




# Onkogenetika



# Onkogenetika

- Genetické souvislosti – nádorová onemocnění
  - Studium karcinogeneze
  - Genetické pozadí může ovlivňovat vnímavost jedince k malignitám a riziku rakoviny
  - (lékařská genetika, cytogenetika, molekulární biologie, virologie)
- 




# Nádorová onemocnění

- ▶ Rakovina jako genetické onemocnění?
- ▶ dědičná **predispozice** (např. zárodečné mutace v tumor supresorových genech)
- ▶ rodinný výskyt (genetické vlivy + faktory vnější prostředí)
- ▶ sporadicky (somatické mutace)



# Nádor

- ▶ Abnormální tkáň
  - ▶ Roste neregulovaným způsobem
  - ▶ Nekoordinovanost s okolím
  - ▶ Ztráta fyziologické funkce i struktury (původní tkáně)
- 



Robert A. Weinberg

Jediná  
odrodilá buňka

Jak vzniká rakovina


edice

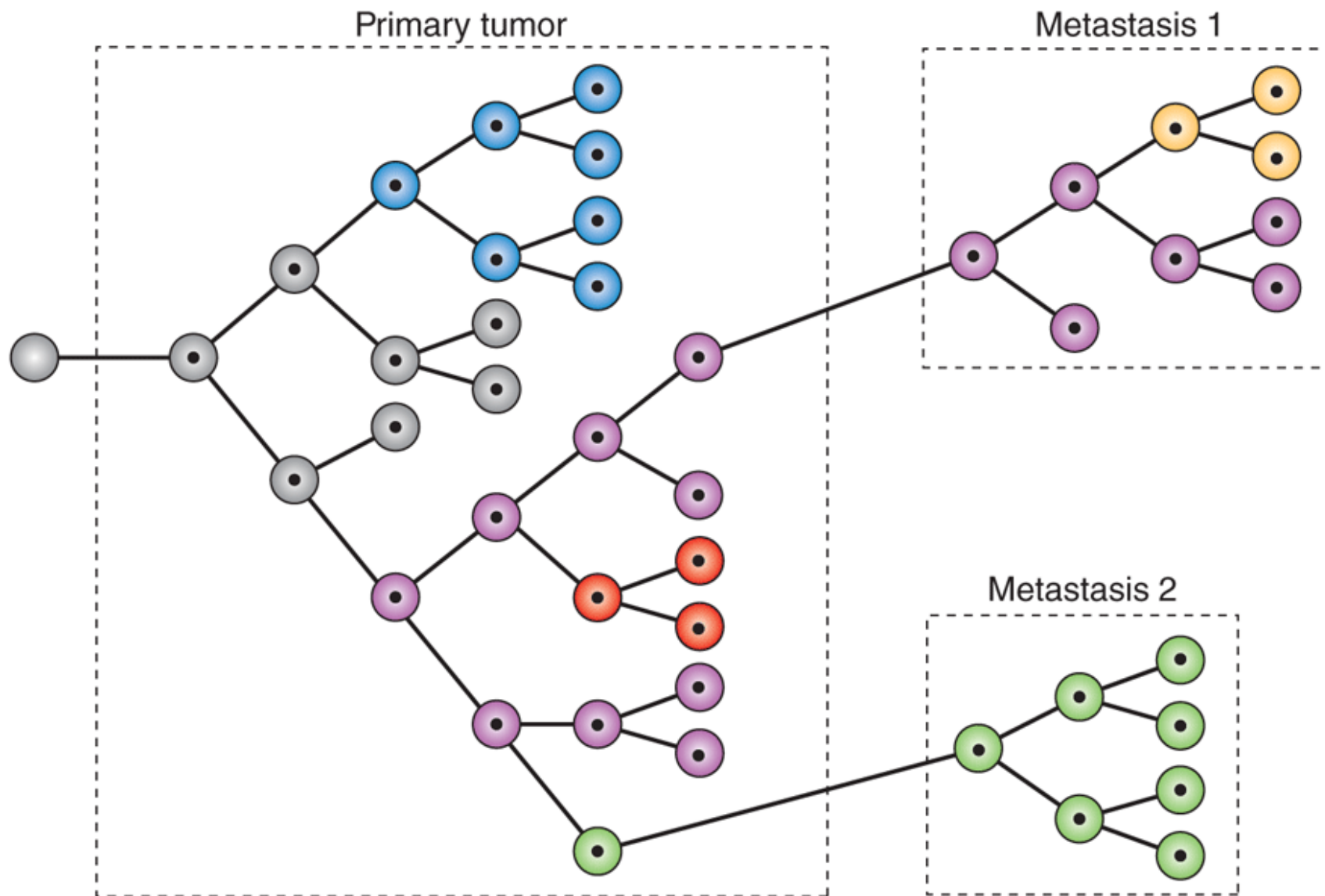


ACADEMIA



# Vznik nádoru

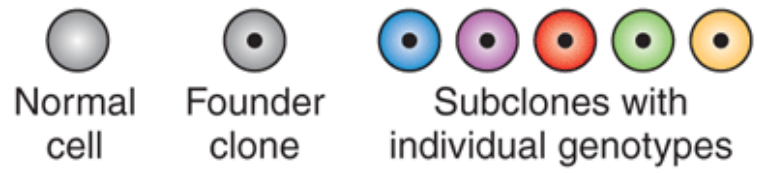
- ▶ Teorie nádorové kmenové buňky
  - ▶ Původ nádoru může být monoklonální nebo polyklonální
  - ▶ Monoklonální – z jediné buňky
  - ▶ Polyklonální – z více buněk
  
  - ▶ Klonalitu můžeme určit
  - ▶ Obvykle monoklonální (na počátku mohl být polyklonální, ale jeden typ buněk se dělil rychleji a ostatní buňky přerostl - expanze, během růstu nádoru se zvyšuje jeho heterogenita)
- 



Primary tumor

Metastasis 1

Metastasis 2



Katie Vicari



# Kancerogeneze



- Vznik nádorového onemocnění je složitý, mnohastupňový proces
- Proces změn, které vedou k přeměně normální buňky na nádorovou
- Během kancerogeneze dochází ke změnám u **celé řady genů** (desítky)
  
- Aby u buňky nastala **maligní transformace**, je nutná účast mnoha faktorů
- Musí nastat několik událostí (viz další slide)
- Může se lišit jejich počet a mohou nastat v libovolném pořadí



**Modulation of cancer dependent signalling pathways**

**Epithelial mesenchymal transition**

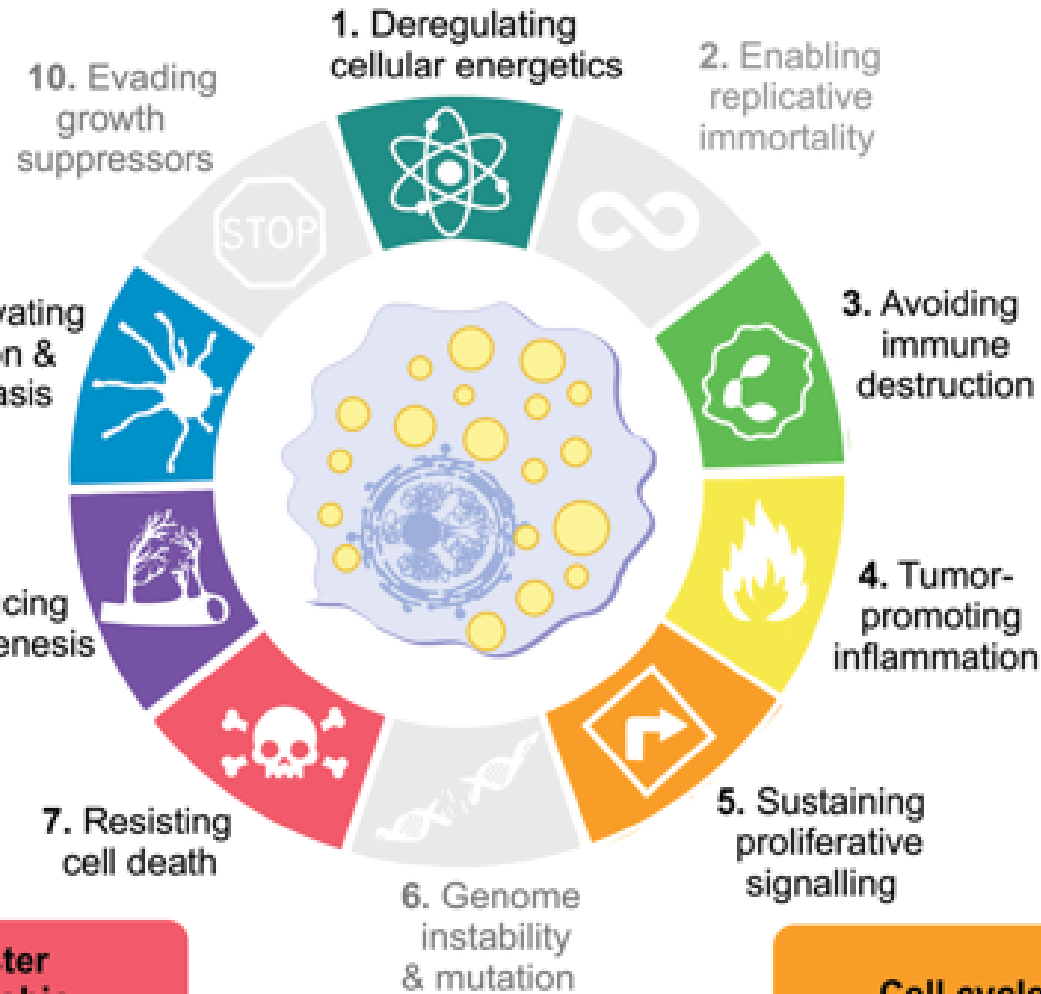
**Cross-talk between tumor and immune cells**

**Hypoxia mediated lipid metabolism alteration**

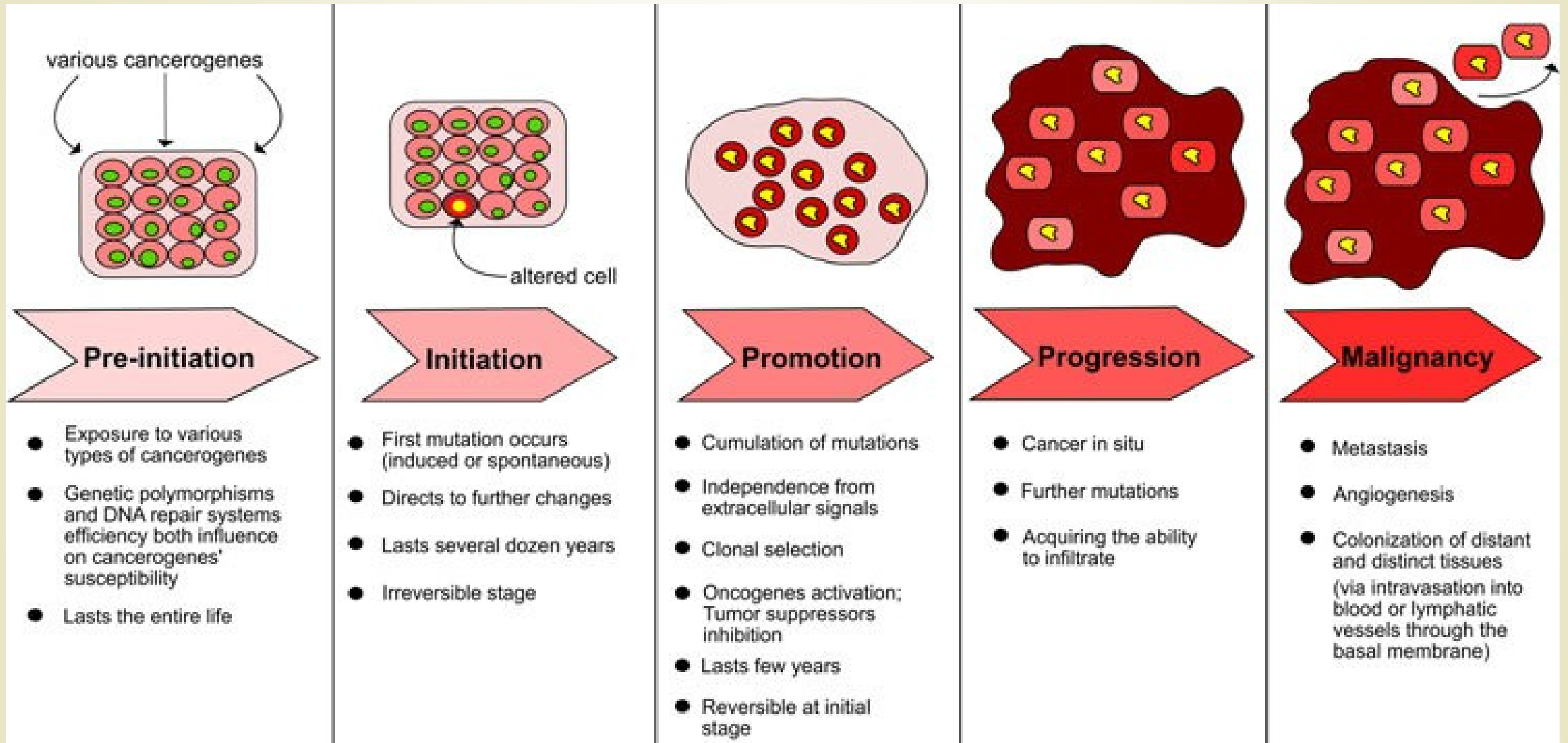
**Eicosanoids synthesis**

**Sequester hydrophobic therapeutic agents**

**Cell cycle progression**




# Fáze





# Získané vlastnosti nádorových buněk

- ▶ Dediferenciace (až na buňky připomínající buňky kmenové)
  - ▶ Nekontrolovatelná proliferace
  - ▶ Porucha senescence (telomeráza)
  - ▶ Porucha mezibuněčných kontaktů (kontaktní inhibice)
  
  - ▶ Schopnost migrace
- 



# Nádorové supresory

- ▶ Tumor supresorové geny
- ▶ Kontrolují buněčný cyklus, brzdí buněčné dělení (proliferaci)
- ▶ Podporují diferenciaci, apoptózu
  
- ▶ **Gen Rb1 (retinoblastom)**
- ▶ Brzda buněčného cyklu
  
- ▶ **Gen TP53**
- ▶ Monitoruje poškození DNA
  
- ▶ Mutace nádorových supresorů jsou **recesivní** (pro ztrátu funkce musí být mutovány obě kopie – teorie dvou zásahů (Knudson), tzv. recesivní onkogeny)



# Protoonkogeny

- ▶ Normální geny se strukturální funkcí (kódují protein)
- ▶ Plní svou obvyklou funkci
- ▶ Nemají na organismus žádný negativní vliv
- ▶ Kódují:
  - Růstové faktory (ovlivňují růst buněk)
  - Receptory pro růstové faktory
  - Transkripční faktory (regulují genovou expresi)
  - Molekuly důležité pro přenos signálu (G proteiny)
- ▶ Příklad: JUN, SRC, FOS
- ▶ Mutace protoonkogenů jsou **dominantní** (k projevu - aktivaci onkogenu - stačí mutace v jedné kopii), obvykle v somatických buňkách



# Onkogeny

- ▶ Tytéž strukturní geny
- ▶ Nastala u nich **aktivace** (přeměna protoonkogenu na onkogen)



- Bodové mutace
- Chromosomové přestavby
- Amplifikace
- **Onkogenní viry**



# Onkogenní viry

- ▶ **Retroviry** (RNA viry)
- ▶ mají ve svém genomu onkogen (akutně transformující viry)
- ▶ aktivují protoonkogen, vedle kterého se začlenily (pomalu transformující viry)
  
- ▶ **DNA viry**
- ▶ neobsahují onkogeny, ale kódují proteiny, které interagují s nádorovými supresory hostitelské buňky

## Retroviry a virové onkogeny

### **Virus**

virus Fujinamiho sarkomu

virus Harveyho myšího sarkomu

virus Kirstenova myšího sarkomu

virus Moloneyho myšího sarkomu

virus opičího sarkomu

virus ptačí erytroblastózy

virus ptačí myelomatózy

virus Rousova sarkomu

### **V-onkogen**

v-fps

v-Ha-ras

v-Ki-ras

v-mos

v-sis

v- erbA, v-erbB


v-myc

v-src





# Lidské onkogenní viry

- ▶ Virus Ebsteina-Barrové (EBV)
  - ▶ Lidský papillomavirus (HPV)
  - ▶ Viry hepatitidy B a C (HBV, HCV)
  - ▶ Herpes virus 8 = virus Kaposiho sarkomu (KSHV)
  - ▶ Virus lidské T - buněčné leukémie (HTLV-1, HTLV-2)
  - ▶ Virus lidského imunodeficitu (HIV)
- 



# Interakce nádorové buňky s hostitelským organismem

- ▶ Interakce s imunitním systémem
- ▶ **Imunitní editace nádoru**
- ▶ 3 stavy:
  - ▶ zničení nádorových buněk imunitním systémem
  - ▶ rovnováha (mezi imunit. systémem a nádorem)
  - ▶ únik nádoru



# Interakce nádorové buňky s hostitelským organismem

- ▶ Během fáze eliminace imunitní systém zabíjí nádorové buňky
- ▶ U nádorových buněk dochází ke kumulaci mutací - mohou získat nové výhodné vlastnosti, které jim pomohou vyhnout se imunitnímu doзору
- ▶ Během imunoeditace nádorů jsou zabíjeny pouze nádorové buňky, které imunitním systémem rozpoznal - důsledkem je tedy selekce (přežívání) buněk) které jsou **více odolné k imunitnímu doзору**
- ▶ Takto selektované buňky je pak větší problém rozpoznat a eliminovat

# Mechanismy úniku nádorů

- ▶ V protinádorové imunitě se uplatňují zejména **CD8+ cytotoxické T lymfocyty** (po rozpoznání antigenu prezentovaného nádorovými buňkami se aktivuje cytotoxická odpověď)
- ▶ Některé nádorové buňky proto záměrně sníží expresi antigenů na svém povrchu, protože nechtějí být rozpoznány T lymfocyty
- ▶ Zároveň je ale naprostá ztráta MHC I z povrchu nádorových buněk signálem pro eliminaci pomocí **NK buněk**
- ▶ Nádorové buňky vykazují takovou expresi MHC I, aby nebyly eliminovány ani Tc ani NK buňkami
- ▶ Dále uvolňují molekuly, které inhibují T lymfocyty nebo vedou k jejich apoptóze

# Cancer/immune system interactions: basic concepts

## A Chronic inflammation

- 1 Inhibition of cancer cell apoptosis
- 2 Induction of cancer cell proliferation
- 3 Induction of EMT
- 4 Chemoattraction and differentiation of immunosuppressive myeloid cells

Increased invasiveness

T cell Exhaustion

Promotion of cancer development

## B Cancer immunosurveillance

Interaction between cancer cells & adaptive and innate immune system

- 1 Elimination of transformed cells
- 2 Equilibrium phase
- 3 Escape of cancer cells from immunosurveillance

Clinically significant tumor outgrowth

## C Immuno-mediated cancer treatments

mAb mediated therapies

Radiotherapy  
Chemotherapy

T-cell mediated immunotherapies

- 1 Vaccination
- 2 Adoptive transfer

Expansion of TAA specific CTL

Antibodies against immunological checkpoints

ADCC  
Phagocytosis

Endogenous vaccination (?)


Activation of antigen presenting cells

DAMPs release

Tumor cell death



# Interakce nádorové buňky s hostitelským organismem

- ▶ Potřeba energie
  - ▶ Angiogeneze
  - ▶ Invazivita
  - ▶ Metastázování
  
  - ▶ Zvýšení teploty (produkce pyrogenů nádorem i imunitním systémem hostitele, interleukin 1, TNF alfa)
  - ▶ Kachexie (změněná aktivace regulačních center v hypothalamu, působením cytokinů produkovaných nádorem nebo imunitním systémem)
  - ▶ Paraneoplastické syndromy
- 





# Geneticky podmíněná nádorová onemocnění

- **Syndrom Von Hippel-Lindau (VHL)**
- Autozomálně dominantní dědičné onemocnění
- Pacienti mají zvýšené riziko rozvoje:
  - Hemangiomů v sítnici
  - Hemangiomů v CNS (např. mozeček)
  - Angiofibromy
  - Renální karcinom
- Příčinou je mutace v genu VHL



# Geneticky podmíněná nádorová onemocnění

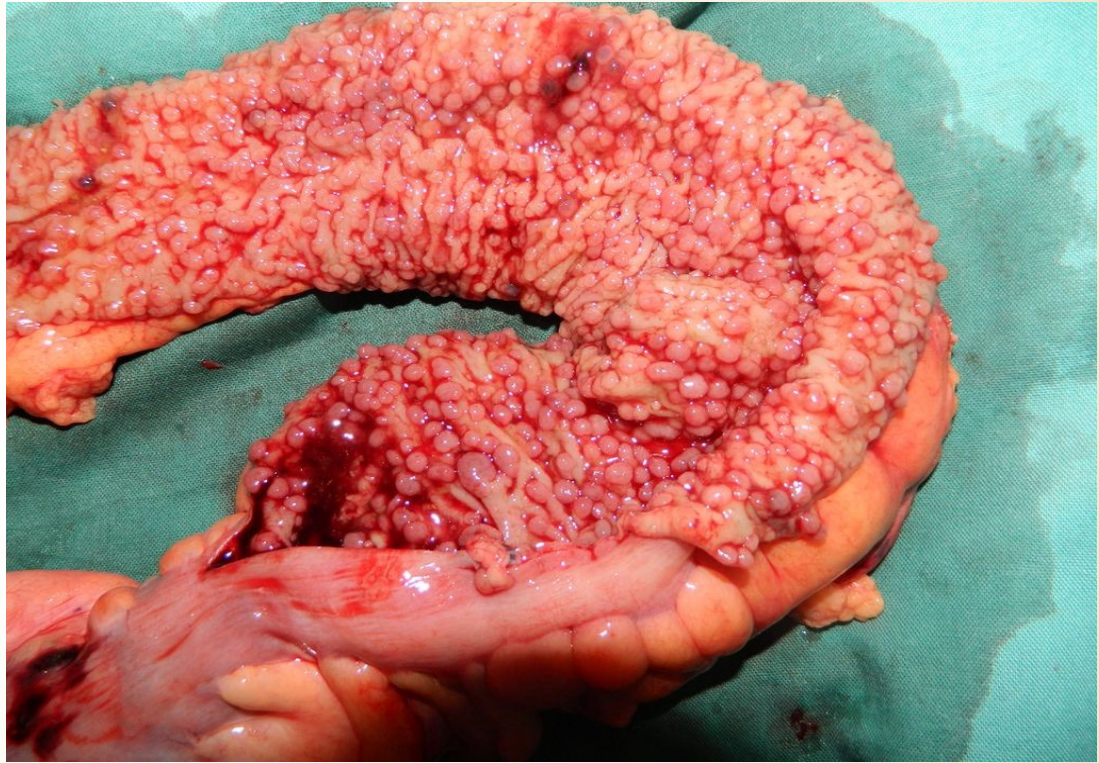
- **Lynchův syndrom (dědičný nepolypózní kolorektální karcinom, HNPCC)**
- Autosomálně dominantní dědičnost s poměrně vysokou penetrancí
- Představuje přibližně 1-3 % všech kolorektálních nádorů
- Pacientky jsou ohroženy také endometriálním karcinomem (na podkladě Lynchova syndromu vznikají asi 2 % tohoto typu nádorů)
- Příčinou je mutace v mutátorových genech MMR (Mismatch Repair)





# Geneticky podmíněná nádorová onemocnění

- **Familiární adenomatózní polypóza (FAP)**
- Autosomálně dominantní dědičné onemocnění
- Dochází k rozvoji stovek až tisíců benigních kolorektálních nádorů
- Bez terapie může nastat progresse do karcinomů (do 10 let)
- Má více forem onemocnění: atenuovaný FAP, Gardnerův syndrom, Turcotův syndrom, familiární adenomatózní polypóza 2. typu
- Příčinou je vrozená mutace **tumor supresorového genu APC**





# Geneticky podmíněná nádorová onemocnění

## ➤ **Retinoblastom**

- Autosomálně dominantní dědičné onemocnění
- Tvoří 3 % nádorů u dětí do 15 let
- Zhoubný nádor oka (sítnice)
- Unilaterální nebo bilaterální výskyt
- Hereditární nebo nehereditární forma
- Záradečné nebo somatické mutace v tumor supresorovém genu Rb1, možnost ztráty heterozygosity díky somatické mutaci (Knudsonův model dvou zásahů)

# Geneticky podmíněná nádorová onemocnění

- **Wilmsův tumor (nefroblastom)**
- Autozomálně dominantní onemocnění s neúplnou penetrancí
- Nádor ledvin, objevuje se v dětském věku
- Může se jednat o dědičnou formu nebo sporadický výskyt
- Tvoří asi 5 – 6 % nádorů dětského věku a jedná se šestý nejčastější nádor u dětí
- Typicky postihuje děti předškolního věku, maximum výskytu má mezi 2. a 3. rokem života
- Příčinou mutace v tumor supresorovém genu WT1





# Karcinom prsu a/nebo vaječníků

- V 90 % případů se nádory prsu i vaječníků vyskytují sporadicky (ojediněle)
- Jen u 5–10 % případů se jedná o dědičnou formu (objevují se častěji pod 50 let a ve 2 či více generacích u blízkých příbuzných)
- Příčinou dědičné formy jsou mutace v genech **BRCA1** a **BRCA2**
- Dominantní dědičnost
  
- NE všechny ženy s mutacemi v BRCA1 a 2 onemocní během svého života rakovinou prsu či vaječníků





# Karcinom prsu a/nebo vaječníků

- **BRCA1** – leží na chromozomu 17
- Mutace zvyšuje pravděpodobnost vývoje karcinomu prsu a vaječníků
- 65-85% riziko onemocnění nádorem prsu a 39 – 65% riziko onemocnění nádorem vaječníků
  
- **BRCA2** – leží na chromozomu 13
- 45-85% riziko onemocnění nádorem prsu a 11-37% riziko onemocnění nádorem vaječníků
- Mohou být zvýšená rizika i jiných nádorů (střeva, pankreatu, prostaty, leukémií)
  
- Somatické mutace genů BRCA jsou u sporadických nádorů vzácné
- Funkcí BRCA je podílet se na udržování genomové integrity a stability




# Geneticky podmíněná nádorová onemocnění

- ▶ Neurofibromatóza (typ 1 a 2) – příklad benigního nádoru
- ▶ Hereditární difuzní karcinom žaludku
- ▶ Cowdenův syndrom
- ▶ ...



# Nádorové markery (onkomarkery)

- ▶ Látky, které mohou být produkovány nádorovými buňkami a které nejsou přítomny (nebo jen v omezeném množství) v normálních buňkách
  - ▶ Stanovitelné v krvi, moči (humorální) nebo tkáni nádoru (celulární)
  - ▶ Používané k zpřesnění diagnózy, sledování průběhu terapie a časnému zachytu relapsu onemocnění
  - ▶ Produkovány přímo nádorovou tkání nebo zdravými buňkami (v reakci na přítomnost nádoru)
  - ▶ Mohou být zvýšeny i z nenádorových příčin (!)
- 



<b>Tumor marker</b>	<b>Primary cancer type</b>	<b>Sensitivity (%)</b>	<b>Other cancers</b>	<b>Non-cancerous conditions</b>
<b>CA 27.29</b>	<b>Breast</b>	<b>33 (early), 67 (late)</b>	<b>Colon, lungs, liver, stomach, pancreas, ovary, prostate</b>	<b>Breast, liver and kidney diseases, ovarian cyst</b>
<b>CEA</b>	<b>Colorectal</b>	<b>25 (early), 75 (late)</b>	<b>Breast, lung, stomach, pancreas, bladder, thyroid, head and neck, cervix, liver, lymphoma, melanoma</b>	<b>Cigarette smoking, peptic ulcer, inflammatory bowel disease, pancreatitis, cirrhosis, biliary obstruction, hypothyroidism,</b>
<b>CA 19.9</b>	<b>Pancreas</b>	<b>80-90</b>	<b>Colon, esophagus, liver</b>	<b>Pancreatitis, biliary diseases, cirrhosis</b>
<b>AFP</b>	<b>HCC, GCT</b>	<b>80 HCC</b>	<b>Stomach, pancreas, biliary</b>	<b>Cirrhosis, viral hepatitis, pregnancy</b>
<b><math>\beta</math>-hCG</b>	<b>Non-seminomatous germ cell tumors, gestational trophoblastic tumors</b>	<b>85</b>	<b>Rarely GI cancers</b>	<b>Hypogonadal states, marijuana</b>
<b>CA 125</b>	<b>Ovarian</b>	<b>50 (early), 85 (late)</b>	<b>Endometrium, fallopian tube, breast, lung, esophagus, stomach, liver, pancreas</b>	<b>Menstruation, pregnancy, fibroids, ovarian cysts, pelvic inflammation, cirrhosis, ascites, pleural and pericardial effusion, endometriosis</b>
<b>PSA</b>	<b>Prostate</b>	<b>75</b>	<b>None</b>	<b>Prostatitis, benign prostate hypertrophy, prostate trauma, after ejaculation</b>



# Prostatický specifický antigen (PSA)

- ▶ Serinová proteáza tvořená v prostatě
- ▶ Uvolňován do seminální tekutiny (→ její zkapalnění, umožní pohyb spermií)
- ▶ V plazmě je vázaný (inaktivovaný; přibližně 86 % celkového PSA), zbytek volně
- ▶ Indikací k vyšetření je diagnostika a sledování léčby **karcinomu prostaty**
- ▶ Provádí se cílené vyšetření rizikových pacientů (rodinná zátěž, věk nad 50 let) + vyšetřením per rektum a ultrasonografie




# Prostatický specifický antigen (PSA)

- **Karcinom prostaty**
- Hraniční hodnota (cut off) pro celkový PSA je závislá na věku
- Hodnocení poměru fPSA/PSA (volný/vázaný)
  - Pod 15 % - svědčí pro karcinom prostaty
  - 15-20 % šedá zóna
  - Nad 20 % - svědčí pro hyperplázii prostaty (nebo jinou benigní afekci)
- Koncentrace celkového PSA koreluje s velikostí a stage nádoru
- Koncentrace celkového PSA nad 30  $\mu\text{g/l}$  často provázejí vzdálenější metastázy



# Prostatický specifický antigen (PSA)

- ▶ **Zvýšení PSA z nenádorových příčin**
  - ▶ Při benigní hyperplazii
  - ▶ Prostatitida, mechanické dráždění (jízda na kole, ejakulace, vyšetření per rektum, cystoskopie, ...)
- 



# Příklady využití nádorových markerů

- **Diferenciální diagnostika**
- **Staging** - posouzení anatomického rozsahu onemocnění
- Vysoká hodnota markeru může poukázat na špatně určené nižší stadium onemocnění
- **Sledování průběhu choroby**
- Zvýšení hladin nádorových markerů může upozornit na návrat onemocnění
- **Sledování účinku terapie**