

# Obecná onkologie II

# Klasifikace nádorů

- podle výchozí tkáně
  - - epitelové
    - z povrchového epitelu
    - ze žlazového epitelu
    - ze specializovaných orgánů
  - - mezenchymové
    - měkkých tkání
    - kostí
    - hematopoetické
  - - neuroektodermové
    - CNS
    - PNS
  - - germinální
- subklasifikace podle:
    - - přesného histologického typu
    - - biologické povahy
      - benigní
      - nejisté biologické povahy
      - borderline
      - karcinomy in situ
      - maligní
  - primární / metastatické
  - dětského věku / dospělých

# Biologická povaha nádorů

## (a jejich potenciální vývoj...)

- benigní
- maligní
- nejisté biologické povahy (semimaligní, potenciálně maligní)
- borderline nádory (hraniční malignity)
- in situ nádory (prekancerózy!)

# Biologická povaha nádorů

## (a jejich potenciální vývoj...)

- diferenciace nádorových buněk (přítomnost anaplázií)
- rychlost růstu nádoru
- chování k okolním tkáním
- schopnost metastázování

# Diferenciace nádorových buněk

## Benigní nádory

- podobnost s buňkami výchozí tkáně
- mohou být mikroskopicky obtížně odlišitelné od nenádorové tkáně
- makroskopie! (lipom, leiomyom)
- obvykle nejsou jaderné atypie
- nejsou atypické mitózy

## Maligní nádory

- různý stupeň diferenciace, často variabilní (heterogenní nádorová populace)
- většinou mikroskopicky snadno odlišitelné od nenádorové tkáně
- často výrazné jaderné atypie
- mohou být atypické mitózy

# Cytologické (jaderné) rysy

## Atypie

- obecný termín
- nepravidelnosti jader  
různého původu
- - reaktivní
- - zánětlivé
- - postiradiační
- - prekancerózy
- - nádory

## Dysplazie, anaplazie

- používáno u prekanceróz  
(dysplazie) a nádorů  
(anaplazie)
- nejsou reaktivního původu!

# Rychlost růstu

## Benigní nádory

- obvykle pomalu (měsíce až roky)
- vzácně rychle (hormonální stimulace v graviditě)

## Maligní nádory

- variabilní
- extrémně rychlé ... velmi pomalý růst (mnoho let)
- záleží na histologickém typu nádoru, proliferační frakci nádorových buněk, rychlosti dělení

# Rychlost růstu

- nádorové buňky musí podstoupit alespoň 30 dělení k vyprodukování  $10^9$  buněk (1 g)
- dalších 10 dělení vyprodukuje  $10^{12}$  buněk (1 kg)
- diagnostické markery k detekci časných nádorů!
- většina buněk v časně fázi růstu v replikační fázi, v době detekce již obvykle < 20 %



# Benigní nádor

- obvykle dobře diferencovaný
- cytologie:
  - - nejsou jaderné anaplazie
  - - nejsou atypické mitózy
- ohraničený růst
  - - expanzivní
- nezakládá metastázy
- často opouzdřený

# Benigní nádor

- benigní biologická povaha x benigní chování...
- lokální působení nádoru! (mechanické)
- nádory mozku
- inzulinom

# Maligní nádor

- variabilně diferencovaný
- cytologie:
  - - mohou být jaderné anaplazie
  - - mohou být atypické mitózy
- neohraničený růst
  - - destruktivní
  - - infiltrativní
- zakládá metastázy
- většinou neopouzdrěný

# Maligní nádor

- maligní biologická povaha x maligní chování...
- prognostické parametry
- - velikost, stav uzlin, metastázy (TNM) ...
- histologický typ nádoru
- - karcinomy kůže (dlaždicobuněčný, bazaliom)

# Semimaligní nádor (borderline nádor)

- nejistá biologická povaha
- obtížně stanovitelné biologické chování
- - potenciálně maligní
- nejsou jednoznačné parametry, které by umožnili biologickou povahu stanovit
  
- mohou se např šířit lokálně agresivně (jako maligní nádory), ale vzácně metastázují
- mohou metastázovat, ale nelze predikovat

# Preneoplastické stavy

- získané preneoplastické stavy
  - - prekancerózy
- vrozené preneoplastické stavy
  - - multifaktoriální typ dědičnosti
  - - dominantně dědičné

# Prekanceróza

- 1) musí být důkazy o tom, že léze označená jako prekanceróza je spojená se zvýšeným rizikem vzniku maligního nádoru
- 2) pokud dojde k progresi v maligní nádor, ten musí vznikat z jejích buněk
- 3) musí se odlišovat od normální tkáně, ze které vzniká
- 4) musí se lišit od maligního nádoru, který z ní vzniká, má s ním však shodné některé (ne všechny) fenotypické a genetické rysy
- 5) existuje metoda, kterou může být diagnostikována

Berman JJ et al. Precancer: a conceptual working definition -- results of a Consensus Conference. *Cancer Detect Prev.* 2006;30(5):387-94.

# Prekancerózy

- získané preneoplastické stavy
- - stacionární (nejeví morfologické známky maligního zvratu, ale empiricky je známo že k němu může dojít)
- - progredientní (vykazuje morfologické známky svědčící pro zvýšenou růstovou aktivitu a proliferaci)
- - carcinoma in situ (morfologické znaky zhoubného nádoru, ale neinvaduje!)



# Stacionární

- **hyperplazie**  
(pseudepiteliomatózní  
u chronické iritace)
- **mataplazie**
  - - skvamózní u kuřáků
  - - intestinální u  
Barrettova jícnu
  - - intestinální u infekce H.  
pylori

# Progredientní

- **dysplazie**
- - v metaplazii
- - normálním epitelu
- - v adenomu

# Carcinoma in situ

- morfologické znaky malignity - ale není invaze!
- - jaderné atypie
- - mitózy
- - ztráta polarity epitelu

# Benigní nádory

- některé mohou být prekanceróza
- adenomatózní polyp střeva → adenokarcinom

# Vrozené preneoplastické stavy

- - multifaktoriální typ dědičnosti
- - dominantně dědičné
  - familiární adenomatózní polypóza (APC gen)
  - Li-Fraumeniho syndrom (TP53 gen)
  - neurofibromatóza (NF1 gen)
  - Lynchův syndrom (MMR proteiny)

# Kolorektální karcinom

- 3 základní cesty karcinogeneze
  - - klasická (sekvence adenom-karcinom)
  - - karcinogeneze s MSI (mikrosatelitovou instabilitou)
  - - karcinogeneze na podkladě hypermetylace promotorů
- asi 20 % familiárních
- asi 5-10 % se vyvíjí v rámci AD syndromů
  - - FAP (familiární adenomatózní polypóza)
  - - Lynchův syndrom (HNPCC)

# Klasická cesta (adenom- karcinom)

- asi 60 % všech kolorektálních karcinomů
- mutace onkosupresorického genu APC (součást signální dráhy Wnt/Wingless)
- inaktivace druhé alely (delece, mutace)
- inaktivace signální dráhy APC
- ⇒ vznik adenomu
- kumulace dalších genetických změn (mutace RAS, DCC, SMAD4...) ⇒  
progrese onemocnění, vznik karcinomu

# Karcinogeneze s MSI

- MSI asi u 15 % pacientů s kolorektálním karcinomem, z toho asi 3 % pacienti s HNPCC (Lynchův syndrom)
- porucha funkce „mismatch“ reparačních genů
- (proteiny vytvářející systém oprav chybného párování bazí při replikaci DNA)
- Lynchův syndrom
  - - zárodečná mutace některého z MMR genů
  - - následuje somatická inaktivace druhé alely



# Karcinogeneze na podkladě hypermetylace promotorů

- hypermatylace promotorů bohatých na CpG ostrůvky (Cytozin-fosfát-Guanin)
- asi u 35 % kolorektálních karcinomů
- různé geny (p14, p16, MLH1, HPP1...)
- často aktivační mutace genu BRAF

# Mechanismy vzniku nádorů

- vícekrokový proces
- postižení jednoho genu ke spuštění procesu karcinogeneze nestačí
- nádorové mikroprostředí (stromální buňky) – významný faktor procesu tumorigeneze

reprogramování  
energetického  
metabolismu

udržení proliferační  
aktivity

podpurná zánětlivá  
infiltrace

resistence k buněčné  
smrti

nezávislost na regulaci  
růstu



indukce angiogeneze

aktivace mechanismů  
invaze a metastázování

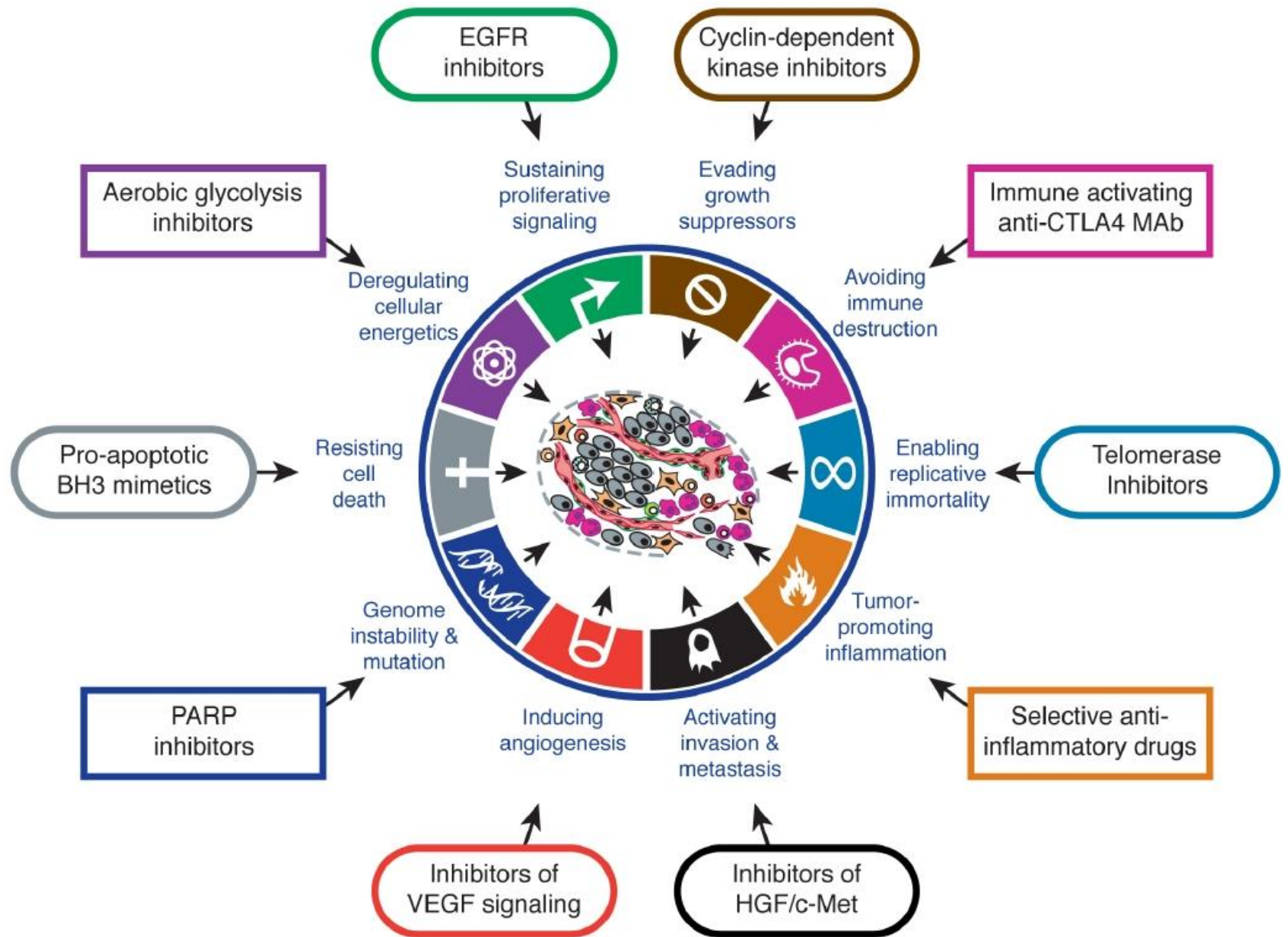
genomická instabilita a  
mutace

nekonečný replikační  
potenciál

vyhnutí se imunitním  
mechanismům

Hanahan and Weinberg, 2011





Hanahan and Weinberg, 2011

# Udržení proliferační aktivity

- schopnost trvalé proliferace
- komplexní a dosud nejasné
  - identifikace zdroje a původu proliferačních signálů obtížná – časově a prostorově omezené, přenos signálů z jedné buňky na okolní (parakrinní signalizace)
  - vliv extracelulárního prostředí (sekvestrace signálů v peri- a extracelulární matrix)

# Udržení proliferační aktivity

- vlastní mitogenní signalizace lépe známá
- několik možných způsobů:
  - - produkce růstových faktorů nádorovými buňkami (autokrinní stimulace)
  - - produkce signálních molekul ovlivňujících stromální buňky – ty pak produkují růstové faktory
  - - zvýšení počtu receptorů pro růstové faktory
  - - strukturální změny receptorů umožňující vyšší afinitu k ligandu
  - - konstituční aktivace signálních drah (bez potřeby vazby ligandu)

# Nezávislost na regulaci růstu

- množství tumor supresorových genů negativně ovlivňujících růst a proliferaci
- prototyp: pRb a p53
  
- ztráta kontaktní inhibice:
- NF2 gen (protein Merlin) – sekvestrace růstových receptorů a adhezivních molekul
- LKB1 (polarita epiteliálních buněk, vliv na účinek Myc onkogenu)

# pRb

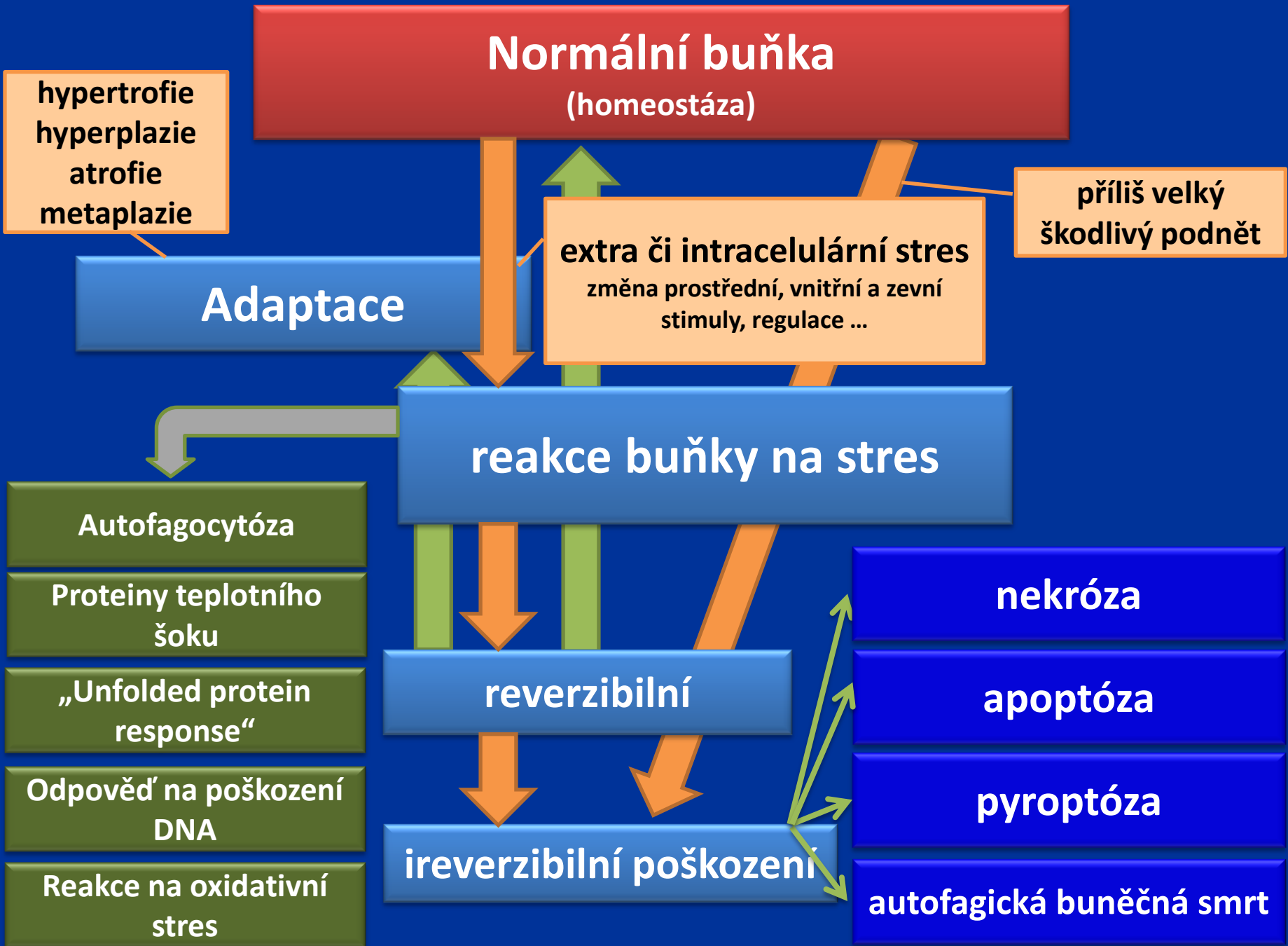
- integrace variabilních extra a intracelulárních signálů – vyhodnocení – možnost zástavy buněčného cyklu



# p53

- integrace intracelulárních signálů –  
vyhodnocení – možnost zástavy buněčného  
cyklu, spuštění procesu apoptózy
- - stupeň poškození genomu, buněčného stresu
- - suboptimální množství nukleotidů, glukózy,  
oxygenace, růstových signálů

# Nádory a buněčná smrt



# Apoptóza - výskyt

## Fyziologicky

- embryogeneze
- involuce hormonálně dependentních tkání v případě hormonální deprivace
- zánik buněk v proliferujících buněčných populacích
- eliminace nadbytečných buněk (např. leukocytů po proběhlém zánětu)

## Patologické stavy

- eliminace buněk které mají:
- genetické aberace
- poškození DNA
- kumulace chybně složených proteinů
- infekce (zvl. virové)
- zánik buněk při atrofii
- **nádory (spontánně i po léčbě)**

# Autofagocytární buněčná smrt

- autofagocytóza
- – proces vedoucí k degradaci starých cytoplazmatických proteinů a organel (např. mitochondrií – riziko uvolnění cytochromu c; poškozené DNA; nesložených proteinů z ER)
- - udržování homeostáze
- proces spouštěn produktem onkosupresorického genu Beclin 1 v komplexu s Vps34 (fosfatidylinositol 3-kináza III třídy) a kinázou p150
- typicky se vyskytuje u buněk vystavených metabolickému či terapeutickému stresu (deprivace růstových faktorů, inhibice Akt/mTOR signální dráhy, nutriční deprivace, ischemie/reperfúze, akumulace  $Ca^{2+}$ )
- obvykle slouží jako mechanismus chránící před buněčnou smrtí, zároveň ale představuje alternativní cestu buněčné smrti
- mechanismus buněčné smrti není známý

# Autofagocytární buněčná smrt

- autofagocytóza – proces odstraňování a destrukce starých cytoplazmatických proteinů a organel
- alternativní cesta zániku nádorových buněk rezistentních k apoptóze
- mechanismus ochrany nádorových buněk ⇨ radioterapie, některé cytotoxické léky, nutriční deprivace indukují autofagocytózu a snižují účinek léčby
- nádorové buňky vystavené vysoké úrovni stresu mohou regredovat pomocí autofagie do klidového stavu – persistence a eventuálně nová progrese nádoru po protinádorové léčbě
- mechanismus buněčné smrti není známý

# Rezistence k buněčné smrti

- apoptóza (extrinsická a intrinsická stimulace)
- pro a protiapoptické faktory z Bcl-2 rodiny regulačních proteinů
- Bcl-2 (Bcl-x<sub>L</sub>, Bcl-w, Mcl-1, A1) – inhibitory apoptózy
- Bax, Bak – proapoptické proteiny (porucha integrity mitochondrií – uvolnění proapoptických signálů, zejména cytochromu c – aktivace kaspáz)
- význam autofagocytózy? – bariéra proti nádorovému bujení, cytoprotektivní efekt pro nádorové buňky (dosud nejasné...)

# Rezistence k buněčné smrti

- apoptóza (extrinziční a intrinziční stimulace)

- ztráta funkce p53
- zvýšená exprese antiapoptotických proteinů (Bcl-2)
- zvýšená exprese „signálů přežití“ (IL-3, Igf 1/2)

nádorové buňky (dosud nejasné...)



# Význam nekrózy

- nekrotická buňka uvolňuje obsah do okolí
- - prozánětlivé signály
- - vyvolá zánětlivou reakci s cílem zjistit rozsah poškození, odklidit nekrotickou tkáň a napravit poškození
- - zvýšená angiogeneze
- - zvýšená proliferace buněk (IL-1 $\alpha$ )

# Význam nekrózy

• nekroza uvolňuje obsah do okolí

- pozitivní efekt – snížený množství nádorových buněk
- negativní efekt – stimulace růstu, angiogeneze, metastázování
- negativní efekt může převážit nad pozitivním...

it

# Nekonečný replikační potenciál

- normální buňky – limitovaný počet dělení
- ⇨ senescence (viabilní avšak neschopná dělení)
- ⇨ zánik buňky
  
- funkce telomer (repetitivně sekvence chránící DNA před vzájemnou fúzí – ta vede k vzniku nestabilních dicentrických chromozómů)
- telomeráza – téměř chybí v normálních buňkách, vyskytuje se u 90 % imortalizovaných buněk

# Aktivace invaze a metastázování

- EMT vývojový regulační program (epiteliálně-mezenchymální tranzice) – zásadní pro invazivnost, metastázování a vyhnutí se apoptóze (epitelové buňky)
- - ztráta adhezivity (E-cadherin)
- - exprese enzymů degradujících matrix
- - zvýšená pohyblivost
- - rezistence k apoptóze
- vztah se stromatem
- - mezenchymální kmenové buňky produkují v odpovědi na signál nádorových buněk CCL5 – stimulace invazivity
- - makrofágy v periférii nádoru uvolňují enzymy degradující matrix

# „Mezenchymální“ program metastázování

- EMT – diseminace nádorových buněk na jiné místo – obrácený proces „mezenchymálně-epiteliální tranzice“ MET – usídlení a proliferace buněk (nová kolonie nádorových buněk)

# „Kolektivní invaze“

- metastázování skupin nádorových buněk
- typické např. pro dlaždicobuněčné karcinomy
- metastázuji vzácněji

# „Améboidní invaze“

- individuální nádorové buňky vykazují morfologickou plasticitu
- umožní průchod extracelulární matrix bez její enzymatické destrukce
- vyskytuje se u obou předchozích typů invaze

# Proces metastázování

- vícekrokový proces
- 1) lokální (stromální) invaze
- 2) invaze do lymfatických a krevních cév
- 3) diseminace nádorových buněk
- 4) extravaskulární průnik buněk na vzdálených místech
- 5) tvorba malých skupin nádorových buněk (mikrometastázy)
- 6) přechod z mikro do makrometastáz (adaptace novému mikroprostředí)



# Přechod z mikro do makrometastáz (adaptace novému mikroprostředí)

- komplikovaný proces, většina mikrometastáz nepřechází v makrometastázy
- významný vliv mikroprostředí
- může být tlumeno vlastním primárním nádorem (růst metastáz po jeho odstranění)
- může trvat i desítky let (pozdní metastázy např. karcinomu prsu, melanomu) – nádorové kmenové buňky!

# Reprogramování buněčného metabolismu

- nádorové buňky jsou schopné přesunout i v případě nadbytku O<sub>2</sub> získávání energie směrem ke glykolýze (Wartburgův efekt)
- - až 100x rychlejší než při oxidativní fosforylaci (Krebsův cyklus)
- - umožní výrazně rychlejší růst nádoru

# Indukce angiogeneze

- bez vaskularizace velikost nádoru max. 1-2 mm (dosah difúze z cév)
- VEGF - indukce angiogeneze
- TSP-1 (trombospondin-1) indukován p53, inhibice angiogeneze
- nerovnováha indukce/inhibice - nádorové buňky samy, či zánětlivé buňky a buňky stromálního mikroprostředí
- hypoxie stimuluje produkci HIF-1alfa - transkripce cílových genů (VEGF)
- HIF normálně inaktivován VHL (vazba, ubikvitinilace), nikoliv v případě hypoxie či mutace genu

## von Hippel-Lindau (VHL) syndrom

- karcinomy ledviny
- feochromocytomy
- - hemangiomy CNS
- retinální angiomy
- ledvinné cysty
- 
- TSP-1 (trombospondin) indukován p53, inhibice angiogeneze
- nerovnováha indukce/inhibice - nádorové buňky samy, či zánětlivé buňky a buňky normálního mikroprostředí
- hypoxie stimuluje produkci HIF-1alfa - transkripce cílových genů (VEGF)
- HIF normálně inaktivován VHL (vazba, ubikvitinilace), nikoliv v případě hypoxie či mutace genu

neze

1-2 mm (dosah

# Vyhnutí se imunitním mechanismům

- souvisí s charakterem a možnostmi rozpoznání nádorových antigenů

# Podpůrná zánětlivá infiltrace (1)

- perzistující chronický zánět (infekční, AI)
- - zvýšené riziko různých nádorů (např. GIT)
- - regenerativní procesy v rámci zánětu vedou k produkci řady růstových faktorů, cytokinů, chemokinů, ROS
- - persistující buněčná proliferace a redukováná apoptóza zvyšují riziko vzniku mutací

# Podpůrná zánětlivá infiltrace (2)

- zánětlivá reakce v odpovědi na přítomnost nádoru
- - může být podpůrný aspekt protinádorové imunity
- - stejně jako u chronických zánětů může produkcí různých faktorů podporovat růst nádoru
- praktický aspekt: inhibice COX2 kys. acetylosalicylovou u CRC a dalších tumorů (prevence?, léčba?)

# Protoonkogeny

- normální geny
- obvykle účast v přenosu signálů (transdukci) či vlastní efekторы mitogenních signálů = účastní se regulace buněčného cyklu
- mají potenciál způsobit vznik nádorů
- v nádorových buňkách často mutované či zvýšeně exprimované



# Protoonkogen → onkogen

- **1. mutace**
- - protoonkogenu nebo regulační oblasti (promotoru)
- **2. epigenetické změny**
- - ovlivnění regulačních oblastí genu, obvykle hypermetylace promotoru
- **3. duplikace genu**
- - zmnožení (amplifikace) genu
- **4. chromozomální translokace**
- - umístění do jiné oblasti, změna regulačních mechanismů
- - fúze protoonkogenu s jiným genem - vznik fúzního proteinu s onkogenní aktivitou
- **5. regulační vliv mikroRNA (miRNA)**

# Onkogen

- porucha regulačních mechanismů s abnormální (zvýšenou) expresí příslušného proteinu
- rezistence k normálním regulačním mechanismům (trvalá aktivace příslušné signální dráhy)
- abnormální protein s onkogenní funkcí