

onkogenetika

PhDr. Markéta Školoudová

Co je to nádor?

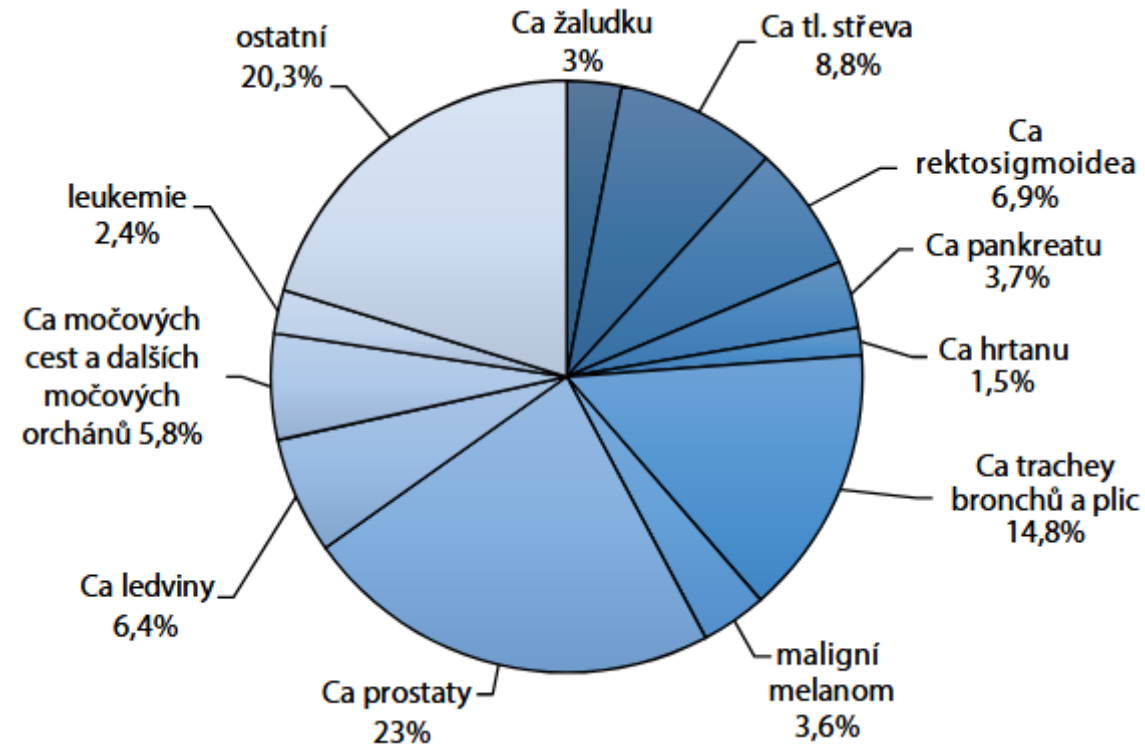
Nádor (další označení **novotvar, neoplazie, tumor**) definován jako:

„nově vzniklý tkáňový útvar, nebo buněčná populace v organismu, která nevzniká jako fyziologická odezva na vnější i vnitřní podněty, jeví známky abnormality a více či méně unikají z regulačního vlivu okolních buněk a organismu“

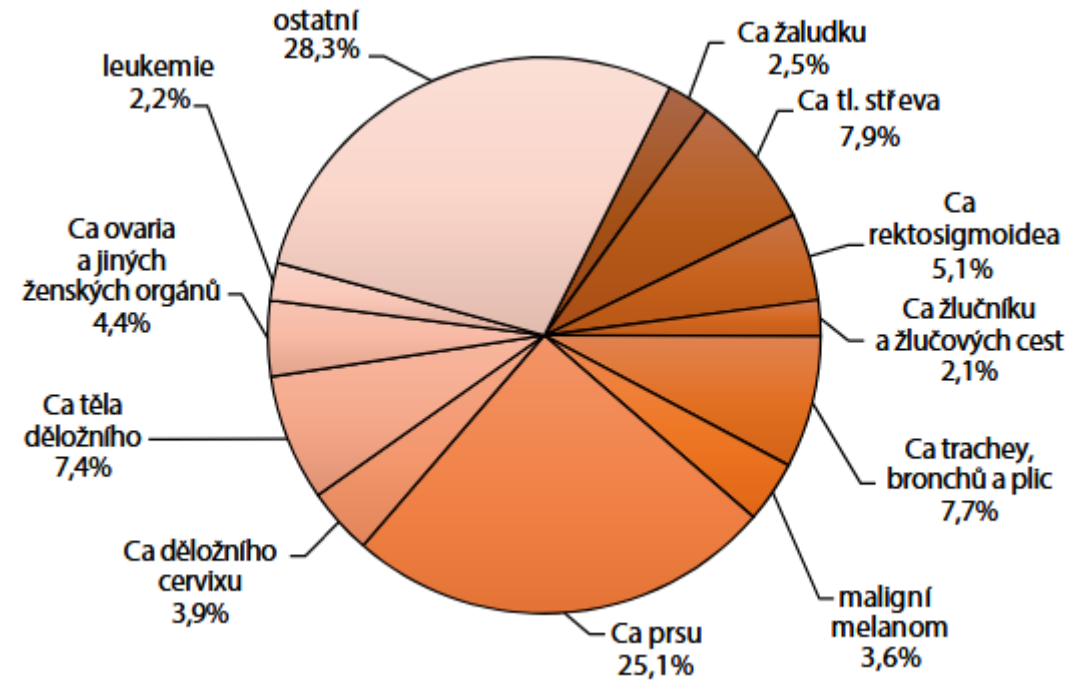
(definice podle prof. Koláře)

Na molekulární úrovni *„genetická nemoc vznikající v důsledku patologických změn v informaci, kterou nese DNA, od jiných genetických nemocí se liší hlavně tím, že s vývojem nádoru souvisejí především somatické mutace“*

Incidence nádorových onemocnění u mužů (ÚZIS, 2011)



Incidence nádorových onemocnění u žen (ÚZIS, 2011)



Rakovina jako genetická choroba

genetická choroba na buněčné úrovni

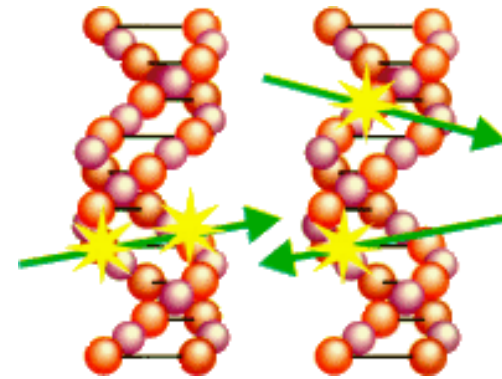
ve většině případů způsobena somatickými mutacemi, které vznikají buď spontánně, nebo jsou indukovány

- fyzikálními faktory
- chemickými karcinogeny
- biologickými faktory

aby karcinogen uskutečnil změny v příslušném genu (vedoucí k tvorbě ireverzibilního maligního nádoru), musí mít mutagenní účinky

Vznik nádoru

Nádory jsou výsledkem vrozeného
nebo získaného genetického poškození



Na základě tohoto tvrzení → dvě teorie definující **možnou příčinu vzniku nádoru**:

1. somatická teorie
2. regulační teorie

somatická teorie

Vychází z předpokladu, že **v jedné somatické buňce dojde ke kumulaci genetických chyb**, jejichž výsledkem je genová dysregulace → ta **vede ke vzniku buněčného klonu s nekontrolovatelnou proliferací** (jedná se o tzv. klonální selekci a expanzi).

Podle této teorie jsou **všechny buňky nádoru ireverzibilně poškozeny**
→ proto **při terapii musí být zničena každá nádorová buňka**

regulační teorie

Nádor je výsledkem špatného regulačního procesu vzniklého na podkladě genetického defektu jedné či několika buněk

Dochází ke vzniku genetické nestability

Rozhodující pro průběh nemoci je rovnováha mezi individuální buňkou, jejím okolním mikroprostředím a celým organismem

Všechny buněčné defekty, stejně jako klinický průběh nemoci, jsou nereverzibilní děje

Terapeutickým zásahem je nutno obnovit rovnováhu mezi počtem buněk vstupujících do buněčného cyklu a počtem buněk přirozeně zanikajících → není **nutno zničit každou buňku nádorové populace**

karcinogeneze

Genetické defekty řídící vznik a vývoj nádoru (=karcinogeneze) bývají přítomny v mnoha genech.

Obecně platí, že dochází ke vzniku aktivačních mutací v genech podporující proliferaci buněk (onkogeny) a ke ztrátě funkce obou alel genů zodpovědných za inhibici proliferace (antionkogeny, tumorsupresory, nádorové supresory)

proonkogen

= buněčný gen, který se podílí na regulaci buněčného cyklu buňky a na některých jejích funkcích, zejména podporuje růst, dělení a přenos signálů

onkogen

= varianta proonkogenu, vyvolávající neoplastickou transformaci buňky

Aktivace proonkogenu = mutace způsobují přeměnu proonkogenu na onkogen

Účinek onkogenu na fenotyp je dominantní (= projeví se i za přítomnosti své „proonkologické“ alely

Tumor supresorové geny (=antionkogeny)

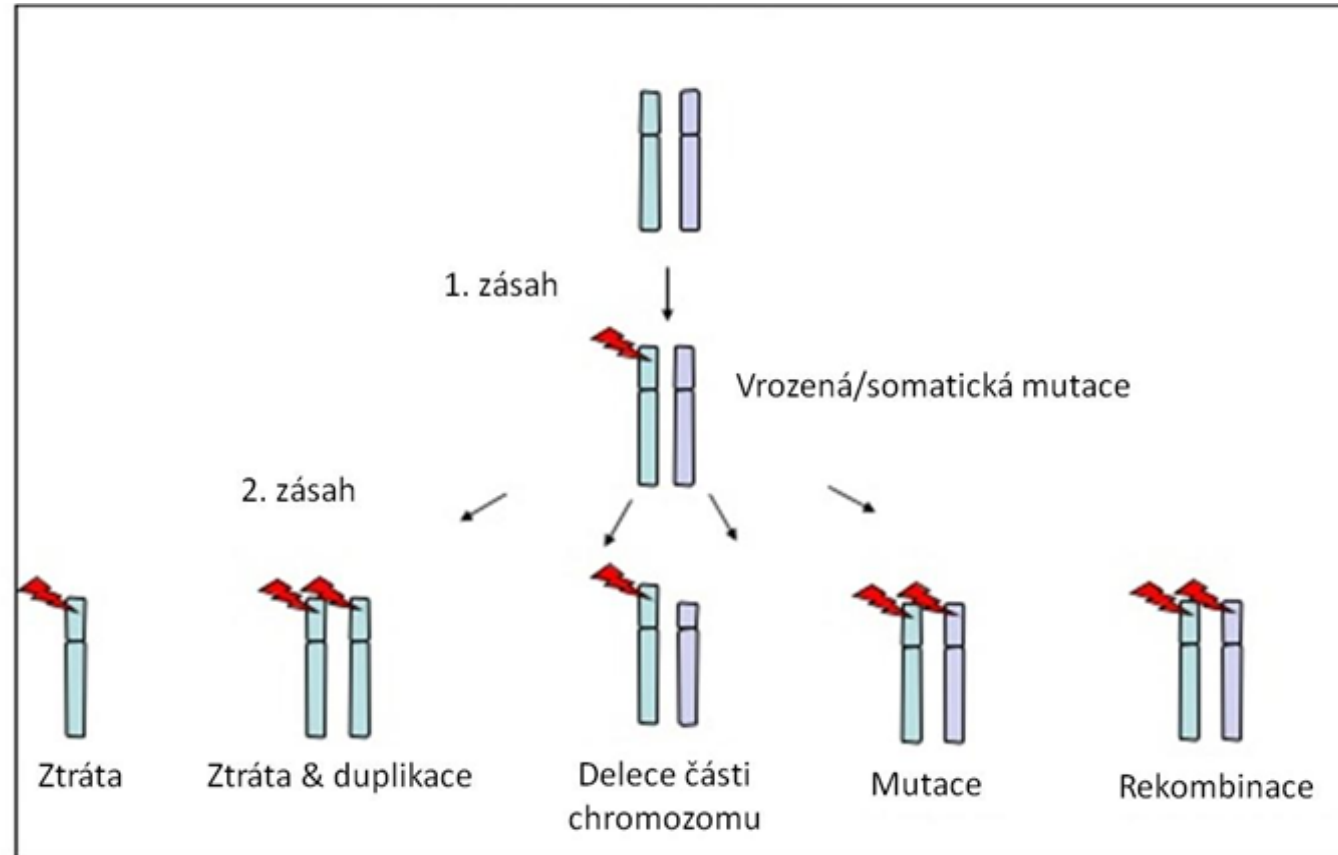
Produkty tumor supresorových genů zabraňují vzniku a rozvoji nádorového onemocnění a to především tím, že brání proliferaci, podporují řízenou buněčnou smrt buněk (apoptózu) a opravují poškození DNA

Mutace tumor supresorových genů jsou přítomny i v zárodečných buňkách, mohou být tedy dědičné

Ve svém účinku na fenotyp buňky jsou recesivní, protože jedna normální alela je stále dostatečnou ochranou před vznikem rakovinného procesu

Pro dosažení maligní transformace je nevyhnutelná inaktivace i druhé (normální) alely („druhý zásah“) – toto je dosaženo buď mutací anebo ztrátou této alely = ztráta heterozygotnosti – viz obrázek dále

Schematické znázornění LOH pomocí Knudsonova modelu dvou zásahů



Upraveno dle: Knudson, PNAS 1971.

karcinogeneze

= několika stupňový proces transformace normální buňky na buňku nádorovou

Pouze 5% všech nádorů vzniká mutacemi v zárodečných buňkách

K většině mutací způsobující rakovinné bujení dochází v somatických buňkách

Průběh je členěn do tří stadií – iniciace, promoce a progresse

Průběh karcinogeneze

1. stadium – **iniciace**

Při prvotní genetické události (tj. mutaci určitého kritického genu) iniciované buňky získávají růstovou selekční výhodu, buňka tedy získává potenciál maligní transformace, avšak v tomto stadiu se může proces zastavit

2. stadium – **promoce**

Trvá léta, až desetiletí, postižené buňky jsou stimulovány ještě k intenzivnější proliferaci, promoční faktory sami o sobě nejsou schopny vyvolat maligní nádorovou transformaci, jen ji podpořit. Intenzita promočních faktorů musí dosáhnout určitého stupně, aby byl iniciovaný klon stimulován, naopak odstranění podpůrných faktorů může proces karcinogeneze zpomalit nebo i zastavit

3. stadium – **progrese**

Nekontrolovatelný růst způsobený trvalou aktivací signální transdukce růstového stimulu, alteracemi kritických bodů buněčného cyklu a deregulací transkripčních mechanismů

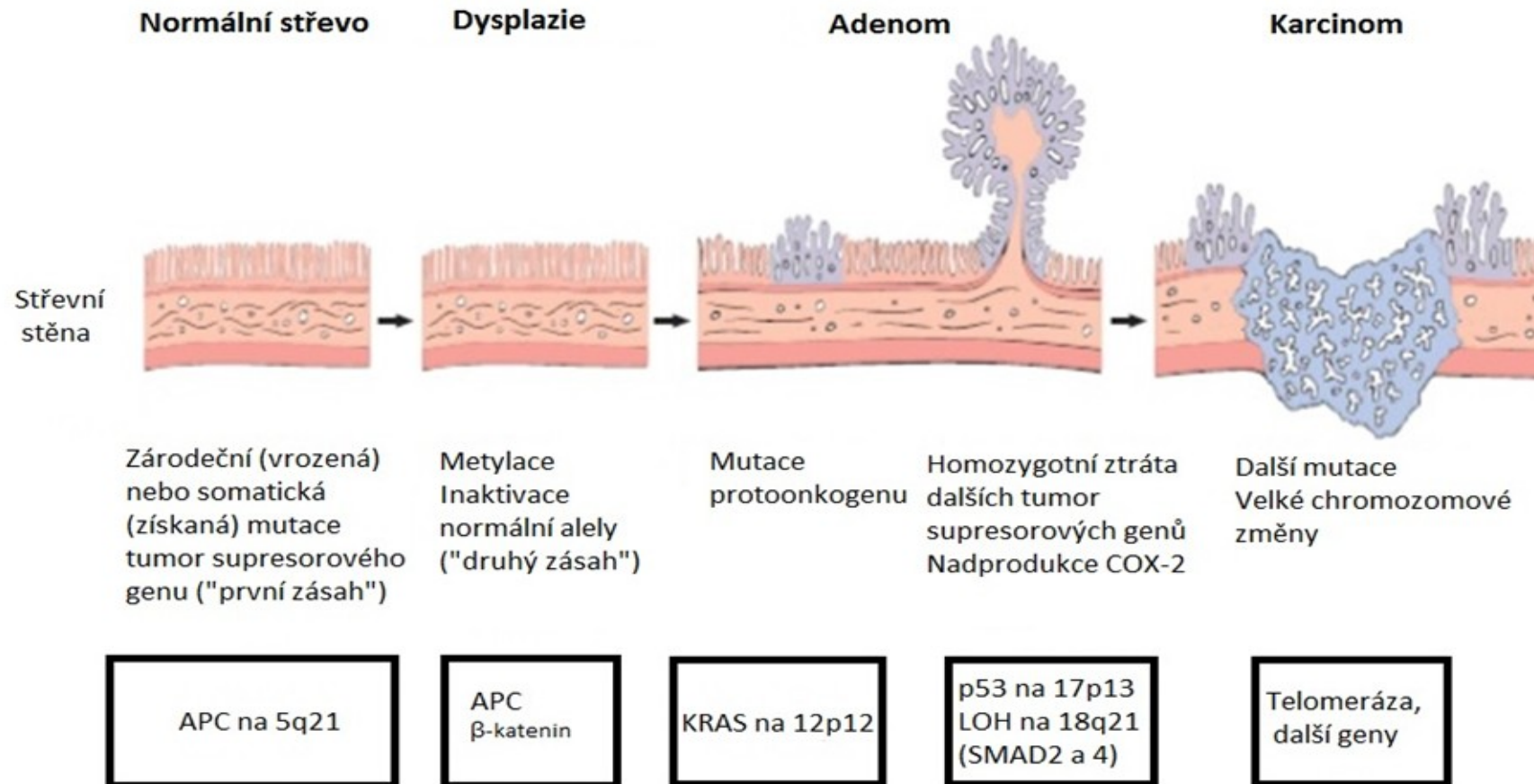
Progrese – šíření nádoru

Nádor zůstává nejprve v místě svého vzniku, ale aktivací dalších faktorů se začne šířit i do nejbližšího okolí (invaze) a cestou krevního oběhu na místa vzdálená (metastázy)

Velmi důležitou podmínkou pro růst nádoru je dostatečný přísun živin a kyslíku, který musí být zajištěn vytvořením cévního zásobení (nádorová neoangiogeneze)

Asi nejznámějším příkladem postupného vývoje karcinomu je model familiární adenomatózní polypózy (FAP) zapříčiněné poškozením genu ACP

Vogelsteinův model víceetapňového vývoje karcinomu u FAP



Vlastnosti nádorů

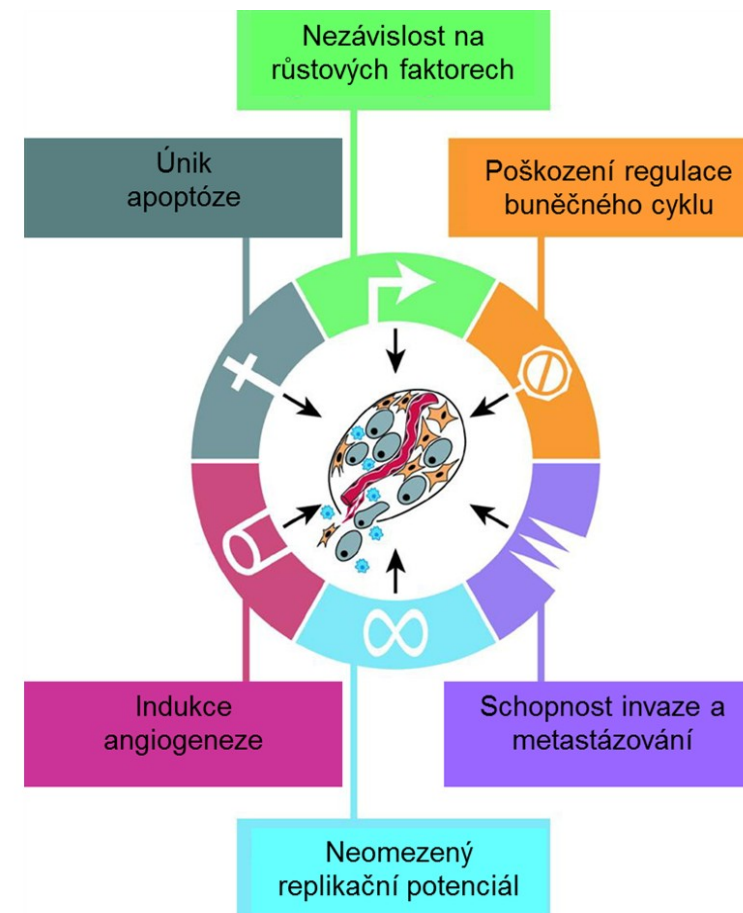
Pro vznik nádorů není dostačující jedna, i když kaudální, genetická změna v kritickém genu

Je potřebná akumulace více genetických změn, které vedou ke změně fenotypu buňky z buňky „normální“ (poškozené) na buňku nádorovou (transromovanou)

Ty se vyznačují řadou vlastností, které definovali v r. 2000 Hanahan a Weinberg

Vlastnosti nádorů

1. Nezávislost na růstových faktorech
2. Poškození regulace buněčného cyklu
3. Únik apoptóze
4. Neomezený replikační potenciál
5. Indukce angiogeneze
6. Schopnost invaze a metastazování



Cell
PRESS

Cell 2000 100, 57-70 DOI: (10.1016/S0092-8674(00)81683-9)

(v r. 2011 byly do tohoto modelu doplněny další 4 vlastnosti – reprogramování energetického metabolismu buňky, únik imunitního systému, genomová nestabilita a mutace a pronádorový zánět)

Vlastnosti nádorů

V rámci karcinogeneze dochází k postupnému rozvoji daných vlastností podle zmíněného několikastupňového modelu vývoje nádoru, je nezbytná přítomnost genomové nestability a nádorového zánětu, protože za normálních okolností není možné v tak krátkém čase získat tolik mutací a tak rychle proliferovat.

Nádorová masa je samostatně organizovaná jednotka (tkáň)

Nádor se může neustále měnit, přizpůsobovat se změnám okolního prostředí a tak odolat i účinkům protinádorové chemoterapie.

Pro mnoho typů nádorů je charakteristická právě odolnost vůči terapii (**MDR** = multidrug resistance) a často bývá příčinou selhání terapie s následným úmrtím pacienta

Příklady klinického využití genetických znaků nádorů

Molekulárně genetické znaky v onkogenetice dělíme podle charakteru:

- diagnostické
 - prognostické
 - prediktivní faktory,
- často ve vzájemné kombinaci

HER2/Neu

Amplifikace genu *HER2/Neu* (čili zmnožení jeho DNA na chromozomu 17q12) se vyskytuje až u třetiny pacientek s karcinomem prsu a u malé části pacientů s karcinomem žaludku a plic

Amplifikace způsobuje trvalou aktivaci signální dráhy → zvýšená agresivita nádorového růstu, častější a časnější metastazování a horší prognóza pacientek s HER2 pozitivním karcinomem prsu

Zároveň je však produkt genu *HER2/Neu* molekulárním cílem pro cílenou, tzv. biologickou léčbu (až 60% u HER2+ pacientek pozitivní terapeutický efekt → rutinní vyšetření amplifikace genu *HER2/Neu* metodou FISH před zahájením biologické léčby)

BRCA1/BRCA2

Geny *BRCA1/BRCA2* kódují proteiny zapojené do oprav DNA poškození, jsou to tumor supresorové geny

V případě jejich mutace dochází k poruchám v opravách DNA a následně ke zvýšenému riziku vzniku karcinomu prsa, vaječníků aj.

Tumory s mutacemi *BRCA1/BRCA2* jsou však citlivé na cílenou terapii PARP inhibitory, které blokují další z opravných drah DNA poškození

Hereditární nádorové syndromy

Nádorová onemocnění jsou po kardiovaskulárních onemocněních druhou nejčastější příčinou úmrtí v ČR

90% nádorů se vyskytuje sporadicky

10% ze všech nádorových onemocnění představují hereditární nádorové syndromy

Hereditární malignity se odlišují od sporadických nádorů nízkým věkem nástupu nemoci, časté jsou bilaterální nádory v párových orgánech a nádorové duplicity

U příbuzných 1. a 2. stupně se vyskytují stejné typy nádorů nebo určité typy nádorů, které jsou typické pro konkrétní dědičný nádorový syndrom

Hereditární nádorové syndromy

Jsou ve většině případů děděné autozomálně dominantně (AD) s neúplnou penetrací

Potomci mají 50% riziko, že mutaci zdědí

SYNDROM HEREDITÁRNÍHO KARCINOMU PRSU A OVÁRIÍ

- Až 8% žen onemocní během života
- 5 – 10 % nádorů prsu je dědičného původu
- (více genů – BRCA1,2; PALB, PTEN, TP53)
- **BRCA1**: 17q21 – 40 % familiárních případů rakoviny prsu, 80 % familiárních případů rakoviny prsu a vaječnicků
 - Riziko pro manifestaci Ca prsu - 65-85% (Riziko vzniku dalšího ložiska 40-60%)
 - Riziko pro manifestaci Ca vaječnicku 39-65%,
 - Zvýšené riziko pro manifestaci Ca dělohy a čípku
- **BRCA2**: 13q12
 - Riziko pro manifestaci Ca prsu - 45-84% (Riziko vzniku dalšího ložiska 40-60%)
 - Riziko pro manifestaci Ca vaječnicku 11-37%,
 - Zvýšené riziko pro manifestaci maligní melanom
- + u obou vyšší rizika malignity zažívacího traktu, u muže prsu a prostaty

Indikační kritéria k výběru rodiny k testování mutací v ČR

Sporadické formy

- Epitelový karcinom ovaria/tuby/primární peritoneální karcinom bez ohledu na věk v době stanovení diagnózy
- Triple negativní karcinom prsu do 60let
- Unilaterální karcinom prsu do 45let (do 50let pokud není známa rodinná anamnéza)
- Dva samostatné primární karcinomy prsu, první do 50let, nebo oba do 60 let
- Duplicita karcinomu prsu a pankreatu v jakémkoli věku
- Muži s karcinomem prsu v jakémkoli věku

Indikační kritéria k výběru rodiny k testování mutací v ČR

Familiární formy (ca ovaria, tuby nebo primární peritoneální karcinom v rodinné anamnéze je VŽDY indikací k testování)

- Alespoň tři příbuzní (včetně probandky) s karcinomem prsu v jakémkoliv věku
- Dvě přímé příbuzné (včetně probandky) 1. stupně (nebo 2.stupně přes otce) s karcinomem prsu
- Probandka s karcinomem prsu do 50let s přímým příbuzným s nádorem spojeným s HBOC (především slinivka, prostata)

Prediktivní testování známé rodinné mutace je možné u příbuzných od 18 let věku

Prevence

Pro nositele mutace v genech *BRCA1* a *BRCA2* zajišťují onkologická centra prevenci z důvodu redukce rizika vzniku malignity (v rámci ČR je to 16 pracovišť)

U *BRCA1* a *BRCA2* pozitivních pacientek je doporučena profylaktická chirurgická intervence

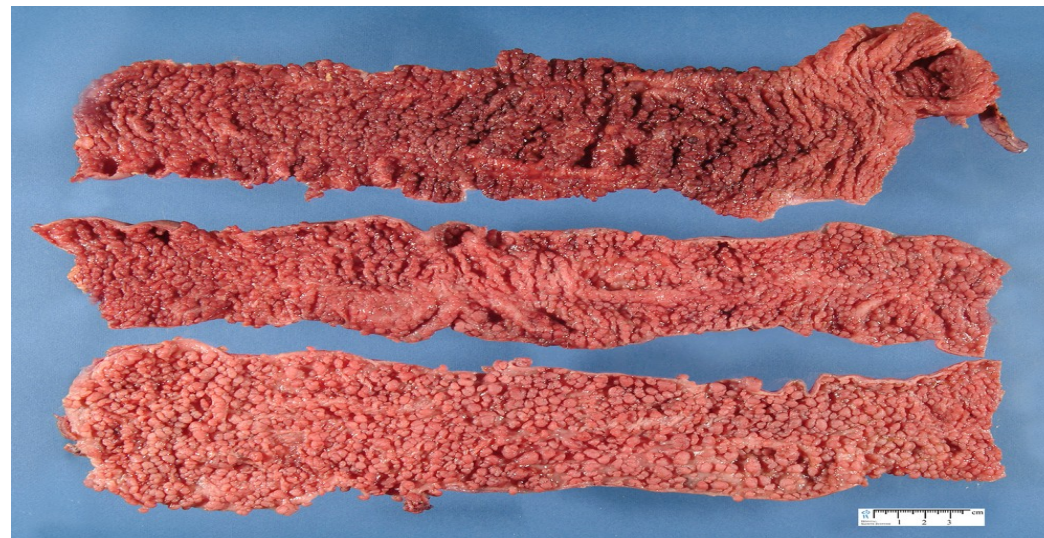
(bilaterální adnextomie s hysterotomií a bilatarální mastektomie), **optimálně do věku 35-40let**

U pacientek s karcinomem prsu a s negativním výsledkem molekulárně-genetického testování dispenzarizaci zajišťuje onkolog, negativní výsledek testování genů *BRCA1* a *BRCA2* není vyloučením dědičné predispozice ke vzniku nádorového onemocnění,



Hereditární nádory tlustého střeva

- APC gen, 5q21
- tvorba několika set až tisíců adematózních polypů uvnitř tlustého střeva a rekta; extrakolonické projevy
- výskyt polypů již kolem 15.roku života – možnost gen. Vyšetření již před 18. rokem života
- preventivní kolektomie
- bez kolektomie – malignita
- Penetrance 100% do 50 let věku



Lynchův syndrom (hereditární nepolypózní kolorektální karcinom, HNPCC)

Onemocnění spojeno se vznikem mnohočetných zhoubných nádorů v mladém věku, především nádorem tlustého střeva, ale i nádory ovarií, endometria, žaludku (13%), tenkého střeva (7%), urotraktu (12%), mozku (4%)

Celoživotní riziko vzniku kolorektálního karcinomu v souvislosti s HNPCC je až 75% u mužů a až 52% u žen (osoby sledované s HNPCC s diagnostikovaným kolorektálním karcinmem mají 16% pravděpodobnost při 10letém sledování, že onemocní dalším nádorem tlustého střeva)

Lynchův syndrom (hereditární nepolypózní kolorektální karcinom, HNPCC)

- predispozice vzniku rakoviny tlustého střeva
 - 10 – 15% všech nádorů tlustého střeva
- bez úvodního polypózního stádia
- mutace v genech **MSH2, MLH1, PMS1 a PMS2**
- princip: mutace inaktivují **proces reparace chybného párování bází** při replikaci (*mismatch repair genes*)
- Další nádory sdružené s HNPCC: endometrium, tenké střevo, uretery, ledvinné pánvičky, mozku
- Celoživotní riziko v případě mutace až 75%
- Osobní a rodinná anamnéza

Retinoblastom

Typ nádoru oka (vychází z retiny),
vyskytuje se v dětském věku,
typicky již před 5. rokem



Příčinou onemocnění je mutace v genu *RB1*, u nosičů mutace je zvýšené riziko výskytu dalších nádorových onemocnění (např. sarkomů, osteosarkomů, nádorů mozku, plic a prsu)

Retinoblastom (1:20 000)

- malignita sítnice, většina se manifestuje do 3 let věku
- **gen RB1** na 13. chromozomu (13q14)
- nutná inaktivace obou kopií genu RB1
- **somatické mutace** v buňkách sítnice
- **zděděná germinální mutace** – 1 rodičovský chromozom nese změnu v oblasti genu RB1 -nejčastěji delece (méně než 10% případů).

- **nedědičná forma** – prakticky výlučně unilaterální nádor sítnice, nejčastěji kolem 2. roku
 - v jedné buňce sítnice musí postupně vzniknout 2 mutace inaktivující RB1
 - onemocnění je dále nepřenositelné

- **dědičná forma** – postih zpravidla bilaterální, výskyt v dřívějším věku (někdy již při narození)
 - i nenádorové somatické buňky organismu nesou inaktivní alelu RB1 – pro vznik nádoru stačí aby v průběhu života došlo již k jediné somatické mutaci

WILMSŮV TUMOR (WT) = nefroblastom (1:10 000)

- gen **WT1**: 11p13
- 8 % dětských nádorů, **nejčastější solidní nádor u dětí**
- nádor z nediferencovaných buněk
(vznik maligní transformací ledvinové KB,
která ztratila schopnost diferenciacce)
- Výskyt: nejč. do věku 5 let (familiární případy – oboustranné ve věku 30 měsíců)
- Příznaky: hmatná rezistence hypochondriální oblasti, později abdominální bolesti a dalšími příznaky z útlaku (zácpa, zvracení, anorexie, úbytek na váze, dyspnoe..) méně často horečky, hypertenze, hematurie, anemie
- nefrektomie
- nádor může být izolovaný / součástí některých syndromů
(např. aniridie, hemihypertrofie obratlů, závažné urogenitální anomálie, mentální retardace..)

