

Speciální seminář z biologie nádorů

Prof. RNDr. Jana Šmardová, CSc.

FN Brno, PŘF a LF MU Brno

MUDr. Pavel Fabian, Ph.D.

MOÚ Brno, LF a PŘF Brno

2013

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

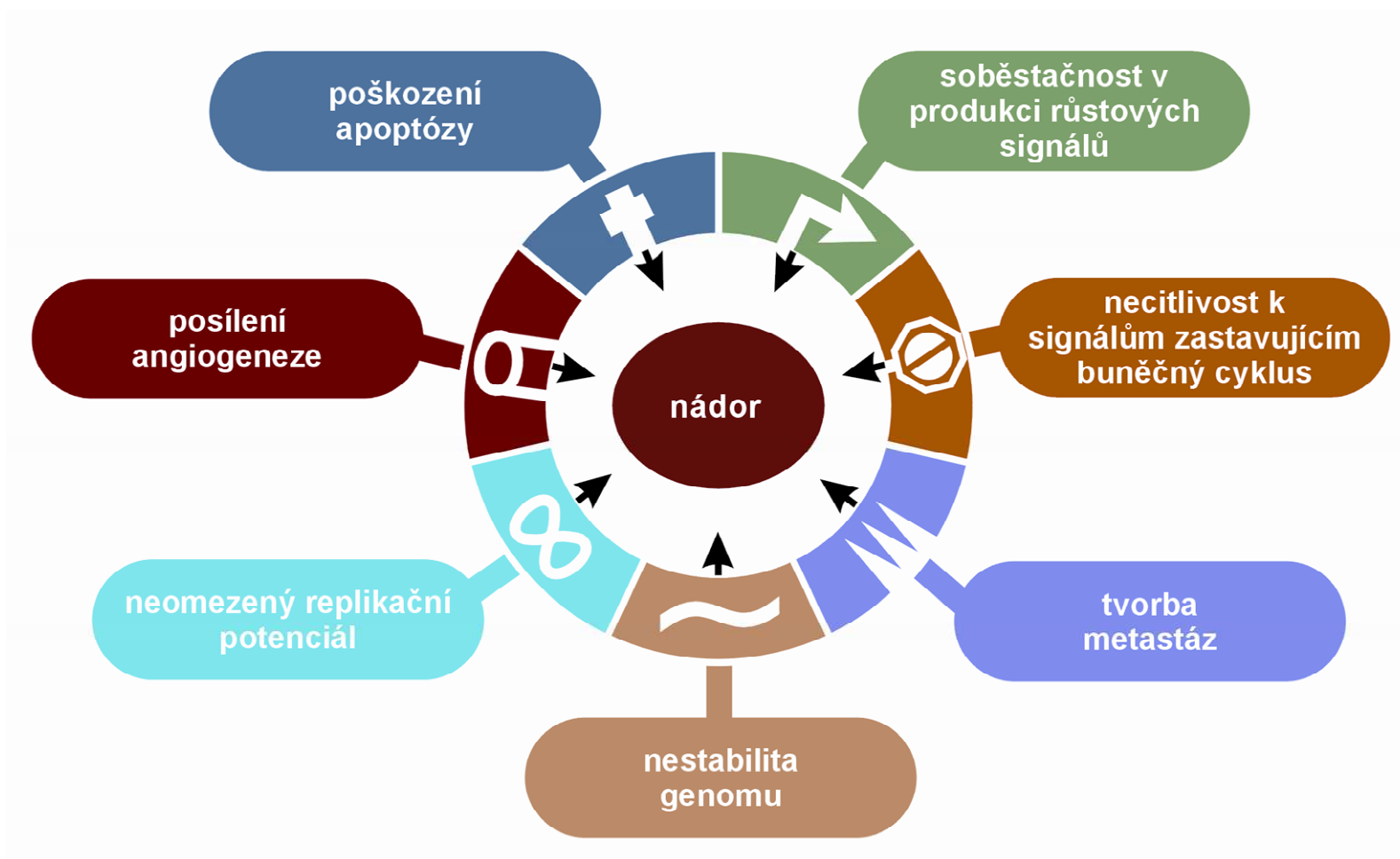


INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Seminář 7

Analýza p53 a příběh mutace 337H

Sedm typických znaků nádorových buněk



„The hallmarks of cancer“

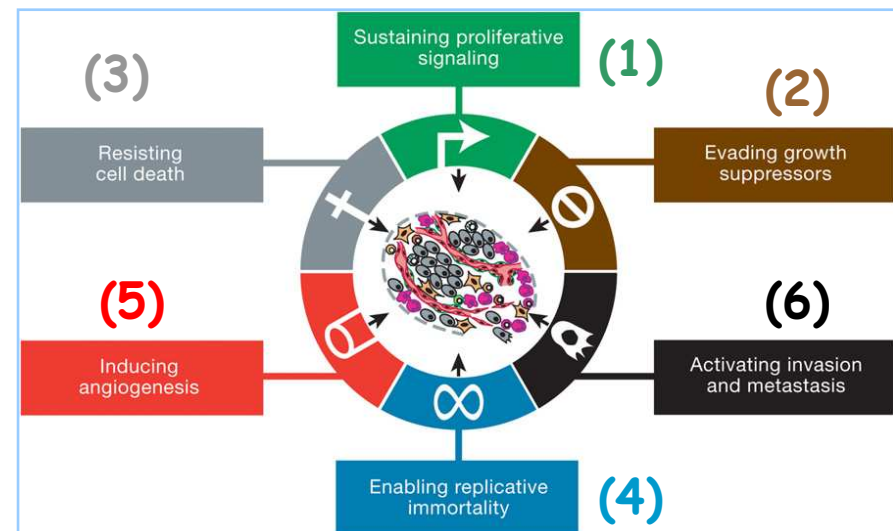
(Hanahan D. and Weinberg R.A. 2000, *Cell* 100: 57-70)

Hallmarks

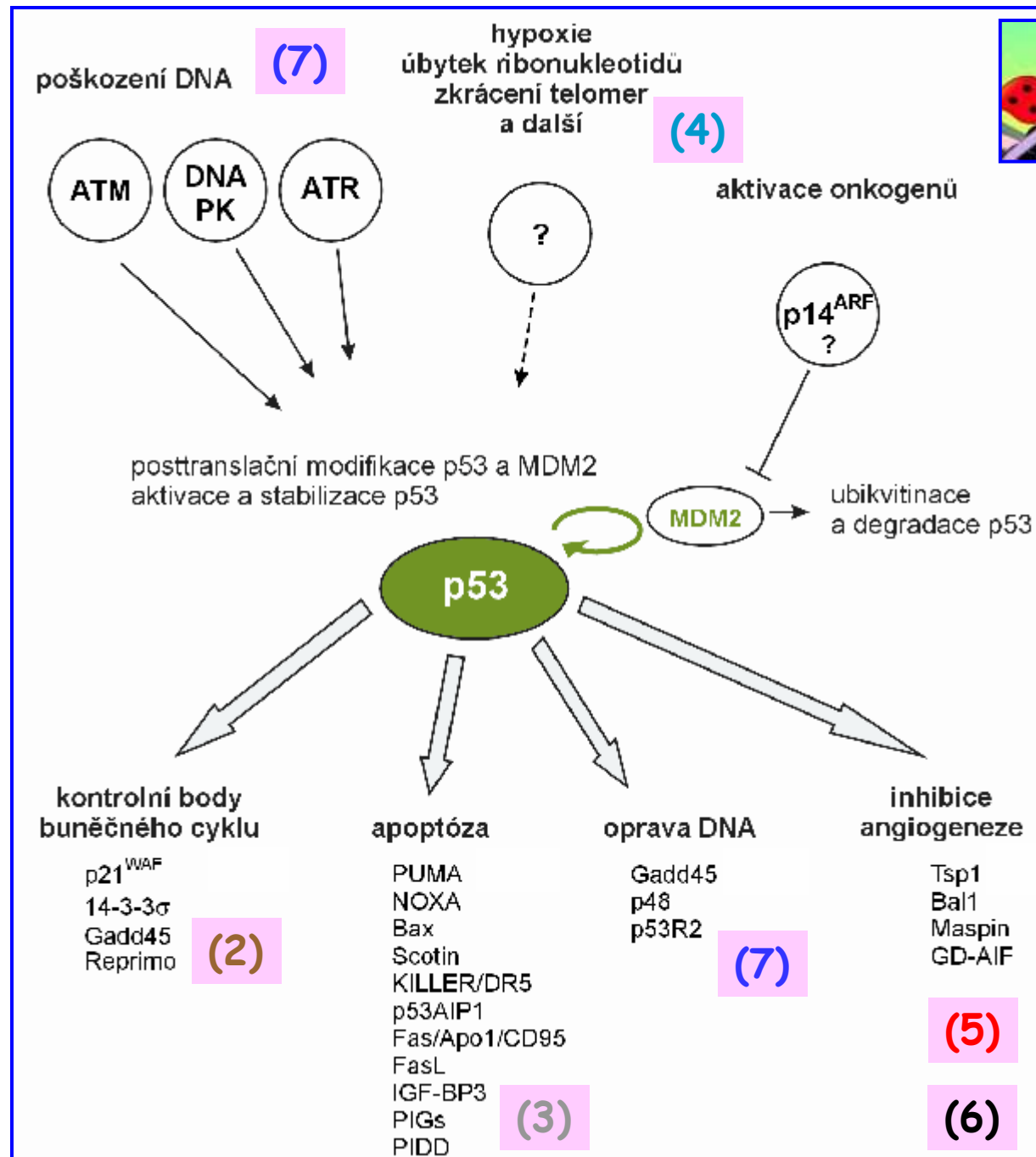
- (1) Produkce vlastních proliferčních signálů
- (2) Necitlivost k signálům zastavujícím b.c.
- (3) Odolnost k buněčné smrti
- (4) Neomezený replikační potenciál
- (5) Indukce angiogeneze
- (6) Aktivace invasivity a metastázování

Enabling hallmarks

- (7) Genetická nestabilita a mutace



Funkce p53



Hallmarks of Cancer: The Next Generation

(Hanahan D. and Weinberg R.A. 2011, *Cell* 144: 646-674)

Hallmarks

- (1) Produkce vlastních proliferčních signálů
- (2) Necitlivost k signálům zastavujícím b.c.
- (3) Odolnost k buněčné smrti
- (4) Neomezený replikační potenciál
- (5) Indukce angiogenese
- (6) Aktivace invasivity a metastázování

Enabling hallmarks

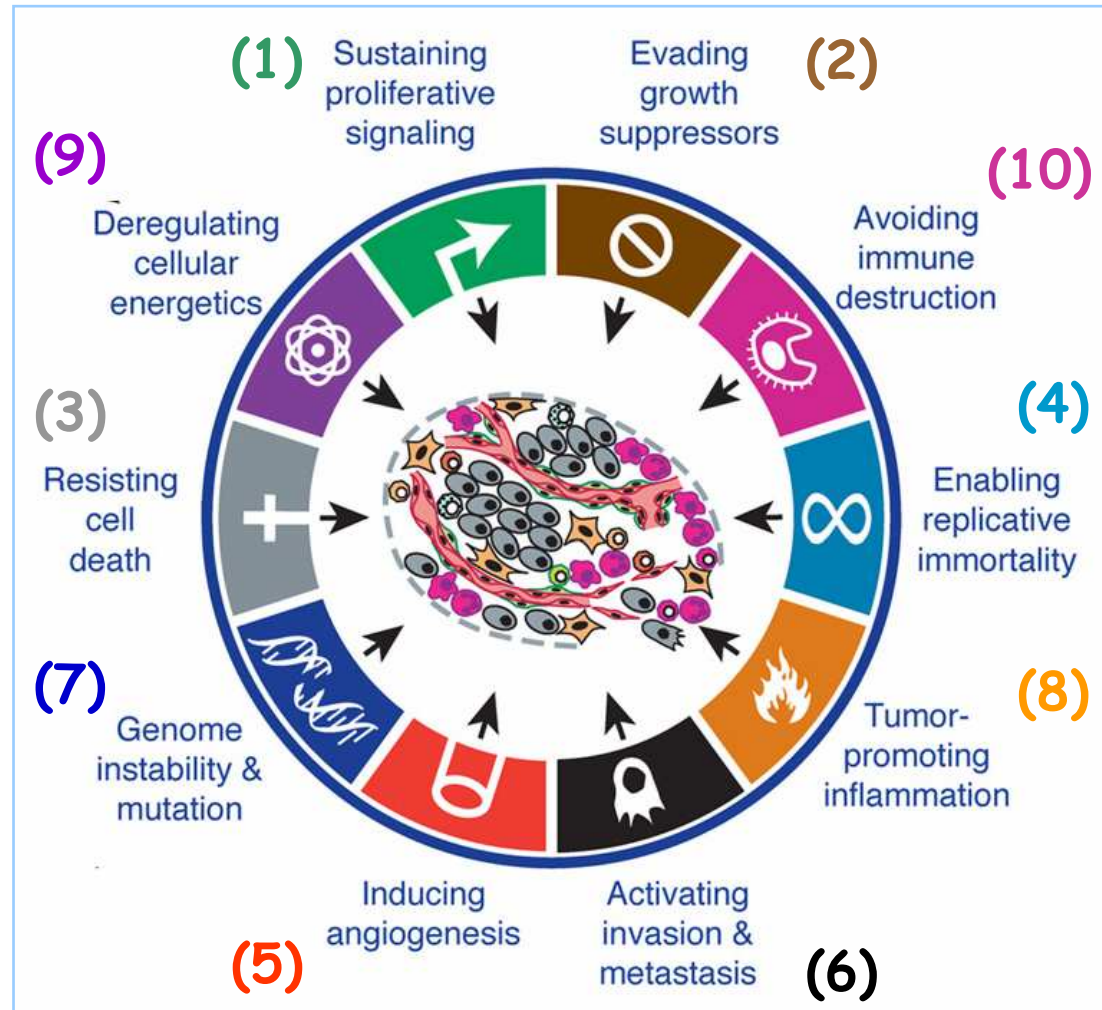
- Genetická nestabilita a mutace (7)
- Přítomnost zánětu podporující nádor (8)

Emerging hallmarks

- Přeprogramování energetického metabolismu (9)
- Schopnost vyhnout se destrukci imunitním systémem (10)

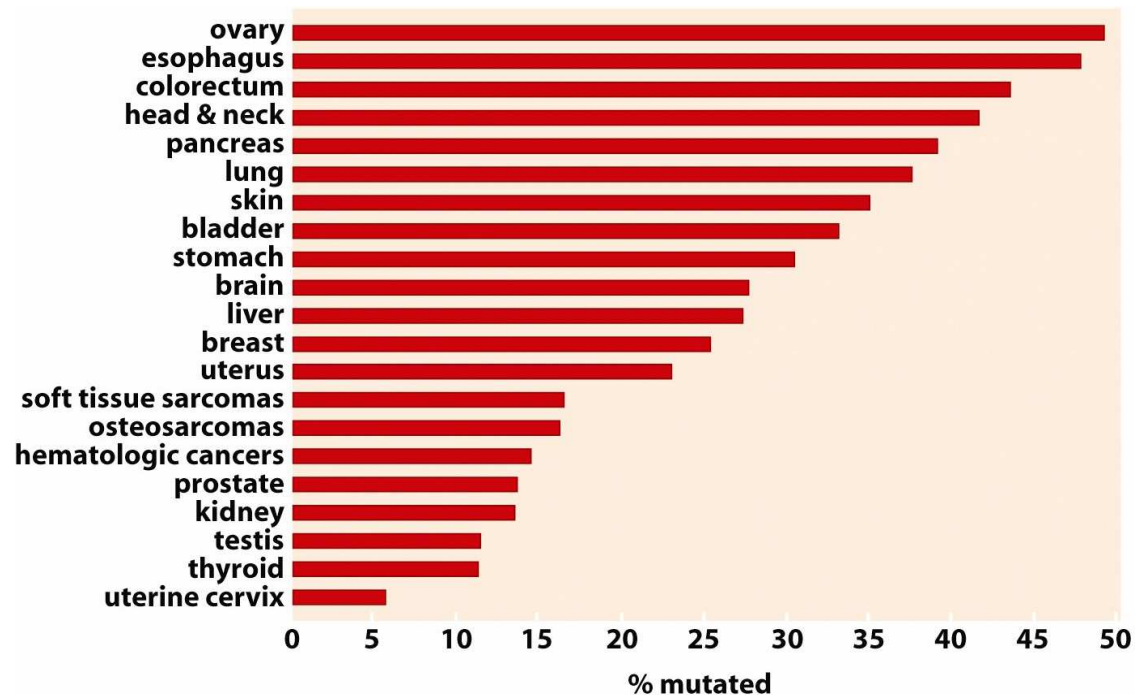
Hallmarks of Cancer: The Next Generation

(Hanahan D. and Weinberg RA. 2011, *Cell* 144: 646-674)



Mutace p53 a nádory

- Asi u 50% všech lidských nádorů lze detekovat somatickou mutaci/aberraci nádorového supresoru p53.



- Mutace nádorového supresoru p53 v zárodečné linii jsou příčinou asi 80% případů Li-Fraumeniho syndromu (LFS) a asi 50% případů Li-Fraumeni-like syndromu (LFLS).

Li-Fraumeniho a Li-Fraumeniho-like syndrom

- Autozomálně dominantní syndrom predisponující k vývoji nádorů v mladém věku, především nádorů prsu, sarkomů, adrenokortikálních karcinomů (ACC), leukemií a nádorů mozku.

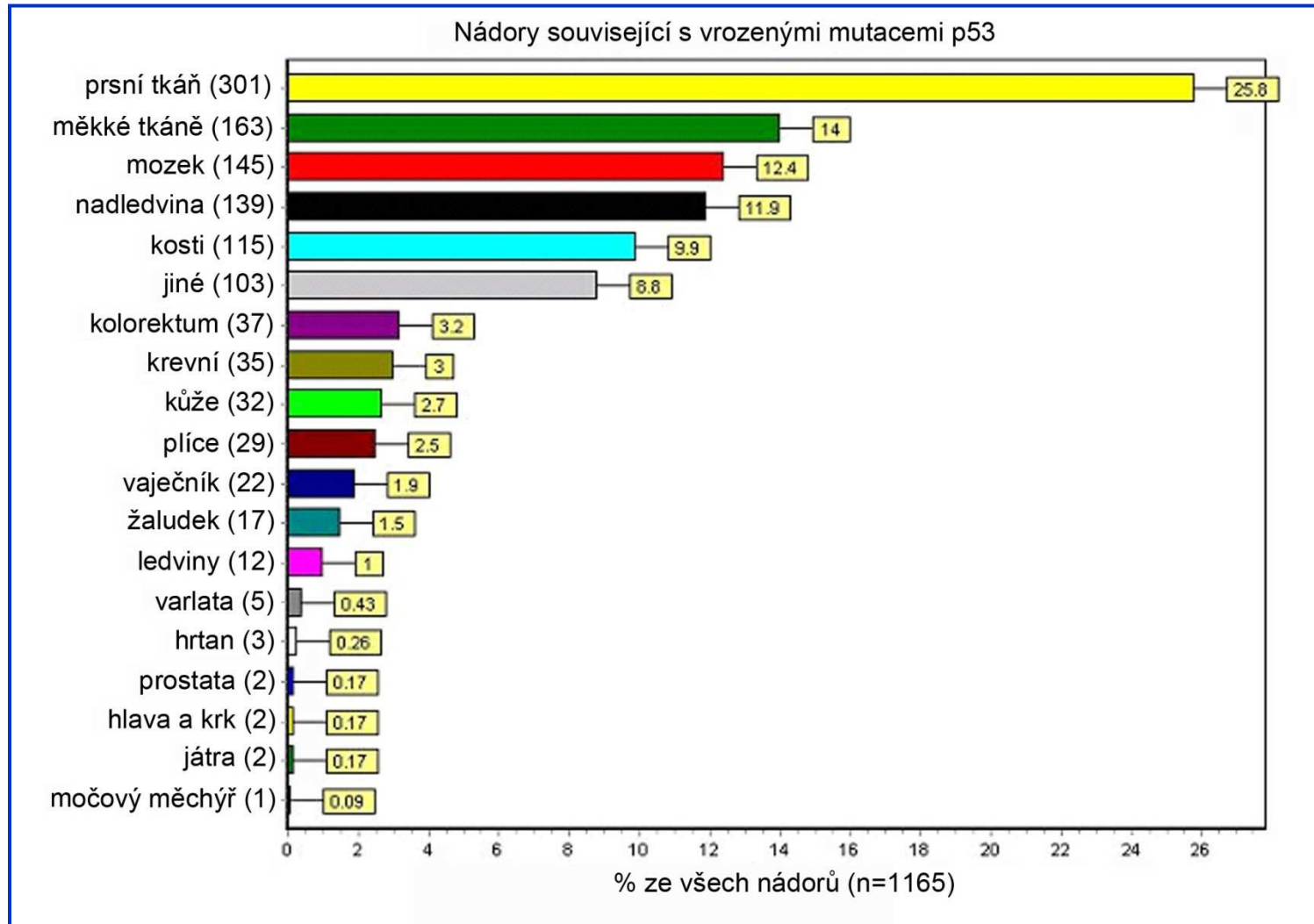
LFS

- Proband se sarkomem do 45. roku života, příbuzný 1. stupně s nádorem do 45. roku života, příbuzný 1. nebo 2. stupně s jakýmkoliv nádorem do 45. roku života nebo se sarkomem v kterémkoliv věku.
- Až **80%** případů spojeno s vrozenou mutací **p53**.

LFLS / LFL

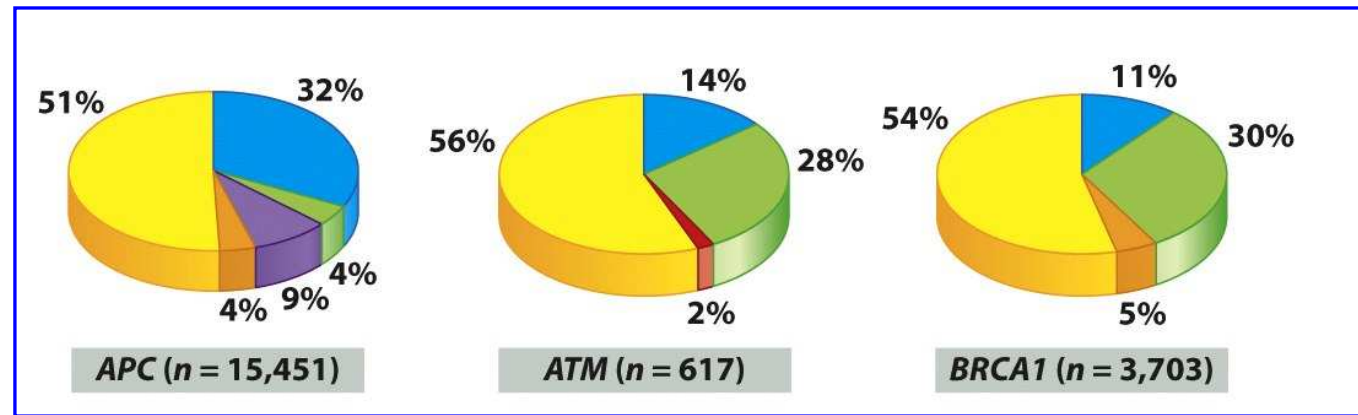
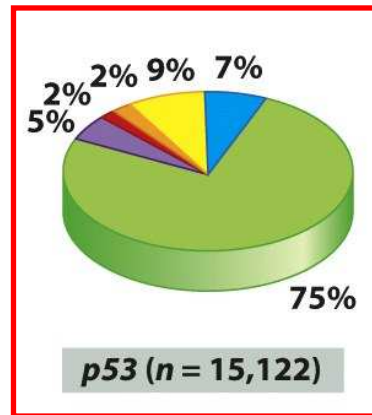
- Proband s jakýmkoliv nádorem v dětství nebo sarkomem, nádorem mozku nebo adrenokortikálním nádorem do 45. roku života, příbuzný 1. nebo 2. stupně s kterýmkoliv typickým LFS nádorem v jakémkoliv věku, další příbuzný 1. nebo 2. stupně s jakýmkoliv nádorem do 60. roku života.
- Asi **50%** případů spojeno s vrozenou mutací **p53**.

Zastoupení typů nádorů mezi pacienty s LFS



Typy mutací nádorového supresoru p53

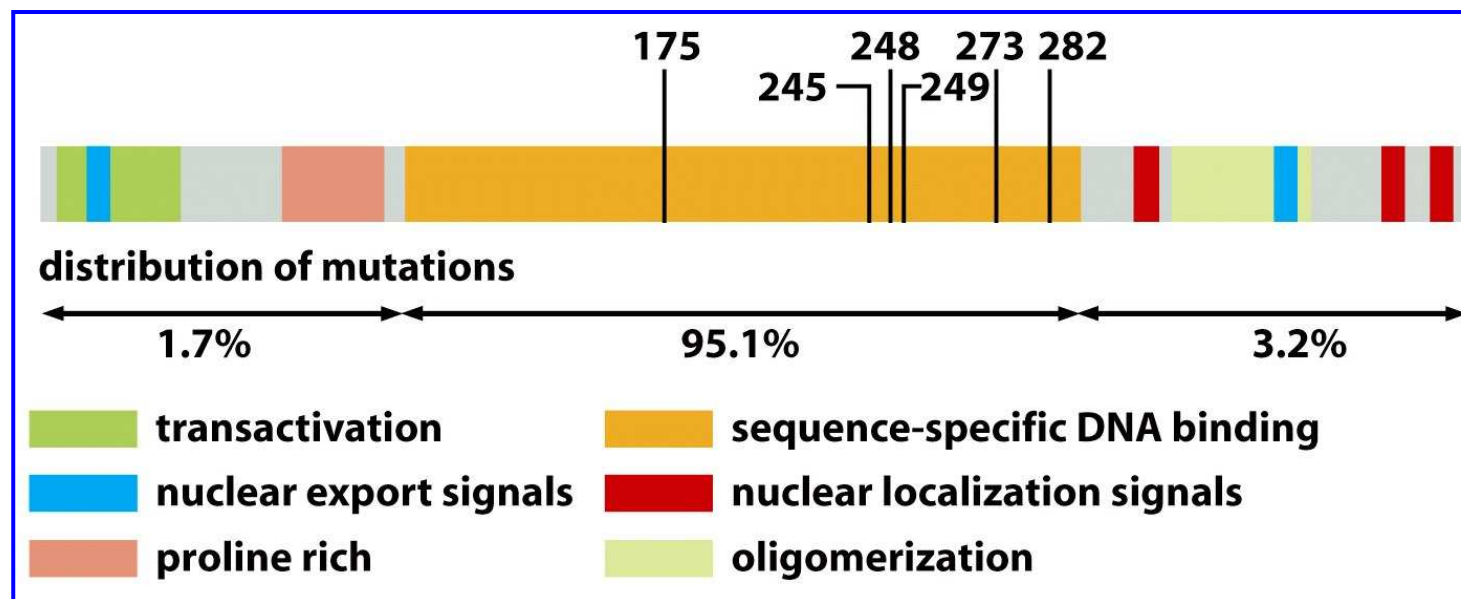
Typické mutace nádorových supresorů: inaktivující - recesivní → rozsáhlé delece, posun čtecího rámce, nesmyslné...



Typické mutace p53: jednobodové záměny měnící smysl kodonu (missense) - 75 až 80%

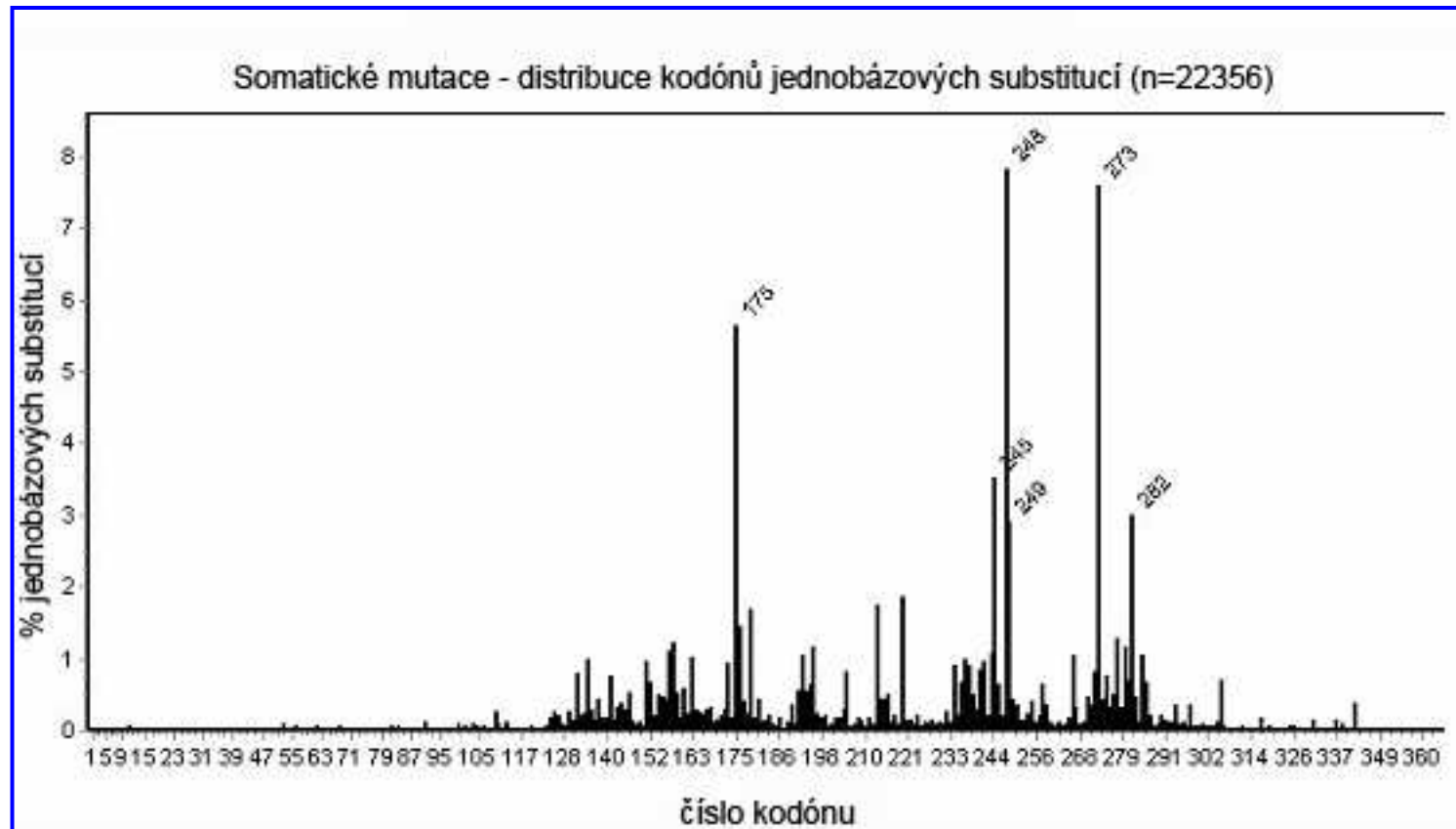
Distribuce somatických mutací p53

- distribuce není pravidelná:
- především centrální DNA vazebná doména - „hot spots“
- oligomerizační doména
- introny (v místech sestřihu)
- krátké delece a inserce (více v okrajových částech genu)



Distribuce somatických mutací p53

- databáze IARC: **27 000** mutací - 1300 variant (R15; 11/2010)
- distribuce není pravidelná, především centrální DNA vazebná doména - „hot spots“



Somatické mutace p53:
existuje vztah mezi genotypem a
fenotypem?

Karcinogeny zanechávají v genu „otisky prstů“

Čtyři případy zřetelně prokázané asociace mezi etiologickým činitelem a mutačním „otiskem“ u některého typu nádoru:

1. expozice slunečnímu záření - nemelanomové nádory kůže (tandemové transice CC to TT)
2. kouření tabáku - karcinomy plic (157, 158, 245, 248, 273)
3. aflatoxin B1 - karcinomy jater (249)
4. expozice plodinám kontaminovaným semeny *Aristolochia sp* - uroteliální nádory vyvíjející se v rámci BEN (Balkánská endemická nefropatie) (transverse A to T)

Somatické mutace p53: genotyp vs fenotyp: karcinomy prsu

Sporadické karcinomy prsu

- frekvence mutací p53 asi **20%**

Dědičné nádory prsu související s mutacemi BRCA1 a BRCA2

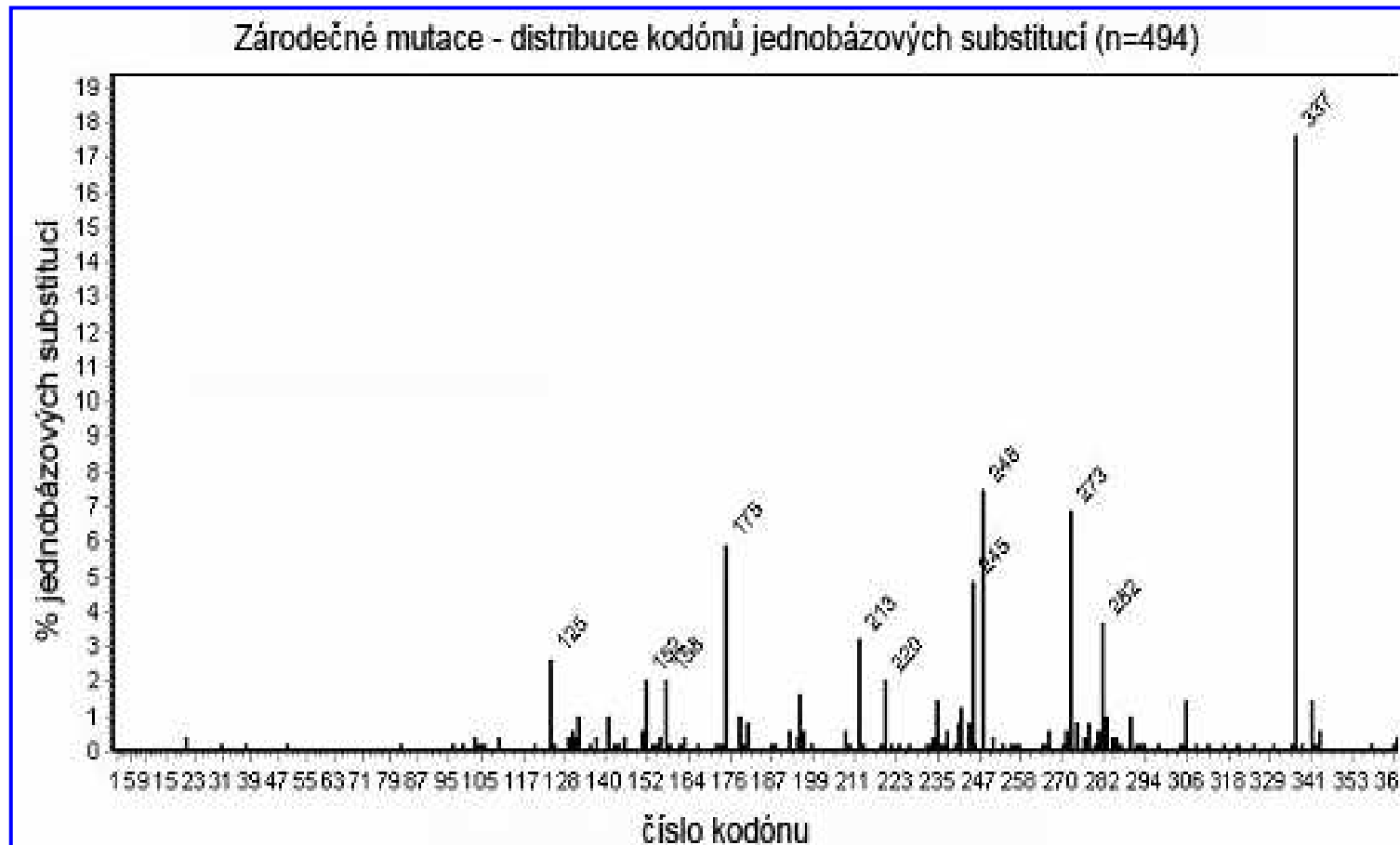
- frekvence mutací p53 asi **55%**
- odlišné spektrum mutací p53
- specifické, v jiných nádorech mnohem vzácnější typy mutací
- funkčně odlišný typ mutací p53

⇒ odlišný mechanismus uplatnění mutace p53 během vývoje nádoru?

⇒ vliv „genetického pozadí“ na frekvenci a typ mutace p53?

Distribuce vrozených mutací p53

- databáze IARC: **597** mutací (R15; 11/2010)



Mutace p53 v zárodečné linii: existuje vztah mezi genotypem a fenotypem?

- Míra transkripční aktivity ovlivňuje míru rizika (věk, spektrum nádorů).

Monti P, et al. *Clin Cancer Res* 2007, 13: 3789-3795

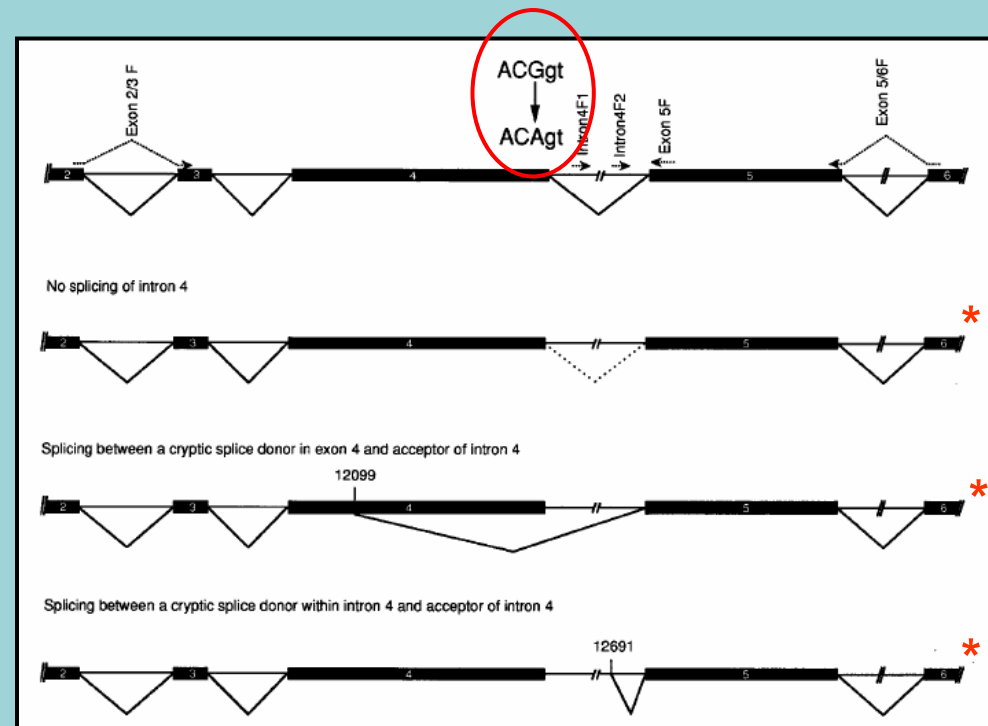
- Neobvyklá **tichá** mutace p53: záměna třetího nukleotidu v kodónu **125** (ACG-ACA; Thr-Thr) → nesprávný sestřih a vznik 3 aberantních variant mRNA.
- Netypické spektrum nádorů (žádné sarkomy, ACC v dospělém věku)

Varley JM, et al. *Oncogene* 1998, 16: 3291-3298

Warneford SG, et al. *Cell Growth Differ* 1992, 3: 839-846

Mutace p53 v zárodečné linii: genotyp vs. fenotyp: 125

- Analýza statutu p53 v rodině s LFLS (méně obvyklé spektrum nádorů ve vyšším věku) vedla k záchytu dosti neobvyklé tiché mutace p53.
- Záměna třetího nukleotidu v kodónu 125 (ACG-ACA; Thr-Thr).
- Mutace způsobuje nesprávný sestřih a vznik 3 aberantních variant mRNA p53*.



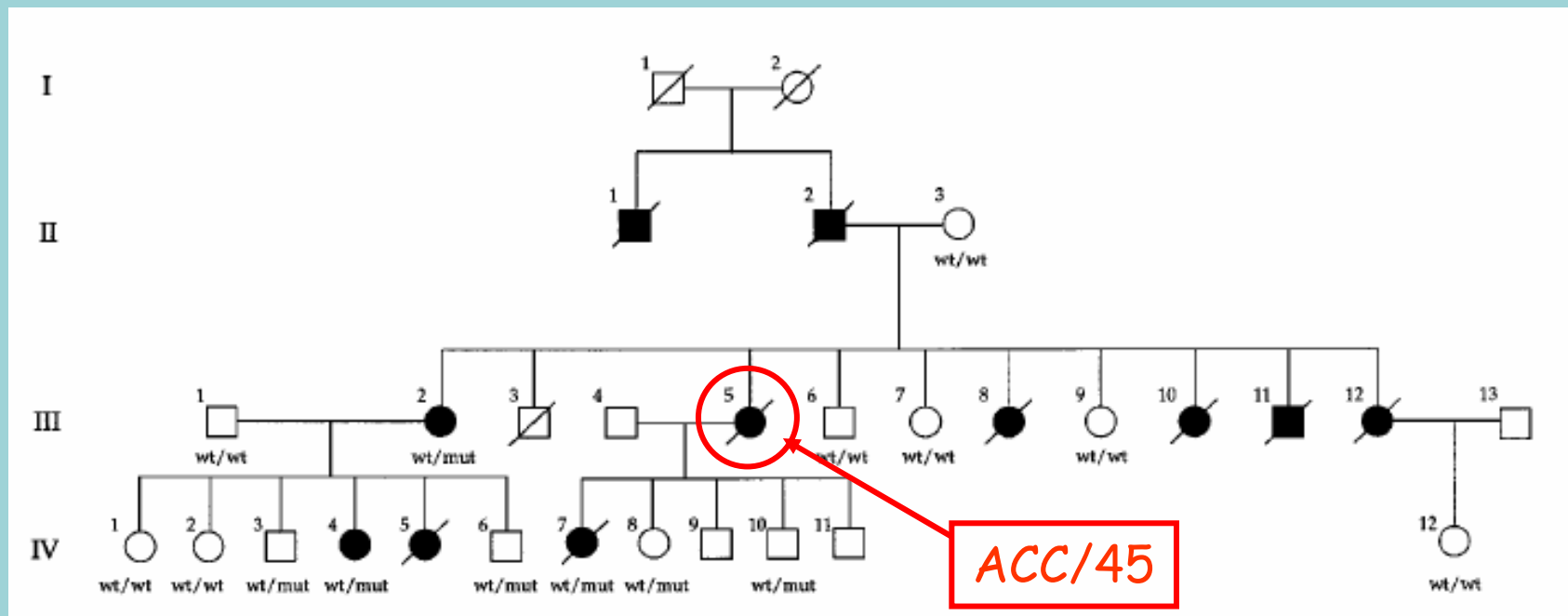
Varley JM, et al. *Oncogene* 1998, 16: 3291-3298

Mutace p53 v zárodečné linii: genotyp vs. fenotyp: 125

neobvyklé spektrum nádorů vyskytujících se ve vyšším věku

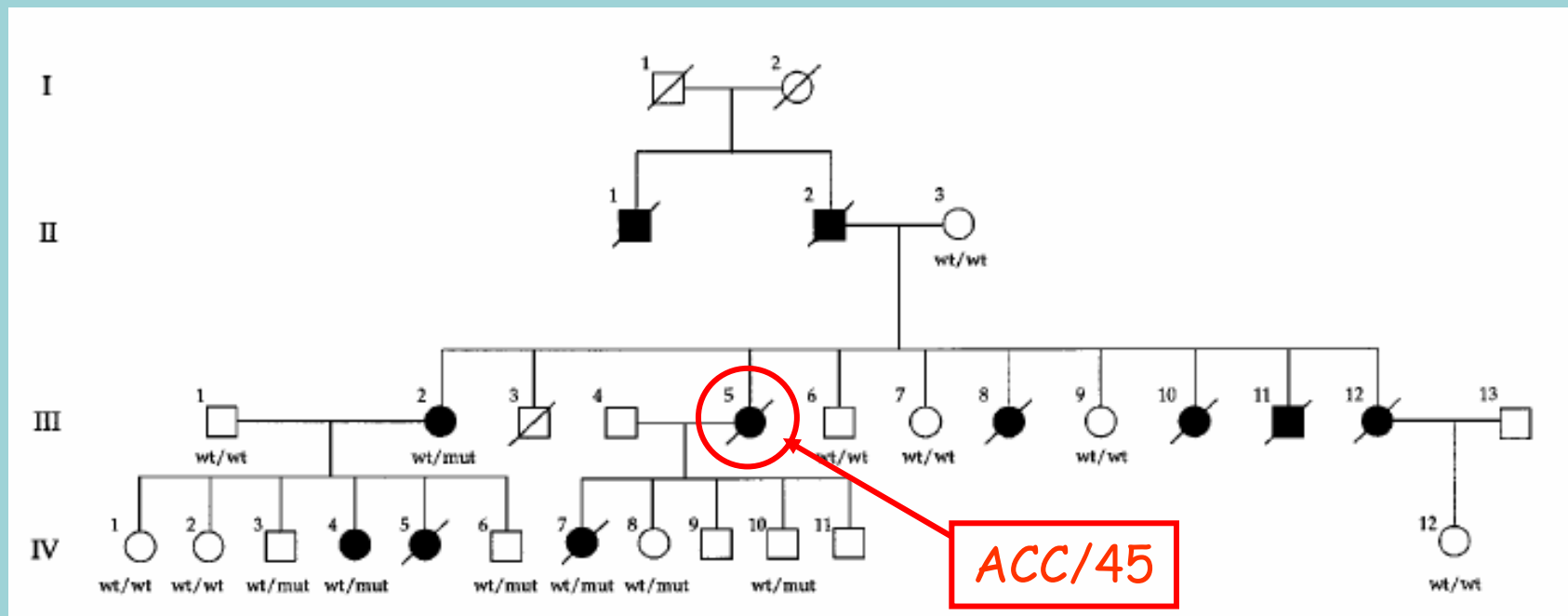
<i>Individual number (TP53 status where known)</i>	<i>Tumour diagnosis (age), age at death</i>
II-1	Carcinoma rectum (62), died 72
II-2	Carcinoma oesophagus (53), died 53
III-2 (wt/mut)	Comedocarcinoma breast (48) Bowen's disease (47,48)
III-5	Adrenocortical carcinoma (45), died 45 ←
III-8	Mucinous adenocarcinoma breast (44), died 47
III-10	Clear cell carcinoma ovary (20), died 20
III-11	Adenocarcinoma lung (43), died 43
III-12	Osteochondroma (22) Adenocarcinoma lung (39), died 40
IV-4 (wt/mut)	Comedo DCIS (38) Adenocarcinoma breast (38)
IV-5	Glioma spine (31), died 32
IV-7 (wt/mut)	Malignant mesothelioma (39), died 39

Mutace p53 v zárodečné linii: genotyp vs. fenotyp: 125



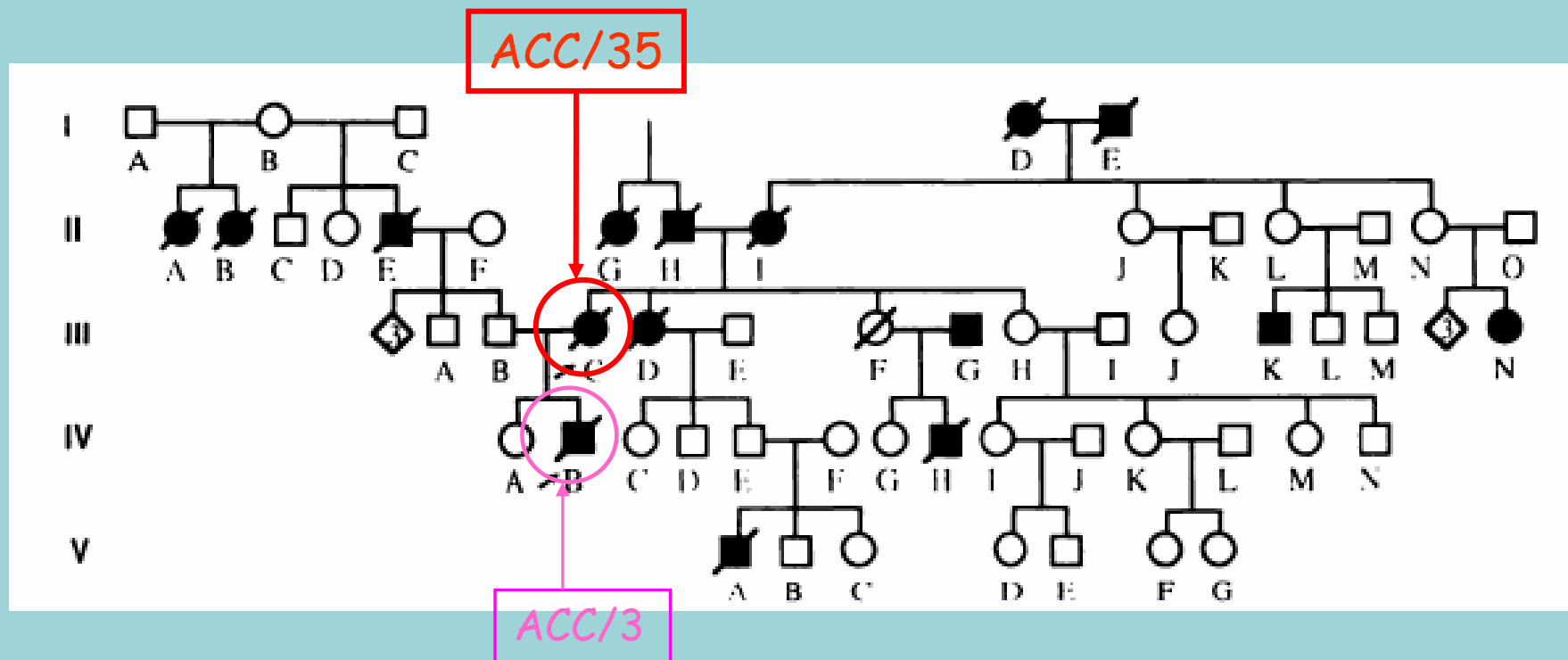
Varley JM, et al. *Oncogene* 1998, 16: 3291-3298

Mutace p53 v zárodečné linii: genotyp vs. fenotyp: 125



Varley JM, et al. *Oncogene* 1998, 16: 3291-3298

Mutace p53 v zárodečné linii: genotyp vs. fenotyp 125



Warneford SG, et al. *Cell Growth Differ* 1992, 3: 839-846



Unikátní brazilský příběh R337H...



Paraná

Minas Gerais

São Paulo

Adrenokortikální karcinomy - ACC

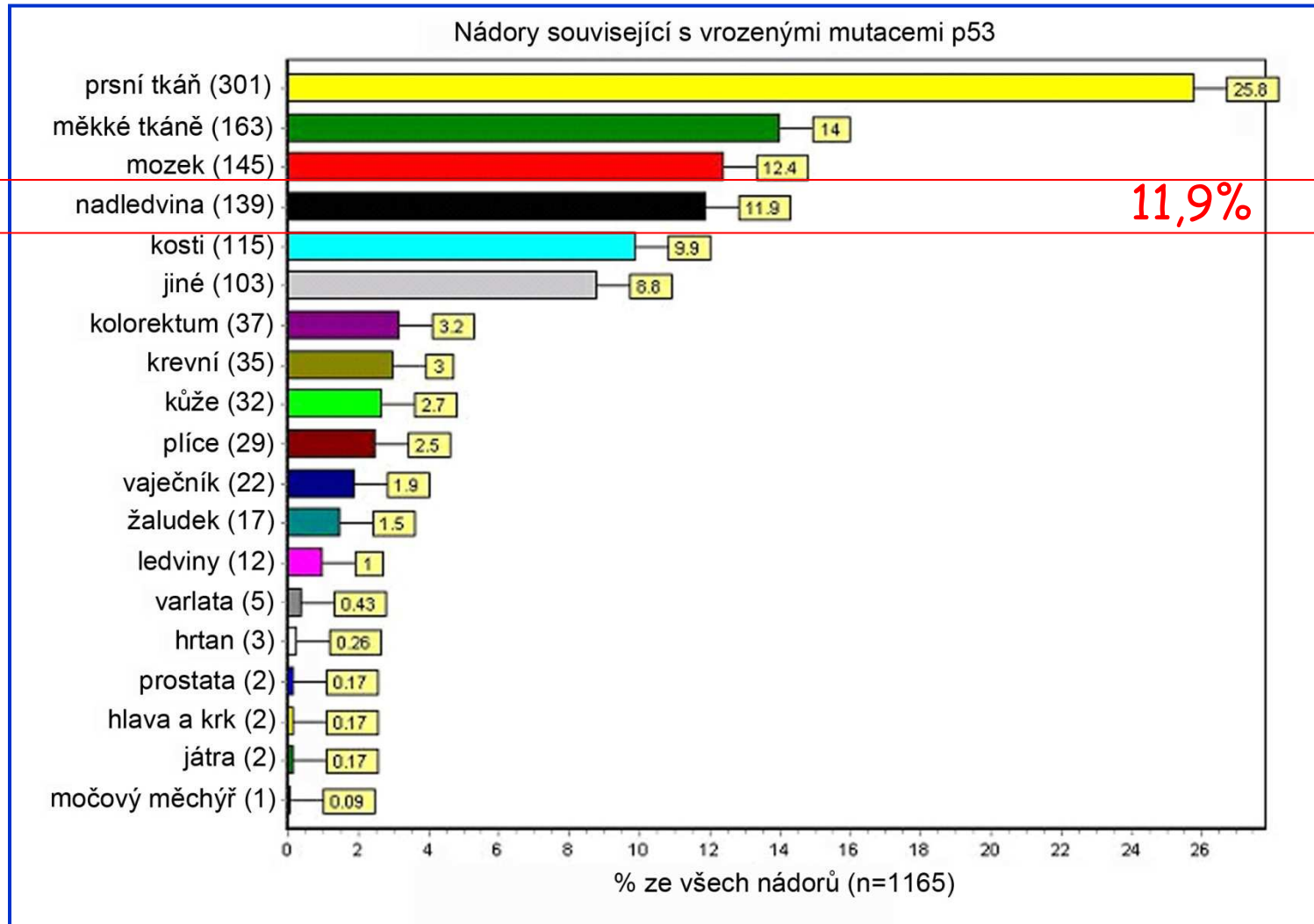
- maligní, velmi agresivní nádory vycházející z kůry nadledvin, často (až 50%) hormonálně aktivní
- výskyt v každém věku, s převahou v dětství a pak ve 4. a 5. dekádě
- incidence 1-2 případy na 1 milion obyvatel a 1 rok

- dětské ACC obvykle s genetickou predispozicí mut p53
- typicky do pátého roku života, dívky převažují
- velmi vzácné, incidence ~ **0,3** případu na 1 milion dětí do 15 let (USA)

Adrenokortikální karcinomy - ACC

- maligní, velmi agresivní nádory vycházející z kůry nadledvin, často (až 50%) hormonálně aktivní
- výskyt v každém věku, s převahou v dětství a pak ve 4. a 5. dekádě
- incidence 1-2 případy na 1 milion obyvatel a 1 rok
- dětské ACC obvykle s genetickou predispozicí mut p53
- typicky do pátého roku života, dívky převažují
- velmi vzácné, incidence ~ **0,3** případu na 1 milion dětí do 15 let (USA)
- v jižní Brazílii (São Paulo, Paraná a Minas Gerais) až 15x vyšší výskyt: **3,4-4,2** případu na 1 milion. Populace zde je heterogenní se silným evropským (portugalským, italským, španělským, německým) zastoupením spolu s brazilskými indiány a africkými vlivy, nemoc se vyskytuje u všech etnik, rodinná genetická predispozice k vývoji nádorů nebyla zaznamenána... příčina nejasná...

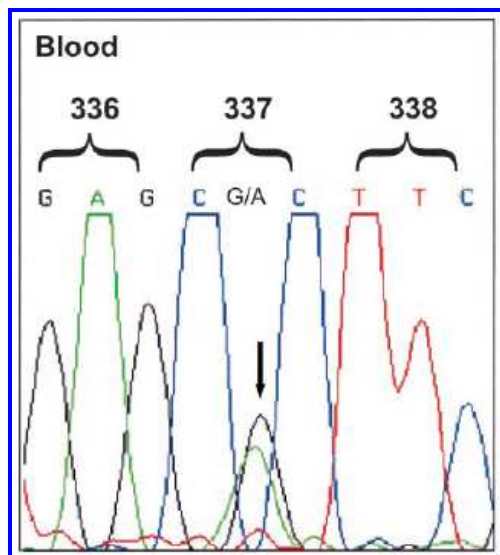
Zastoupení typů nádorů mezi pacienty FS



Unikátní brazilský příběh R337H

V nemocnici v Curitiba bylo v letech 1966-1999 ošetřeno 92 dětí s ACC.

Bylo osloveno 55 rodin, aby se zúčastnily genetického testování. Vyšetřeno bylo celkem 186 členů rodin včetně 21 rodičů, 29 sourozenců celkem 36 dětí s ACC (29 dívek, 7 chlapců):

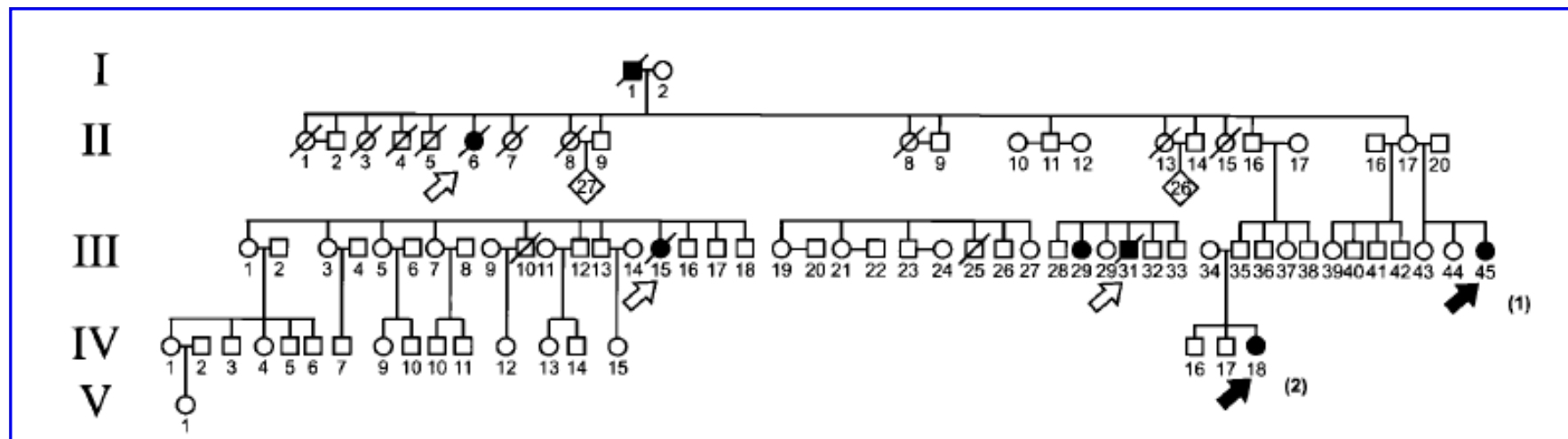


- 35 ze 36 probandů (97% !!) mělo zárodečnou mutaci p53 R337H
- mutace nalezena u rodičů, sourozenců a dalších příbuzných
- bez výskytu jiných nádorů v rodinné anamnéze (pouze 1 nádor u příbuzného 1. stupně!)

Ribeiro RC, et al. *PNAS* 2001, 98: 9330-9335

Analýza rodinné anamnézy

- Jediná rodina splňovala znaky LFL, v každé generaci alespoň jeden nádor (nádor střeva, prsu, leukemie).
- Ve 24 z 25 vyšetřených rodin probandů nebyly známky zvýšené predispozice k nádorům.
- Násobný výskyt ACC ve 4 rodinách.



Rodokmen rodiny s pěti případy ACC: dva zařazeny do studie

Ribeiro RC, et al. *PNAS* 2001, 98: 9330-9335

Unikátní brazilský příběh R337H

Závěry

- celkový potenciál mutace R337H vyvolávat nádory nízký - nízká penetrance
- výrazná orgánová specifičnost

⇒ velmi výjimečný jev v oblasti p53!

Funkční analýza R337H

- v transaktivačních testech a funkční analýze FASAY téměř úplná aktivita, srovnatelná se standardním - wt proteinem p53
- zachovaná schopnost indukovat apoptózu
- zachovaná schopnost suprimovat růst kolonií osteosarkomových linií SAOS-2

Ribeiro RC, et al. *PNAS* 2001, 98: 9330-9335

Chompret A, et al. *Br J Cancer* 2000, 82: 1932-1937

Podrobná funkční a strukturní analýza R337H

- struktura oligomerizační domény R337H je téměř shodná s wt p53, ale je méně stabilní
- mutant R337H je **pH-senzitivní** (inaktivní při $\text{pH} > 7,7$ a aktivní při $\text{pH} < 7,7$ ← v důsledku nedostatečné oligomerizace).

⇒ Spekulace:

- ?? Je příčinou změna pH (až k 7,9) v adrenokortikální tkáni, která je pozorovaná při rozsáhlé remodelaci nadledvin během prenatálního i postnatálního vývoje ??
- ?? Je to vysvětlení toho, že R337H jako jediná mezi mutacemi p53 predisponuje k vývoji jediného typu nádoru ??

Odhad penetrance R337H

- pravděpodobně se jedná o alelu s nízkou penetrancí

Odhad penetrance R337H I.

V São Paulo analyzováno 55 jedinců (37 dospělých a 18 dětí) s benigním nebo maligním ACC bez další rodinné historie nádorů. Dále studováno 21 asymptomatických blízkých příbuzných a 60 zdravých nepříbuzných kontrol.

- R337H nalezena u 19 pacientů; 14/18 (77,7%) dětí a 5/37 (13,5%) dospělých
- mutace zachycena i mezi zdravými příbuznými prvního stupně
- mutace nenalezena mezi kontrolami
- jedna probandka (F/2) byla homozygot R337H, oba její rodiče byli heterozygoti; ACC byl benigní

Odhad penetrance R337H I.

Analýza frekvence dědičnosti, genotypu a fenotypů 21 dětí a 5 dospělých s ACC v oblasti São Paulo.

- 12/16 (75%) dětí s ACC mělo zárodečnou mutaci R337H
- 8/9 dětí mutaci zdědilo od svého rodiče, který byl nositelem mutace, ale nevyvinul žádný nádor
- 15/17 vzorků s nádorem (78,9%) mělo mutaci R337H
- 1/5 (20%) dospělých s ACC měl mutaci R337H

Odhad penetrance R337H I.

Kompletně testovány rodiny 30 probandů s ACC (průměrný věk ACC 3,2 roku), nositelů mutace R377H (celkem 927 testovaných, z toho 695 členů rodin probandů včetně probandů):

- žádná rodina nesplnila kriteria LFS, 7 rodin zařazeno mezi LFL;
- ze 695 jedinců z rodin probandů bylo 240 (34,5%) nositelů mutace R337H, zatímco nikdo z kontrolních rodin nebyl nositelem mutace;
- 50% rodičů a prarodičů bylo nositeli mutace (žádná *de novo* mutace);
- nalezeno 31 dalších nádorů mezi příbuznými 1. a 2. stupně;
- celková penetrance odhadnuta na **9,9%** - zatímco u klasického LFS je celoživotní riziko nádoru asi **75%** u mužů a téměř **100%** u žen;
- mezi nositeli mutace R377H s nádorem představují nemocní s ACC **57%** - zatímco u klasického LFS ACC představují asi **12%**.

Odhad penetrance R337H I: závěry

- ⇒ potvrzena vysoká incidence alely R337H u dětí s ACC v jižní Brazílii
- ⇒ potvrzena vysoká frekvence mutace R337H u sporadických ACC
- ⇒ alela R337H je vždy zděděna, vznik *de novo* vzácný
- ⇒ alela R337H je málo penetrantní
- ⇒ alela R337H má vysokou frekvenci u dětí s ACC, ale vyskytuje se i u dospělých s ACC

Ribeiro RC, et al. *PNAS* 2001, 98: 9330-9335

Latronico AC, et al. *J Clin Endocrin Met* 2001, 86: 4970-4973

Sandrini F, et al. *Horm Metab Res* 2005, 37: 231-235

Figueiredo BC, et al. *J Med Genet* 2006, 43: 91-96

Odhad penetrance R337H II.

Studováno 45 brazilských (São Paulo, Porto Alegre, Rio de Janeiro) nepříbuzných jedinců z rodin splňujících kriteria LFS nebo LFL.

- ve 13 případech (28,9%) nalezena zárodečná mutace p53;
- z toho 6 pacientů (46,1%) mělo mutaci R337H;
- rodiny s mutací R337H měly široké spektrum nádorů, včetně ca prsu (30,4%), mozku (10,7%), sarkomů (10,7%) a ACC (8,9%);
- mezi 57 jedinci bez nádorové historie nebyla nalezena ani jedna mutace p53 (ani R337H).

⇒ mutace R337H predisponuje k vývoji širokého spektra nádorů!

Je mutace R337H spojena s LFS a LFL?

- Po přezkoumání dat v Achatz et al. 2007 - žádná ze studovaných rodin nesplňuje kritéria LFS, pouze LFL.
 - Jiný design studie, jinak definován problém! V původní studii Figueiredo et al. 2006 by podle stejných kritérií bylo zahrnuto pouze 7 dětí/rodin ze 30, ostatních 27 dětí/rodin nejevilo žádné znaky zvýšené dispozice k nádorům kromě ACC.
 - Navíc další odlišnosti ve spektru nádorů nositelů mutace R337H a jiné p53 mutace než jen odlišná frekvence ACC. Také jiná frekvence nádorů žaludku, osteosarkomů a leukemií/lymfomů.
- ⇒ Co když změněná dispozice k nádorům je dána kombinací R337H a dalšího kooperujícího genetického faktoru??

Mutace R337H a nádory prsu I

Analýza 123 žen s nádorem prsu a 223 adekvátních zdravých kontrol (jižní Brazílie):

- mutace R337H nalezena u 3 žen s nádorem (2,4%), ale u žádné kontroly.
- Anamnéza dvou z těchto 3 žen odpovídala kritériím LFL.

⇒ R337H může významně navýšit riziko vývoje nádoru prsu (pravděpodobně v souvislosti s dalšími genetickými vlivy).

Mutace R337H a nádory prsu II

Analýza 750 zdravých žen - dobrovolnic (40-69 let) z Porto Alegre.

- Mutace R337H nalezena u dvou žen (**0,3%**), které byly příbuzné 4. stupně a udávaly historii výskytu různých nádorů v rodině (ne LFS ani LFL).
- Dalším testováním v rodině nalezeni 3 další nositelé, jedna žena vyvinula ca prsu ve 36 letech.
- Odhadovaná frekvence výskytu alely **0,0013**.

⇒ R337H je nízkopenetrantní alela, ovšem s vysokým výskytem v jižní Brazílii, asi 10 až 20x vyšším než je výskyt ostatních mutací p53 souvisejících s vývojem LFS nebo LFLS.

Mají nositelé R337H společného předka?

- Analýza 4 polymorfismů v oblasti genu p53 u 17 nepříbuzných nositelů mutace R337H: alespoň některé alely vznikly nezávisle

⇒ spíše vyloučili možnost společného předka: efekt zakladatele je nepravděpodobný

Mají nositelé R337H společného předka?

- 2 vysoce polymorfní intragenové markery, 22 pacientů - nepříbuzných nositelů alely R337H, 60 kontrol:

⇒ velmi pravděpodobně jeden společný předek všech nositelů mutace R337H.

Mají nositelé **R337H** společného předka?

- 29 polymorfní intragenové markery,
- 12 nepříbuzných rodin - celkem 48 nositelů alely R337H

Mají nositelé **R337H** společného předka?

- 29 polymorfní intragenové markery,
 - 12 nepříbuzných rodin - celkem 48 nositelů alely R337H
-
- 11 rodin z jižní Brazílie
 - 1 rodina z Francie: stejná alela R337H detekována ve Francii u 4leté probandky s ACC a její rodiny portugalského původu

Chompret A, et al. *Br J Cancer* 2000, 82: 1932-1937

Garritano S, et al. *Hum Mutation* 2010, 31: 143-150

Role mutací p53 ve vývoji dětských nádorů, 2000

Smyslem práce bylo určit roli vrozených mutací p53 při vývoji dětských nádorů (Francie).

*Zařazeny bílé děti se solidním nádorem a alespoň jedním příbuzným (1. nebo 2. stupně) s nádorem ve věku do 46 let, nebo s násobnými nádory (celkem **268** jedinců)*

- Zachyceno (sekvenování, FASAY), 17 mutací p53 (6,3%). 13 z nich bylo zděděno, 4 byly de novo.*
- Výpočet celoživotního rizika pro nositele mutace: 73% pro muže, téměř 100% pro ženy.*
- Nebyly zachyceny mutace s nízkou penetrancí.*
- Většina mutací detekována u rodin splňujících kriteria LFS (8) nebo LFL (4). Jen 5 mimo tato kriteria.*

Role mutací p53 ve vývoji dětských nádorů, 2000

Family no.	Exon no.	Position codon no.	Mutation	Consequence	Status	Detection
1975	Intron 4/ Exon 5	[126–132]	Addition G within splice acceptor site	→ alternative splicing → In phase deletion [126–132]	De novo	Yeast+Sequence
2471	4	125	ACG→ACC	retention 109 bp from intron 4	Inherited	Yeast+Sequence
54	5	158	CGC→GGC	Arg→Gly	Inherited	Sequence+Yeast
11	5	175	CGC→CAC	Arg→His	Inherited	Yeast+Sequence
7 ^c	6	deletion within 215	AGT→AG	Frameshift→214 <i>bona fide</i> + 31 illegitimate residues	Inherited	Sequence
151 ^b	7	248	CGG→TGG	Arg→Trp	Inherited	Sequence+Yeast
1128	7	245	GGC→AGC	Gly→Ser	De novo	Yeast+Sequence
2453	8	[264–265]	del ACT	In phase deletion Leu#264	Inherited	Yeast+Sequence
231 ^b	8	273	CGT→GGT	Arg→Gly	Inherited	Sequence+Yeast
66	8	273	CGT→CAT	Arg→His	Inherited	Yeast+Sequence
867 ^b	8	282	CGG→TGG	Arg→Trp	Inherited	Sequence+Yeast
1497	8	282	CGG→TGG	Arg→Trp	Inherited	Sequence+Yeast
2454	8	273	CGT→TGT	Arg→Cys	Inherited*	Yeast+Sequence
2028	8	282	CGG→CAG	Arg→Gln	Inherited	Yeast+Sequence
147	8	273	CGT→CIT	Arg→Leu	De novo	Sequence+Yeast
641	8	281	GAC→GIC	Asp→Val	De novo	Yeast+Sequence
108	9	337	CGC→CAC	Arg→His	Inherited	Sequence

- rodina 108: proband - ACC (F/4), příbuzný (strýc z otcovy strany) - nádor mozku (M/33)
- rodina 147: proband ACC (F/1) a rabdomyosarkom (F/1)

Mají nositelé R337H společného předka?

- 29 polymorfní intragenové markery,
- 12 nepříbuzných rodin - celkem 48 nositelů alely R337H
- 11 rodin z jižní Brazílie
- 1 rodina z Francie: stejná alela R337H detekována ve Francii u 4leté probandky s ACC a její rodiny portugalského původu

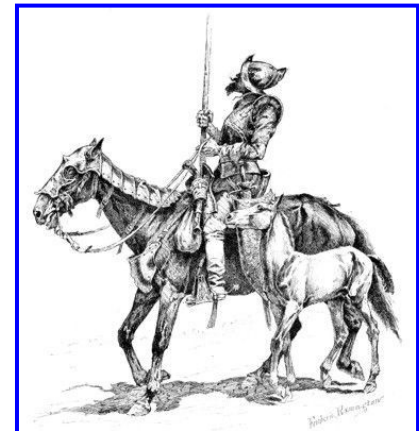
Chompret A, et al. *Br J Cancer* 2000, 82: 1932-1937

- všichni nositelé mutace mají stejný haplotyp - A3, který ukazuje na předka z Evropy
- ⇒ **jednoznačně potvrzen efekt zakladatele**

Garritano S, et al. *Hum Mutation* 2010, 31: 143-150

R337H: efekt zakladatele

- ⇒ Byl „zakladatelem“ brazilské linie Portugalec?
- ⇒ Mnoho měst a vesnic jižní Brazílie vznikalo v XVIII. a XIX. století podél osy známé jako „Tropeiro route“. Tropeiros byli obchodníci, převážně portugalského původu, kteří dlouhodobě cestovali mezi São Paulo a Porto Alegre a určitě se významně podíleli na osídlování této oblasti.
- Tyto specifické historické a demografické okolnosti mohly přispět k tak rozsáhlému rozšíření alely R337H, spolu se specifickou dynamikou penetrance.



Garritano S, et al. *Hum Mutation* 2010, 31: 143-150

Tropeiros? Conquistadors?

Za hranicí příběhu R337H

Brazilský příběh: mutace R337H + dětské ACC + jižní Brazílie

1. Je ACC jediný typ nádoru, k němuž R337H predisponuje?
2. Je R337H jediná mutace p53 tak výrazně predisponující právě k ACC?

Za hranicí příběhu R337H

Brazilský příběh: mutace R337H + dětské ACC + jižní Brazílie

1. Je ACC jediný typ nádoru, k němuž R337H predisponuje?
 2. Je R337H jediná mutace p53 tak výrazně predisponující právě k ACC?
- již zmíněný karcinom prsu
 - dětský karcinom choroidálního plexu: vyskytuje se v jižní Brazílii se zvýšenou incidencí, v 60% případů spojen s mutací R337H

Seidinger AL, et al. *Cancer* 2011, 117: 2228-2235

Custodio G, et al. *PLoS One* 2012, 6: e18015

Za hranicí příběhu R337H

Brazilský příběh: mutace R337H + dětské ACC + jižní Brazílie

1. Je ACC jediný typ nádoru, k němuž R337H predisponuje?
2. Je R337H jediná mutace p53 tak výrazně predisponující právě k ACC?

- opakovaně se vyskytující zárodečné mutace p53 u dětských ACC: P152L, R158H - obě ts (= parciálně inaktivující) a s nízkou penetrancí

Varley JM, et al. *Am J Hum Genet* 1999, 65: 995-1006

- R175L; sestřihová mutace pozměňující C-konec proteinu p53: zárodečné, s nízkou penetrancí, pouze částečná ztráta funkce, spojeny s ACC, ale ne LFS nebo LFL

West AN, et al. *Cancer Res* 2006, 66: 5056-5062

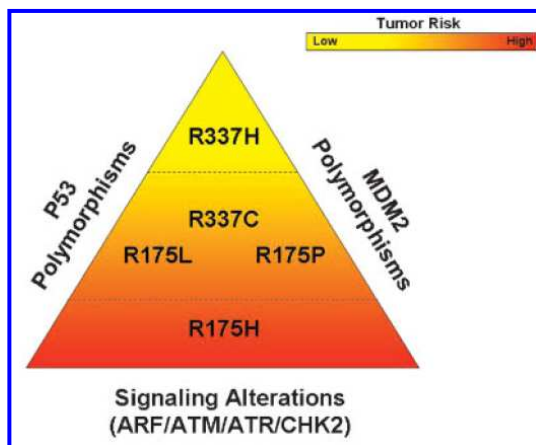
Pinto EM, et al. *Familial Cancer* 2011, 10: 141-146

Za hranicí příběhu R337H

Brazilský příběh: mutace R337H + dětské ACC + jižní Brazílie

1. Je ACC jediný typ nádoru, k němuž R337H predisponuje?
2. Je R337H jediná mutace p53 tak výrazně predisponující právě k ACC?

⇒ možná právě jen částečná ztráta aktivity p53 a nízká penetrance jsou vlastnosti mutací p53, které přednostně predisponují k dětskému ACC



⇒ gradientový efekt mutací p53

stupeň poškození p53 má vliv na fenotyp (spektrum nádorů, časnost výskytu)

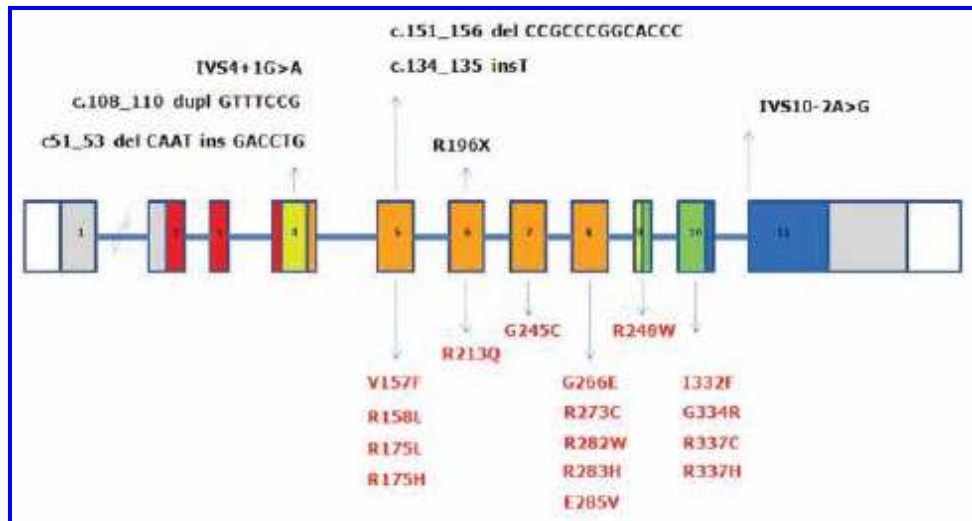
Zambetti GP. *J Cell Physiol* 2007, 213: 370-373

Za hranicí příběhu R337H

Brazílský příběh: mutace R337H + dětské ACC + jižní Brazílie

1. Je ACC jediný typ nádoru, k němuž R337H predisponuje?
2. Je R337H jediná mutace p53 tak výrazně predisponující právě k ACC?

mezinárodní registr a tkáňová banka dětských ACC: 48 případů
- 23 nezávislých zárodečných mutací, pouze 3 opakovaně:
R175H, R273C a R337H.



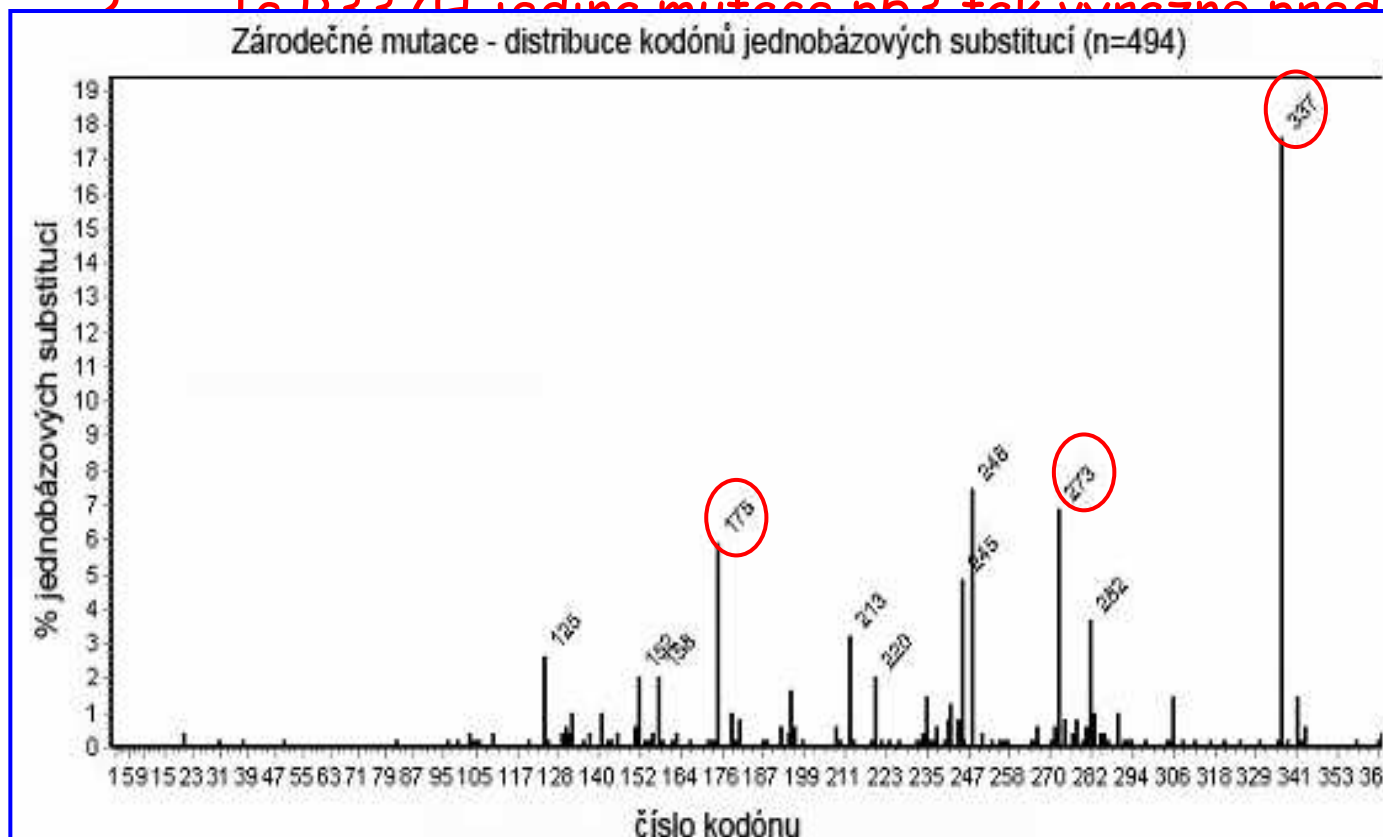
Pinto EM, et al. *Genes Cancer* 2011, 2: 485-490

Za hranicí příběhu R337H

Brazilský příběh: mutace R337H + dětské ACC + jižní Brazílie

1. Je ACC jediný typ nádoru, k němuž R337H predisponuje?

2. Je R337H jedině mutace p53 tak výrazně predisponující právě



ACC: 48 případů
opakovaně:

Pinto EM, et al.
Genes Cancer 2011,
2: 485-490

Za hranicí příběhu R337H

Brazilský příběh: mutace R337H + dětské ACC + jižní Brazílie

1. Je ACC jediný typ nádoru, k němuž R337H predisponuje?
2. Je R337H jediná mutace p53 tak výrazně predisponující právě k ACC?

⇒ Mutované alely s nízkou penetrancí výrazně predisponují k vývoji dětských ACC, ale zároveň se dětské ACC často vyskytují v rodinách s LFS a LFL, které mají v zárodečné linii mutace p53 s vysokou penetrancí.

Závěry I

- incidence dětských ACC je v JB více než 10x vyšší než v jiných částech světa
- dětské ACC v JB extrémně často spojeny se zárodečnou mutací *p53* R337H
- frekvence výskytu alely R337H v JB je 0,0013, asi 10 až 20x vyšší než frekvence výskytu jiných mutovaných alel *p53*
- protein p53 s histidinem v pozici 337 si zachovává vysokou míru transkripčně aktivační schopnosti, ale je extrémně citlivý k pH
- penetrance alely R337H je velmi nízká (asi 10%)
- vrozená mutace R337H se neobjevuje *de novo*
- nositelé alely R337H v JB (?) mají společného předka - jednoznačně prokázán „efekt zakladatele“

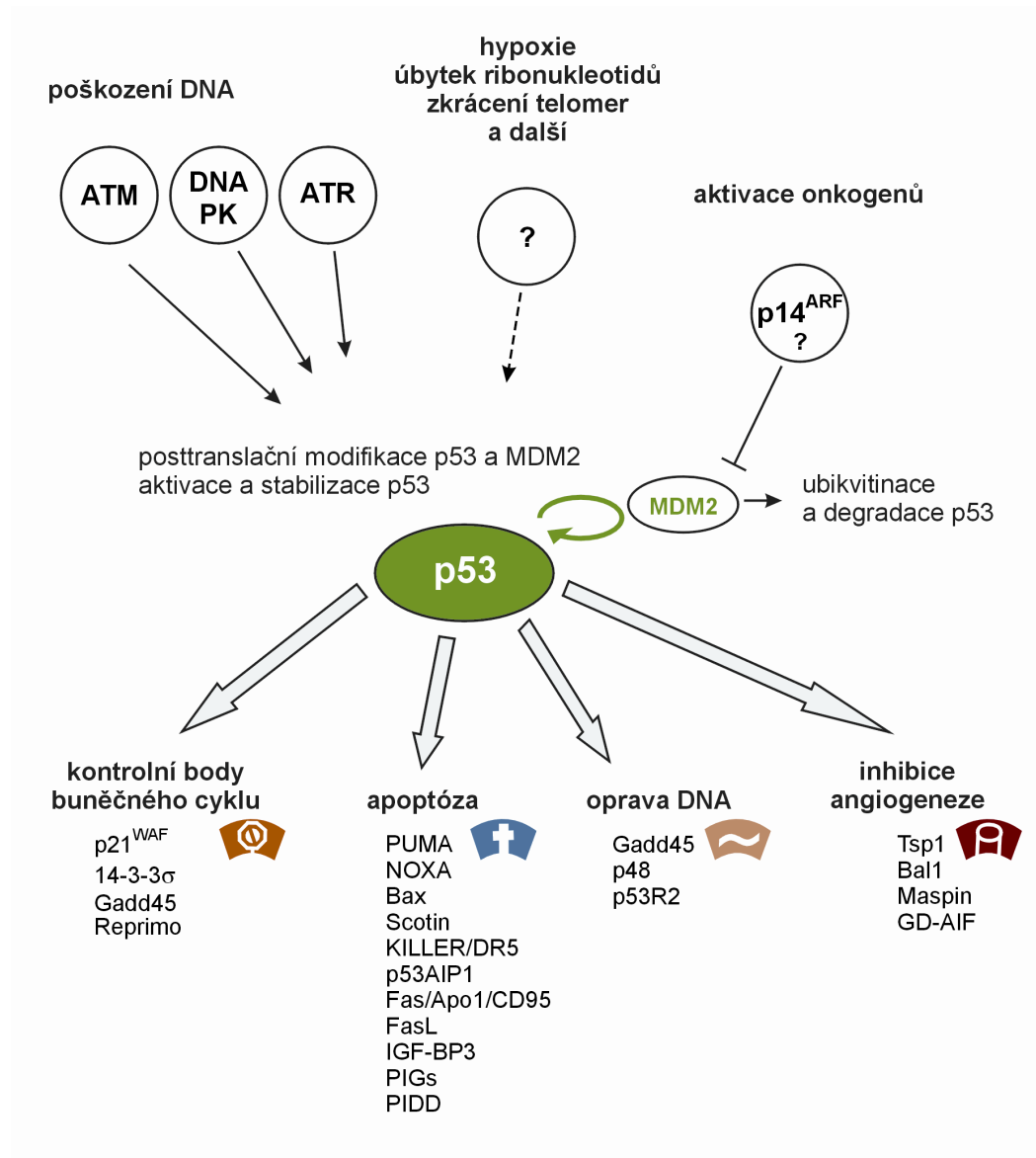
Závěry II: na úhlu pohledu záleží!



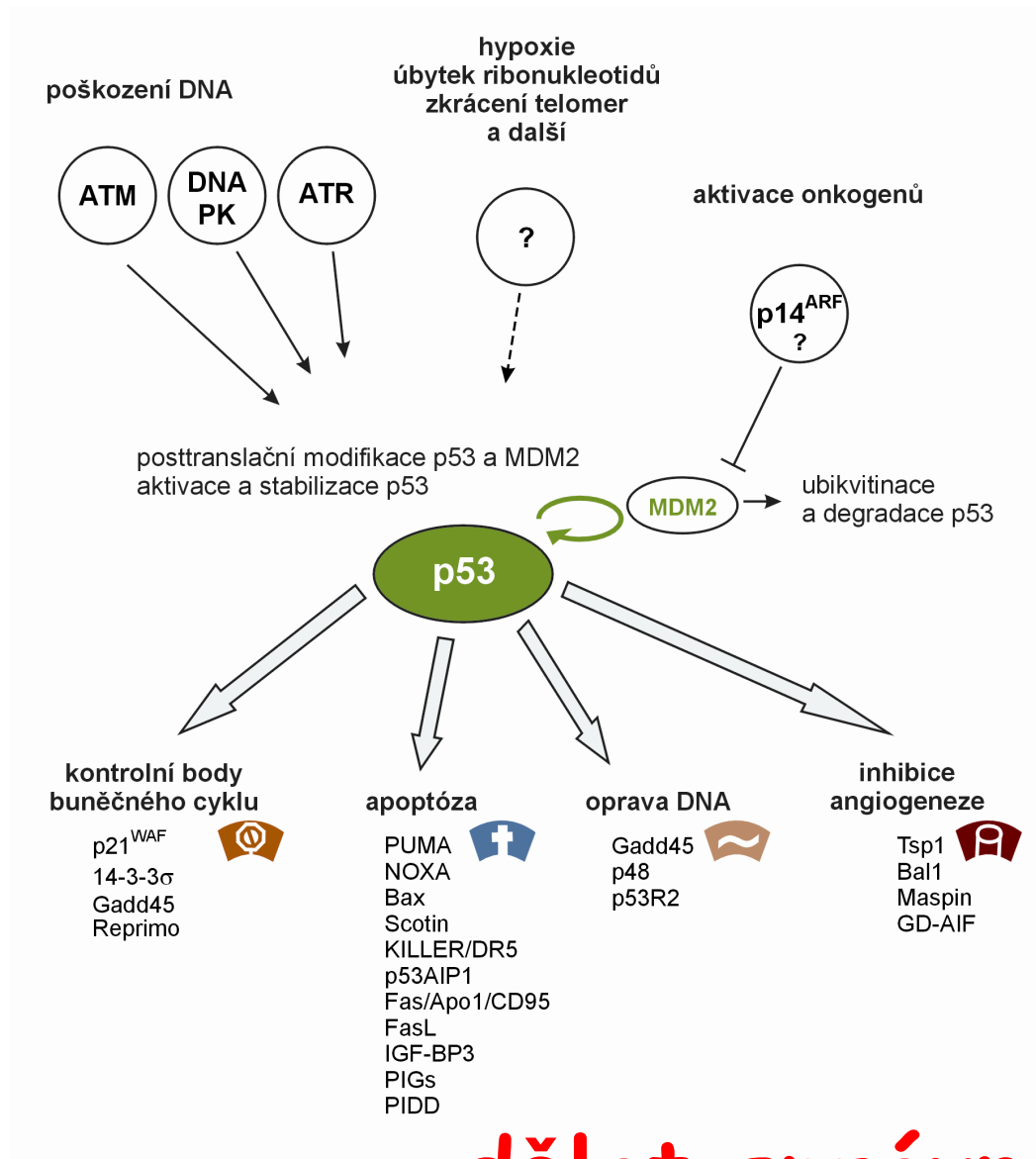
úhel pohledu... a filtry vnímání (zkušenosti, očekávání,...)

Závěry III ... p53

Úloha p53 v buňce...



Úloha p53 v buňce...



... dělat správná rozhodnutí

Modlitba (František z Assisi)



Bože, dej mi odvahu změnit věci,
které změnit mohu, vyrovnanost,
abych se smířil s věcmi, které změnit
nemohu, a moudrost, abych je od sebe
dokázal rozpoznat...

Modlitba (František z Assisi)



- Bože, dej mi odvahu změnit věci, které změnit mohu: ← zástava buněčného cyklu, opravné mechanismy,...
- Vyrovnanost, abych se smířil s věcmi, které změnit nemohu:
- A moudrost, abych je od sebe dokázal rozpoznat:

Modlitba (František z Assisi)



- Bože, dej mi odvahu změnit věci, které změnit mohu: ← zástava buněčného cyklu, opravné mechanismy,...
- Vyrovnanost, abych se smířil s věcmi, které změnit nemohu:
← apoptóza, senescence,...
- A moudrost, abych je od sebe dokázal rozpoznat:

Modlitba (František z Assisi)



- Bože, dej mi odvahu změnit věci, které změnit mohu: ← zástava buněčného cyklu, opravné mechanismy,...
- Vyrovnanost, abych se smířil s věcmi, které změnit nemohu:
← apoptóza, senescence,...
- A moudrost, abych je od sebe dokázal rozpoznat: ← p53

Jan Skácel, Petr Ulrich: Modlitba



Pane, ať si stéblo trávy nebo obyčejný list,
prosím dej, ať aspoň trochu umím ve tvých vzkazech číst.
/: Prosím dej, ať řeči stromů aspoň trochu rozumím, ať vědí,
že se učím a že nic neumím. :/

Dej, ať zlomím svoji pýchu, dej mi hledat pokoru,
když se trápím zbytečnostmi, ať pohlédnu nahoru.
Ať mi stačí dohlédnout, na obzor, který jsi mi dal, ať se smírím se vším, co
jsi mi kdy vzal.

A dej mi sílu snášet pokorně, co změnit nemám sil,
odvahu abych to nač stačím, na tomhle světě pozměnil.
A také prostý rozum, který vždycky správně rozezná,
co se změnit nedá a co se změnit dá.

**Děkujeme
za
pozornost!**



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ