se vyznačuje protáhlým, vřetenovitým tvarem buněk, vysokou polarizací buněk a v případě příliš těsných prostor v ECM proteolytickou degradací ECM matrixovými metaloproteinázami a serinovými proteázami. Mitochondrie jsou lokalizovány na předním okraji, aby podpořily migraci buněk tím, že poskytují lokální zdroje energie.





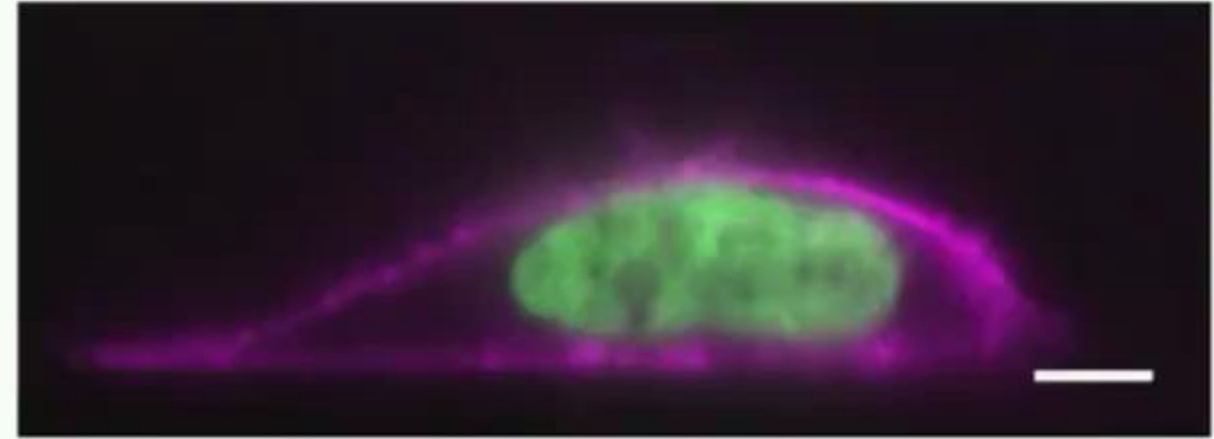
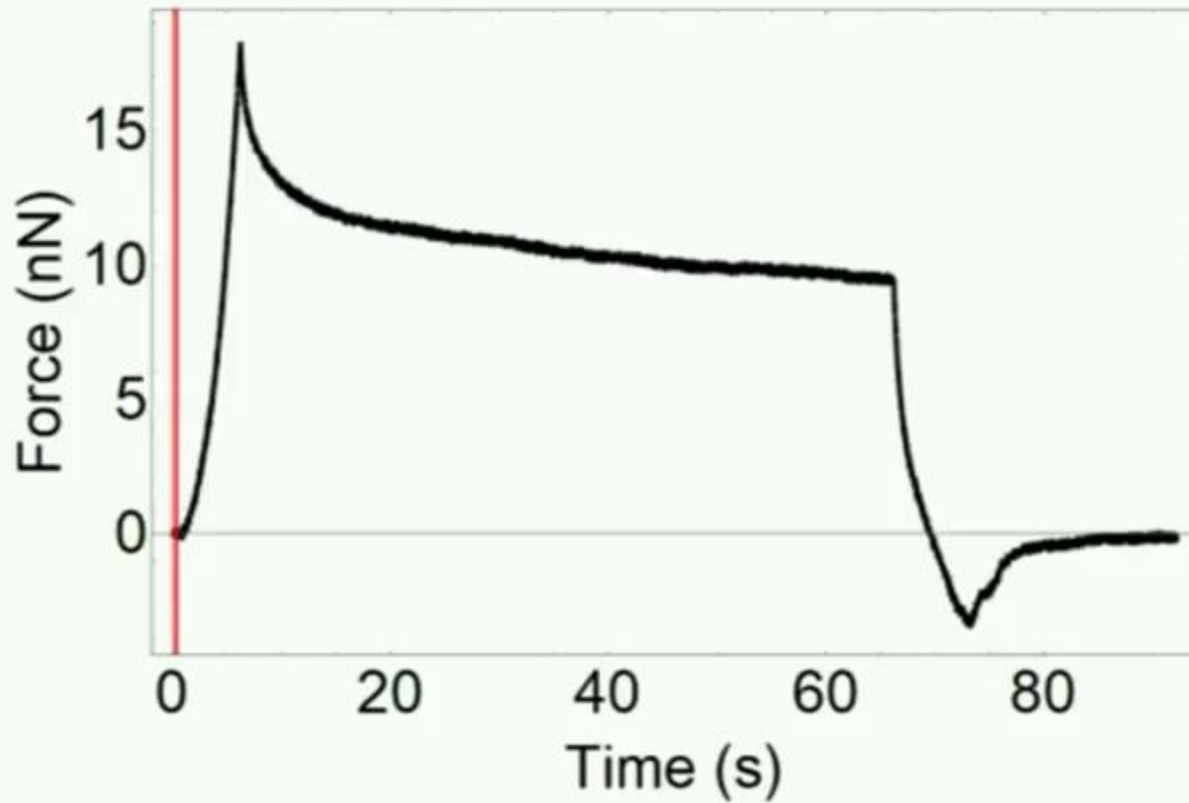
Migrace mezenchymální buňky v kolagenové matrici. Buňky byly vloženy do hovězího kolagenového gelu (1 mg/ml) a pozorovány pomocí koherencí řízeného holografického mikroskopu (CCHM).

Tolde 2018 <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30408-7>

Charakteristiky mezenchymálního pohybu

- vřetenovitá morfologie
- pseudopodia (vznik závisí na polymerizaci aktinu)
- adheze k substrátu

Vytváří koordinované působení MMP a aktomyozinových mechanismů, které "dláždí cestu,,"

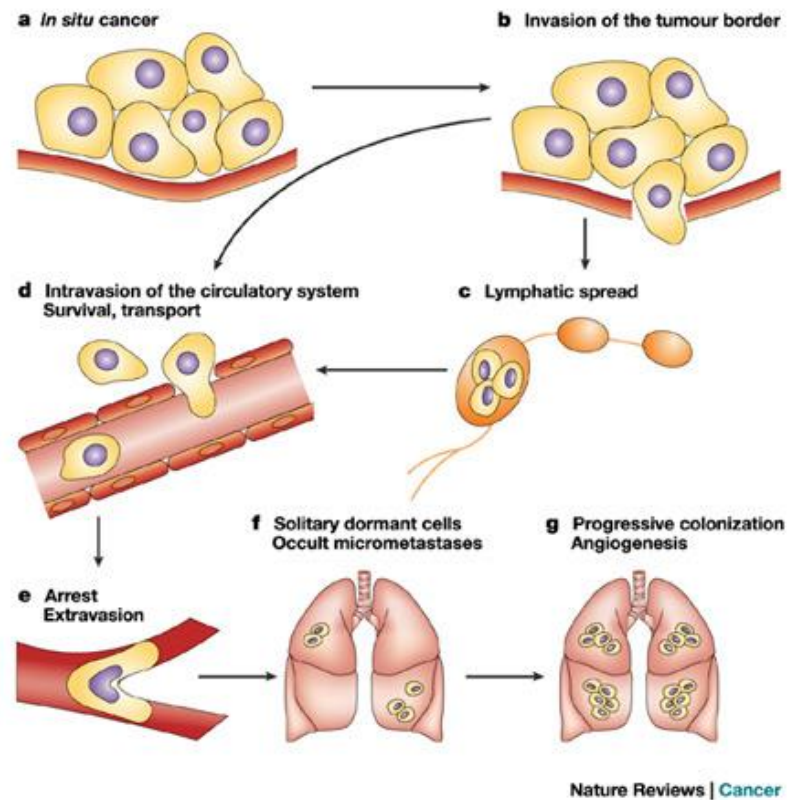


Nucleus stiffness. lamin A/C as limiting factor in migration

We use combined AFM and side-view SPIM to study how forces correlate with nuclear shape change under compression in live cells. https://twitter.com/C_M_Hobson/status/1227278696798539777

Hobson 2020 <https://doi.org/10.1091/mbc.E20-01-0073>

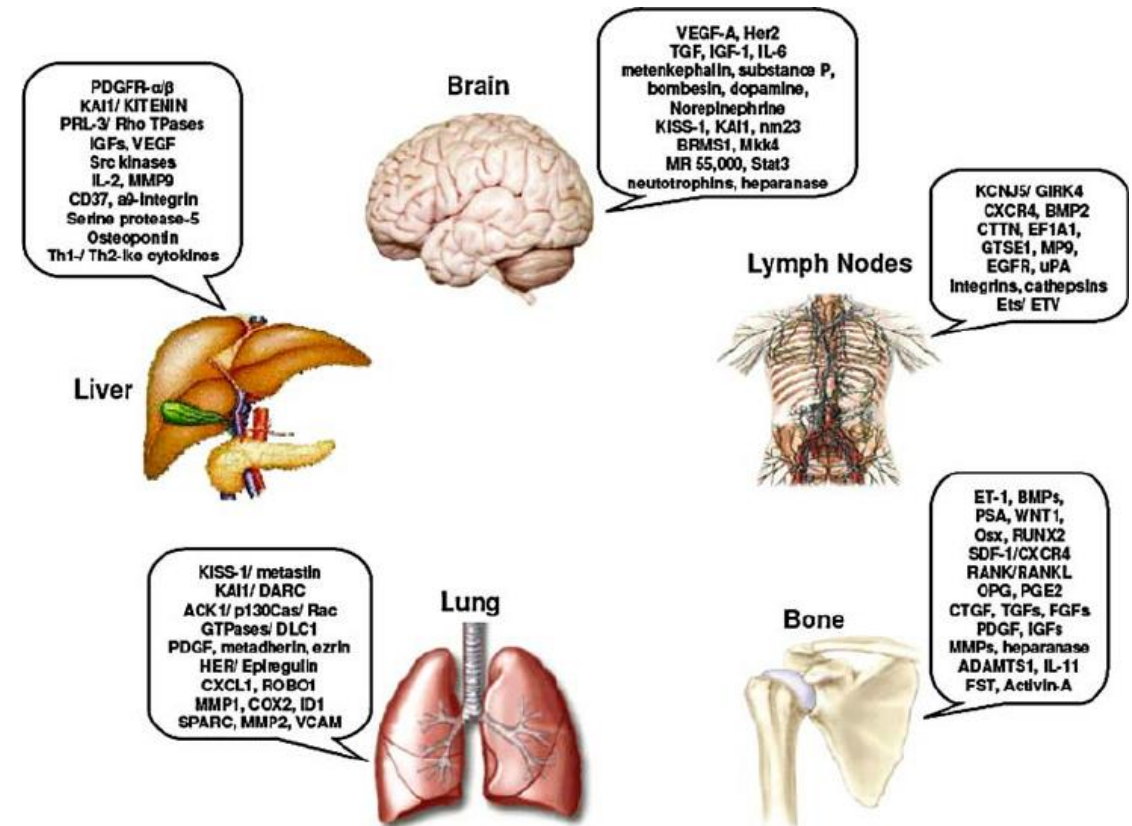
Invaze a metastázování



- Nádory narušující bazální membránu a invadující tkáň pod ní jsou označovány jako **maligní**.
- Pokročilejší fází vývoje onemocnění je metastázování, zakládání nádorových kolonií v dalších částech těla. Metastázy vyžadují nejen **invazivitu**, ale také **motilitu**, a **adaptaci** buněk k prostředí cizí tkáně.
- Několik způsobů šíření:
 1. **krví** (velmi často ve směru proudění: z GIT do jater, žilní krví do plic, z plic arteriální krví do kostí a mozku)
 2. **lymfou** (nejprve přilehlé mízní uzliny, později i vzdálené)

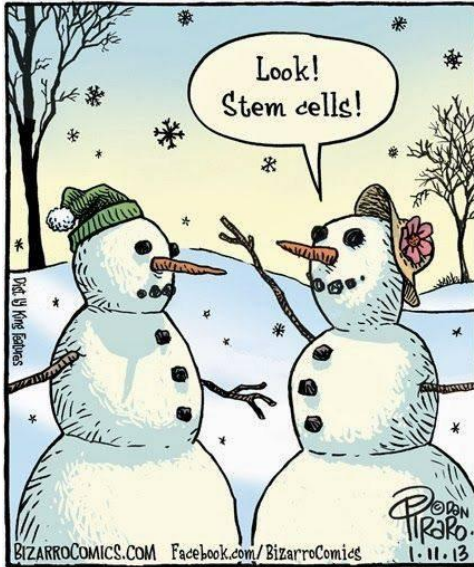
Hypotéza semene a půdy – příznivé mikroprostředí

- Metastatické vlastnosti samotných buněk nestačí pro zakládání metastáz.
- Vznik metastáz je závislý na interakcích mezi „semeny“ (nádorové buňky) a „půdou“ (mikroprostředí hostitele).
- Různé nádory mají různá preferenční místa pro metastázování = **orgánový tropismus** (nádory prostaty → kosti a játra).
- Sekretované faktory a extracelulární vezikuly pocházející z nádorů umožňují „půdě“ ve vzdálených místech podporovat růst nově příchozích nádorových buněk
- **Pre-metastatické niky** (PMNs) jsou místa s deregulovanou imunitou, vzniklá přítomností pro-tumorigenního a pro-zánětlivého prostředí indukovaného faktory sekretovanými nádorem, které podporují imunosupresi a poruchy srážlivosti.

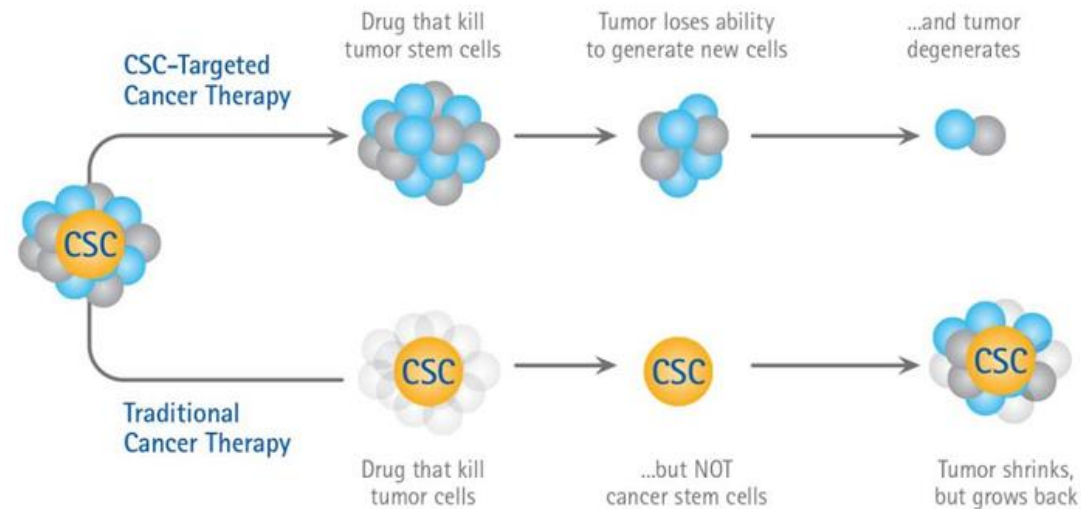


Faktory ovlivňující orgánově-specifické metastázování

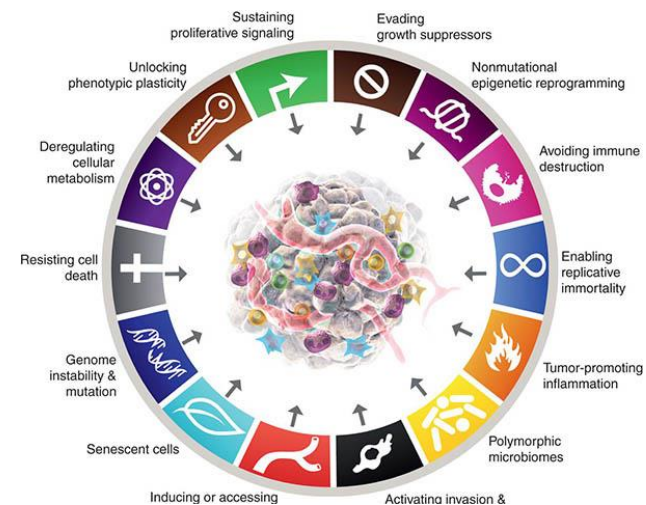
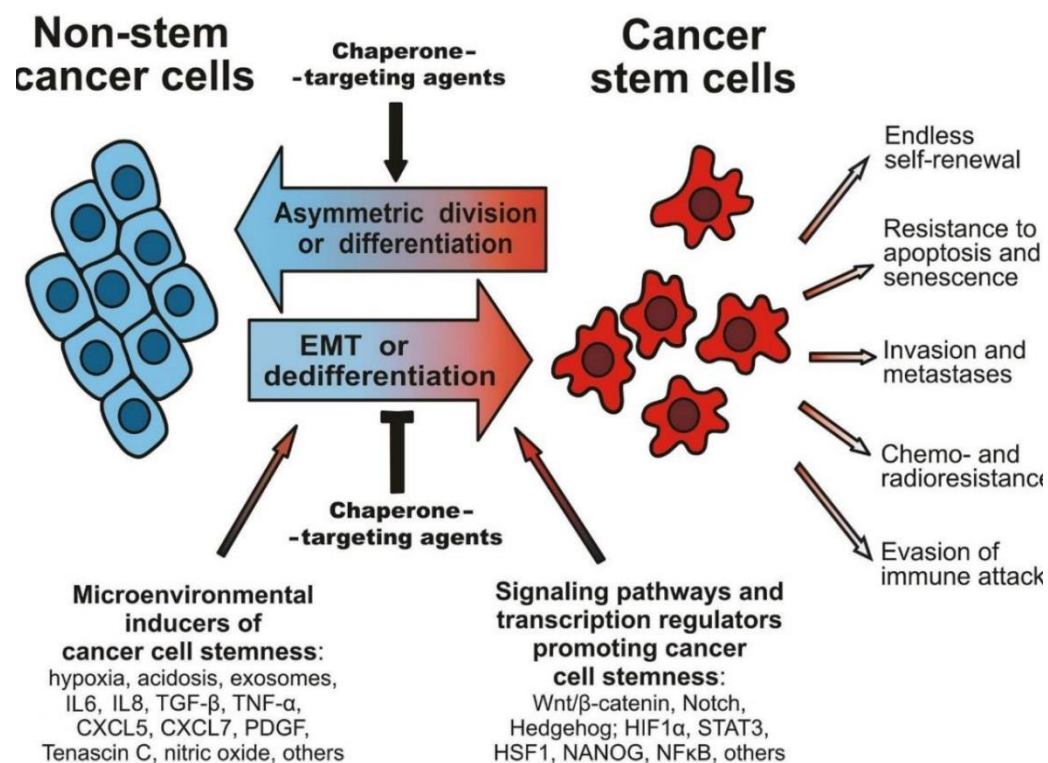
Hypotéza nádorových kmenových buněk (CSC)



- Nádorové kmenové buňky jsou **vzácné** nesmrtelné buňky uvnitř nádoru, které jsou schopné sebeobnovy dělením a zároveň dávají vznik těm typům buněk, ze kterých se nádor skládá.
- CSC jsou zodpovědné za vznik a růst nádorů (**tumorigenní**), asociovány s metastázami a relapsem.
- Zvýšená odolnost k terapii a buněčnému stresu.
- Takové buňky byly nalezeny v různých typech lidských nádorů a mohou být atraktivním cílem pro terapii.

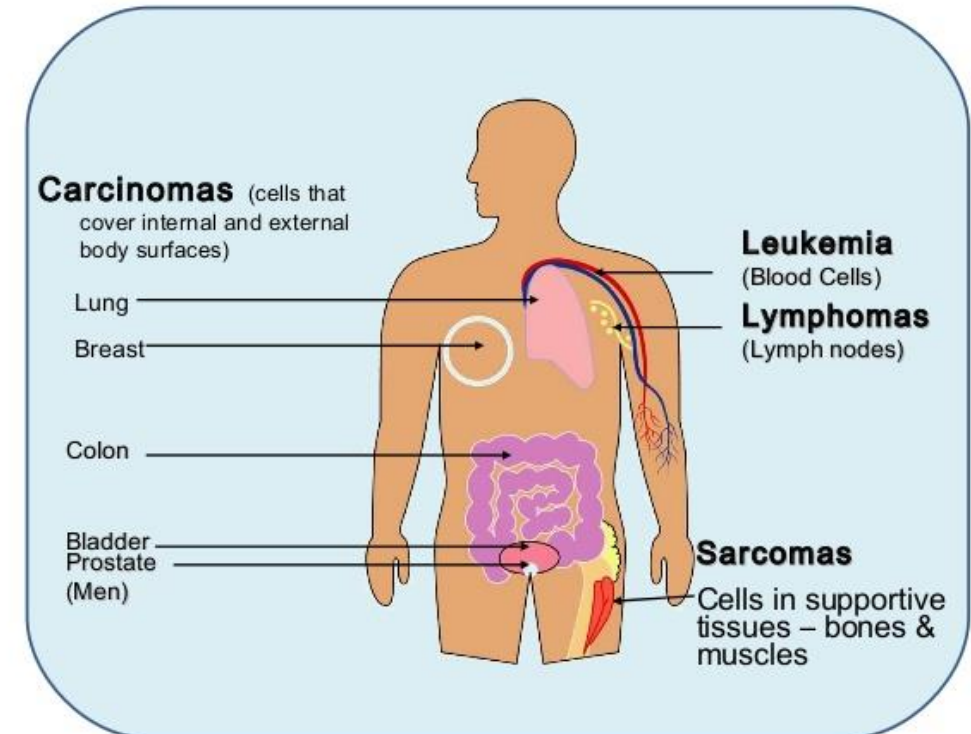


Nádorové kmenové buňky-držitelé hlavních znaků nádorových buněk a cíle pro terapii



Klasifikace nádorů

- Nejčastější lidské nádory vznikají z epitelů - **karcinomy**.
- dvě hlavní kategorie karcinomů jsou: **spinocelulární karcinomy** (z epitelu tvořícího ochranné vrstvy) a **adenokarcinomy** (ze žlázových epitelů).
- Mezi ne-epiteliální maligní nádory patří: **sarkomy** (z mezenchymálních buněk); **hematopoietická nádorová onemocnění** (z prekursorů krevních buněk); a **neuroektodermální nádory** (z komponent nervového systému).

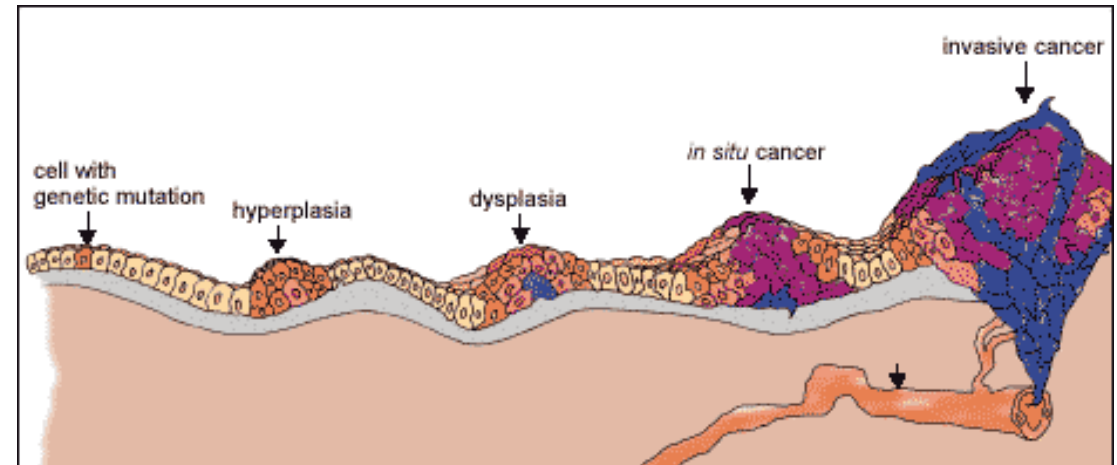


Klasifikace nádorů

- Když nádorové buňky dediferencují (ztratí veškeré tkánově specifické znaky), jejich původ je těžko identifikovatelný; takové nádory nazýváme **anaplastické**.
- Benigní tumory mohou být **hyperplastické** nebo **metaplastické**. Hyperplastické tkáně jsou tvořeny normálními buňkami v nadměrném množství, zatímco v metaplastických tkáních se normální buňky určitého typu nachází na netypických lokalitách.
- **Dysplastické nádory** obsahují cytologicky abnormální buňky. Dysplázie je přechodem mezi zcela benigním a premaligním stavem.
- **Adenomy, polypy, papilomy a bradavice** jsou dysplastické epiteliální nádory považované za benigní, protože respektují bariéru vytvořenou bazální membránou.

Klasifikace nádorů

- **typing** = histologický typ
- **grading** = benigní × maligní
- **staging** = TNM klasifikace
(T = tumor, N = uzlina (node),
M = metastáza)



Interakce nádoru s hostitelem

lokální efekty nádorů

- mechanické stlačení (např. nádory mozku)
- obstrukce (karcinom hlavního žlučovodu)
- krvácení, modřiny (leukémie)
- chronická ztráta krve do GIT (nádory žaludku a střev)
- otok (lymfomy)
- kašel (karcinom plic)
- trombóza
- potíže s polykáním (karcinom jícnu)
- ztráta zraku (stlačení optického nervu adenomem hypofýzy)
- změna hlasu (karcinom hrtanu)
- patologické zlomeniny (myelom)

Interakce nádoru s hostitelem

systemové efekty nádorů

- **anémie** (potlačení funkce krevní dřeně) – efekt prozánětlivých cytokinů
- **horečka** - produkce cytokinů (pyrogenů) nádorem (IL-1, TNF α)
- **nádorová kachexie** – anorektické mediátory (TNF α)
- **paraneoplastické syndromy** – některé nádory produkují hormony (adenomy); důležité pro diagnostiku
 - pigmentace
 - endokrinopatie (Cushingův sy., hyperkalcémie)

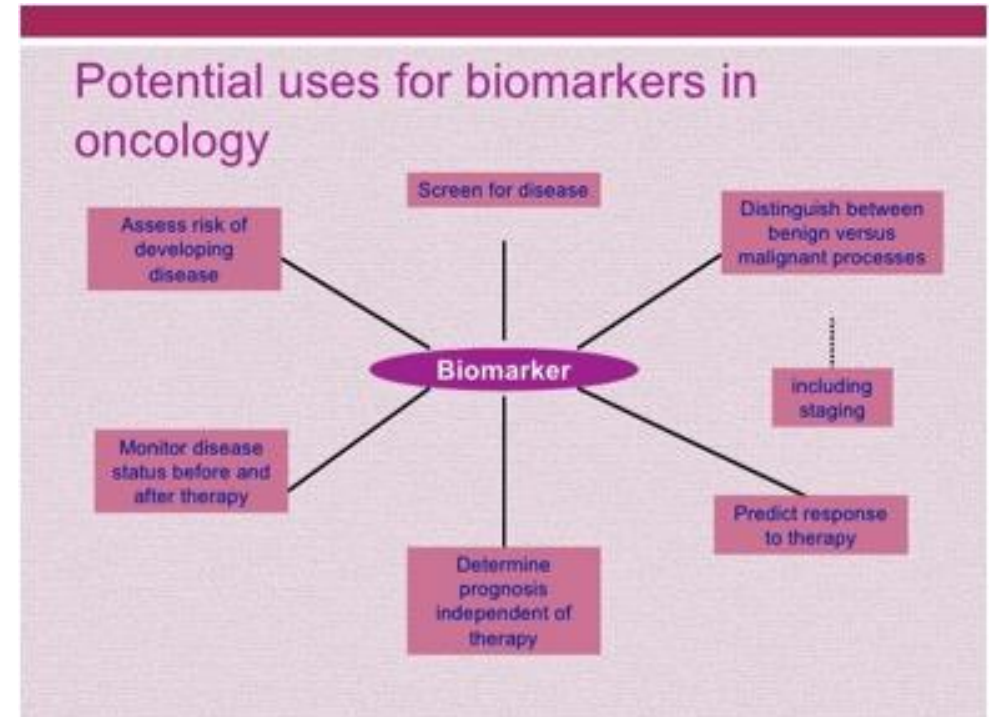
Nádorové biomarkery

- Nádorové biomarkery jsou látky produkované v reakci na procesy spojené s kancerogenezí.
- Tyto látky mohou být nalezeny v nádorové tkáni, stolici, krvi, moči a jiných tělních tekutinách.
- Většina nádorových biomarkerů jsou proteiny. Nicméně lze využít také vzorce v genových expresích (mRNA, miRNA) nebo změny v DNA (polymorfismy, mutace).

Nádorové biomarkery

Nádorové biomarkery mohou být podle využití rozděleny do kategorií:

- 1. Prediktivní biomarkery** předpovídají odpověď na určitou terapii (pozitivita/aktivace HER2 předpovídá odpovídavost nádoru prsu na trastuzumab).
- 2. Prognostické biomarkery** se snaží informovat o rizicích klinických výsledků, jakými jsou rekurence nebo progresse onemocnění.
- 3. Diagnostické biomarkery** jsou využívány k identifikaci specifického onemocnění pacienta.



Nádorové biomarkery – klinicky relevantní příklady

Alfa-fetoprotein (AFP)

- Typ nádoru: Nádory jater, germinální nádory
- Analyzovaná tkáň: Krev
- Využití: Pomoc při diagnóze rakoviny jater, sledování odpovědi k léčbě; posouzení stádia, prognózy a odpovědi k léčbě u germinálních nádorů

Fúzní gen BCR-ABL (Filadelfský chromozóm)

- Typ nádoru: Chronická myeloidní leukémie, akutní lymfoblastická leukémie a akutní myeloidní leukémie
- Analyzovaná tkáň: Krev a/nebo kostní dřeň
- Využití: Potvrzení diagnózy, předpověď odpovědi k cílené terapii, monitorování stavu onemocnění.

Nádorový antigen (Cancer Antigen) CA 15-3

- Typ nádoru: Nádory prsu
- Analyzovaná tkáň: Krev
- Využití: Posouzení účinnosti léčby či případné rekurence onemocnění

Nádorové biomarkery – klinicky relevantní příklady

Amplifikace genu HER2/neu či navýšení jeho proteinové exprese

- Typ nádoru: Nádory prsu, žaludku
- Analyzovaná tkáň: Nádor
- Využití: Určení vhodnosti určitých cílených terapií

Prostatický specifický antigen (PSA)

- Typ nádoru: Nádory prostaty
- Analyzovaná tkáň: Krev
- Využití: Pomoc při diagnóze, posouzení odpovědi k léčbě a sledování rekurence

Karcinoembryogenní antigen (CEA)

- Typ nádoru: Kolorektální karcinom, některé další typy nádorů (pankreatu, plic a prsu)
- Analyzovaná tkáň: Krev
- Využití: Kontrolování účinnosti terapie a hlídání rekurence
- Je to antigen vyskytující se normálně jen v embryonálním období

Děkuji za pozornost

WHEN YOU SEE A CLAIM THAT A COMMON DRUG OR VITAMIN "KILLS CANCER CELLS IN A PETRI DISH,"

KEEP IN MIND:



SO DOES A HANDGUN.