

ZÁKLADNÍ POZNATKY O MOLEKULÁRNÍCH MECHANISMECH VÝVOJE NĚKTERÝCH EPITELOVÝCH, SOLIDNÍCH MESENCHYMOVÝCH A NEUROEKTODERMOVÝCH NÁDORŮ

BASIC DATA CONCERNING MOLECULAR MECHANISMS OF DEVELOPMENT OF SOME EPITHELIAL, SOLID MESENCHYMAL AND NEUROECTODERMAL CANCERS

KOLÁŘ Z.

ÚSTAV PATOLOGIE A LABORATOŘ MOLEKULÁRNÍ PATOLOGIE LF UP A FN OLMOUC

Souhrn: V práci je podán přehled současných poznatků o molekulární patologii některých solidních nádorů. Zachycuje úroveň poznání z roku 2003, tak jak byla prezentována v publikaci „Molekulární patologie nádorů“ autorů Z. Kolář a kolektiv, ĚPAVA, Olomouc 2003 (ISBN 80-86297-15-2). Vzhledem k bouřlivému rozvoji výzkumu v této oblasti lze očekávat další převratné objevy, které budou postupně doplňovat chybějící data.

Klíčová slova: solidní nádory, molekulární patologie, patogenetické dráhy

Summary: In this work, the review of recent findings on molecular pathology of some solid tumours is presented. This article provides the level of knowledge from year 2003 in the form similar to this published in book „Molecular pathology of tumours“ by Z. Kolář and co-workers, ĚPAVA Publishing, Olomouc 2003 (ISBN 80-86297-15-2). With respect to rapidly developing research in this field a new fundamental discoveries supplementing an incomplete data are expected.

Key words: solid tumours, molecular pathology, pathogenetic pathways

Úvod

Výrazné pokroky, které byly v uplynulých desetiletích dosaženy v oblasti molekulárních technologií, vedly k ustavení zvláštní větve patologie a podle některých koncepcí samostatného oboru, který se nazývá „molekulární patologie“. Tento obor se rovněž zabývá studiem procesů souvisejících se vznikem a rozvojem chorob, a to na úrovni nukleových kyselin a proteinů, respektive jiných molekul, které jsou jimi regulovány. Využívá přitom technik molekulární biologie a výsledky dává do kontextu s nálezy ostatních biomedicínských oborů včetně patologie. Tento pohled umožňuje nahlédnout až k samým počátkům vzniku nemoci, až na jejich genovou úroveň. Očekává se, že právě molekulární patologie bude schopna vnést nové světlo na „staré nemoci“ a vysvětlit příčiny některých nemocí, kterým jsme doposud dobře neporozuměli.

Molekulární patologie je vědní disciplína zabývající se studiem molekulárních mechanismů vzniku a progresu nenádorových i nádorových chorob a využívající metody molekulární biologie. V současnosti lze použít různé molekulárně biologické postupy k identifikaci sekvencí nukleových kyselin odpovědných za vznik jak nádorových, tak i nenádorových onemocnění (např. cystické fibrózy, morbus Duchenne), k prenatální a perinatální diagnostice vrozených chorob, k určení genetické náchylnosti a predispozice k chorobám typu aterosklerózy a diabetu, k přesné diagnostice a klasifikaci nádorových onemocnění, stejně jako k prognózování a monitorování terapie u pacientů s nádory, k diagnostice získaných infekčních chorob, k testování lékové senzitivity a rezistence u nádorových a infekčních chorob, k určení příbuznosti při transplantacích, k testování otcovství a k účelům forenzní medicíny. Nově se pod tento obor řadí i oblast zabývající se sledováním fyziologické i patologické proliferace kinetiky ve tkáních, včetně určování predispozice k programované buněčné smrti - apoptóze.

Již mnoho let je známo, že vznik nádorů je provázen četnými genetickými aberacemi a že v kontextu těchto poznatků je možné nádory považovat za geneticky podmíněné choroby. Rovněž bylo zjištěno, že existuje genetická predispozice k vývoji nádorů a že většina nádorů má monoklonální původ. V posledních letech pak naše poznatky byly rozšířeny na detailnější poznání úlohy jednotlivých specifických genů, zejména tzv. onkogenů a nádorových supresorů. Během vývoje tumoru dochází k akumulaci genetických chyb a pravděpodobnost jejich vzniku je přímo úměrná proliferací aktivně exponované tkáni. Proto bylo velkým pokrokem podrobné poznání regulace buněčného cyklu, které ukázalo, že mnohé z onkogenů a nádorových supresorů působí přímo v jeho průběhu. Proces nádorové transformace je zpravidla provázen mutacemi vedoucími ke vzniku genomové nestability, což je spojeno s defekty buněčných genů odpovědných za opravu chybného párování a excisní opravu. Existují typické patologické jednotky, které jsou spojeny s poruchou opravy DNA a u kterých je proto daleko větší tendence k vývoji zhoubných nádorů, než ve zbyvajících populaci. Kromě této skupiny defektů se mohou vývoje nádorů účastnit i poruchy genů odpovědných za produkci různých proteolytických enzymů, které se účastní procesů umožňujících ztrátu buněčné adhezivity, invazivního růstu a metastazování. Dále bylo zjištěno, že během nádorové transformace může docházet rovněž k epigenetickým změnám (změny, při kterých je genetická informace ovlivněna modifikací nukleotidů a terciální i kvartérní strukturou DNA), jako například ke změnám metylace DNA, či acetylaci histonů, ke změnám organizace jádra atd. Všechny tyto procesy jsou přitom velmi úzce závislé na genetické výbavě každého jednotlivce, u kterého nádor vznikl. Proto je nutné zdůraznit, že, tak jako neexistují dva lidé se stejným otiskem palce, neexistují rovněž dva nádory, které by byly absolutně shodné. Podstat-

né je zejména to, že se vyvíjí v rozdílném subjektu s jedinečným genotypem a navíc žijícím v rozdílném prostředí. Tato skutečnost je nesmírně důležitá pro pochopení, proč terapie nádorů, přes nesporné pokroky, poněkud pokulhává za teoretickými poznatky o příčinách vzniku a vývoje nádorů. Pravděpodobně neexistuje jednotné terapeutické schéma a to ani pro určitou zdánlivě homogenní skupinu nádorů, které by mohlo mít významný úspěch. Budoucnost je jednoznačně v tzv. individualizované terapii, postavené „na míru“ každého jednotlivého nádoru a pacienta. Bude to samozřejmě vyžadovat dokonalé poznání každého nádoru nejenom po stránce morfoloické, ale i proteomické a genetické.

Vývoj karcinomů dýchacího traktu

Karcinom plic není homogenní jednotkou. Má řadu histologických typů, ale na základě klinické praxe se rozlišují především dvě skupiny, malobuněčný karcinom (známý pod anglickou zkratkou SCLC – small-cell lung cancer) a nemalobuněčný karcinom (NSCLC – non-small-cell lung cancer), které, jak se zdá, mají separátní genetickou vývojovou dráhu. Termín NSCLC byl přijat WHO v roce 1977 a zahrnuje histologické typy adenokarcinomu, spinocelulárního karcinomu a velkobuněčného karcinomu. Tato skupina představuje většinu (asi 75 až 80%) všech karcinomů plic. Prognóza pacientů s NSCLC je špatná, pěti-leté přežití lze očekávat jen asi u 15%. SCLC tvoří samostatnou skupinu karcinomů plic, která se liší nejen histologickým typem, ale i svým biologickým chováním a vnímavostí k chemoterapii a aktinoterapii. Tyto karcinomy tvoří zbytek, to je asi 20-25% všech karcinomů plic a je u nich prokázáno, že na jejich vznik má jednoznačný vliv kouření tabáku. Prognóza je ještě horší než u NSCLC, tento nádor má velmi agresivní klinický průběh se systémovým šířením, velmi časným základním metastáz a průměrnou délkou přežití 1,5 až 4 měsíce (pěti leté přežití jen u 0,5% pacientů). Toto biologické chování je v zásadním rozporu se skutečností, že tento nádor je zpravidla velmi sensitivní vůči záření i různým chemoterapeutikům.

Mezi nejčastější cytogenetické změny nalázané u plicních karcinomů patří delece krátkého raménka 3. chromosomu (3p14-p23), které postihují přibližně 90% SCLC a 50% NSCLC. Delece této poměrně velké oblasti svědčí pro ztrátu funkce více než jednoho supresorického genu. Další supresorické geny, jejichž delece pravděpodobně souvisí s vývojem plicních karcinomů, se nachází na dlouhém raménku 5. chromosomu, kde je lokalizován například gen APC. Relativně časté jsou zejména u NSCLC rovněž delece a translokace na krátkém raménku 9. chromosomu (9p21), kde se nachází gen pro inhibitor cyklin dependentní kinázy 4 (ICDK4), jehož produkt je známý jako p16INK4. Dominantními onkogeny, které se účastní vývoje plicních karcinomů, jsou také myc a ras. V 10-20% karcinomů plic, převážně v SCLC, byla nalezena amplifikace některého ze členů rodiny myc (c-myc, N-myc nebo L-myc), která vede k nadměrné expresi produktu Myc. Tyto nádory mají agresivnější chování a horší prognózu, než nádory bez této amplifikace. V NSCLC je tato amplifikace vzácná, avšak pokud se vyskytuje, mají tyto nádory vyšší metastatický potenciál. Zdá se tedy, že amplifikace myc v nádorech plic je v průběhu patogeneze relativně pozdní událostí, která přispívá k agresivnějšímu biologickému chování a relapsu nádoru. Četné studie prokázaly, že mutace K-ras v kodonu 12, nebo nadměrná exprese jeho produktu p21ras jsou nepříznivými prognostickými faktory pro přežití pacientů s plicním karcinomem. Tyto aberace jsou nalézány především u NSCLC, zatímco u SCLC jsou vzácné. Zejména jsou postiženy karcinomy se spinocelulární diferenciací, zatímco adenokarcinomy a velkobuněčné karcinomy mají tuto expresi zpravidla nezměněnou. Spinocelulární karcinomy jsou rovněž signifikantně častěji spojeny s amplifikací nebo nadměrnou expresí c-erbB-2 (HER2/neu) a příbuzného receptoru pro epidermální růstový faktor (EGFR). Oba znaky jsou nepříznivými prognostickými faktory pro tyto pacienty. Mutace nebo delece genu pro pRb

u pacientů s vrozenou formou retinoblastomu zvyšují riziko vzniku plicního, především malobuněčného karcinomu oproti normální populaci 15x. Alterace tohoto genu byly zjištěny téměř u 100% SCLC a 50% NSCLC. V NSCLC byla nalezena inverzní závislost mezi expresí p53 a Bcl-2. Nadměrná exprese mutovaného p53 se vyskytuje u NSCLC s vyšším gradingem a vyšším výskytem metastáz. S tím souvisí fakt, že přežití pacientů s NSCLC bylo signifikantně lepší u pacientů s nižší expresí p53 v nádorech. Genetická predispozice ke vzniku karcinomů plic, zejména v souvislosti s kouřením, může souviset s polymorfismem genu CYP1A1, který patří do rodiny lidských cytochromů p450. Rovněž se ukázalo, že polymorfismy dalších členů této genové rodiny (CYP2D6, CYP2E1) a genu pro glutathion S transferázu (GSTM) mají význam pro predikci účinku karcinogenů v epitelu dýchacích cest.

Podle výše uvedených dat se zdá, že vývoj NSCLC se iniciuje strátou heterozygosity (LOH) v oblasti krátkých ramének 3. a zejména 9. chromosomu a tato změna se objevuje již ve stadiu hyperplasie bronchiálního epitelu. Následují bodové mutace nebo nadměrná exprese ras, která je typická pro stadium karcinoma in situ. Alterace myc se objevují až u invazivních karcinomů. Podle některých autorů je nejčasnější alterace LOH 9p, která stojí na počátku vývoje karcinomů dýchacího traktu všech primárních lokalizací od horních cest dýchacích až po plíce.

Vývoj karcinomů zažívacího traktu

Karcinomy jícnu

Představují závažný problém zejména v zemích Blízkého a Dálkého Východu i v Číně. V jejich etiologii se předpokládá účast kouření, stejně jako stravovacích zvyklostí souvisejících s obsahem nitrosaminů v potravě. Mezi významné prekancerózní léze patří tzv. Barrettův jícen (metaplastická přeměna vrstevnatého dlaždicového epitelu jícnu na cylindrický epitel střevního typu vlivem dráždění žaludečním obsahem při refluxní chorobě), ve kterém nastávají časem dysplastické změny progredující až v invazivní karcinom. Prognóza je obvykle špatná a šanci na přežití 5 let má méně než 20% pacientů. Existují dva histologické typy karcinomů jícnu: spinocelulární karcinom a adenokarcinom. Hereditární predisponující znaky nebyly jednoznačně potvrzeny. Byl však zjištěn význam četných onkogenů a nádorových supresorů, jejichž defekty provází vývoj karcinomů této lokalizace.

Předně byla ve více než polovině nádorů jícnu zjištěna amplifikace nebo nadměrná exprese genu CCND1/PRAD1, který kóduje regulační protein buněčného cyklu, cyklin D1. Amplifikace tohoto genu byla nalezena výhradně ve skupině spinocelulárních karcinomů, zatímco u adenokarcinomů byla potvrzena výjimečně jen jeho nadměrná exprese. Pravděpodobně to souvisí s faktem, že jednou z nejčastějších cytogenetických změn nádorů jícnu je amplifikace části 11. chromosomu 11q13, ve které se tento gen nachází. Další cytogenetickou změnou karcinomů jícnu je ztráta heterozygosity (LOH) v oblasti 13. chromosomu (13q14). V této oblasti se nachází gen pro nádorový supresor Rb, a proto byla analyzován vzájemný vztah mezi expresí cyklinu D1 a pRb. Ukázalo se, že všechny nádory nadměrně exprimující cyklin D1 měly normální hladiny pRb, zatímco mezi nádory, které neměly nadměrnou expresi/amplifikaci cyklinu D1 byla 1/3 nádorů exprimujících nadměrné množství pRb a 1/3 nádorů bez jakékoliv exprese Rb. Na základě této studie byly navrženy 3 modely, podle kterých může dojít k potlačení inhibiční úlohy pRb: (1) Nadměrná exprese cyklinu D1 může překonat normální expresi pRb, (2) ztráta exprese pRb může být způsobena přímo mutací genu Rb1, (3) mutace genů jiných než pro cyklin D1 (CCND1/PRAD1) mohou způsobit inhibici funkce pRb.

Pravděpodobně nejlépe prostudovaným genem ve spojitosti s karcinomy jícnu je gen p53. Ukázalo se, že produkt tohoto genu se akumuluje v obou histologických typech karcinomů této lokalizace s frekvencí kolísající podle různých studií od

30 do 90%. Rozporuplné výsledky byly dosaženy s ohledem na prognostický význam této akumulace. Zatímco některé studie poukázaly na možnost, že u spinocelulárních karcinomů je tato nadměrná exprese pozitivním faktorem a u adenokarcinomů negativním faktorem pro přežití, jiné studie to nepotvrdily. Za prokázané lze pokládat jen výsledky svědčící pro výraznou redukci délky přežití u pacientů, u kterých byla akumulace p53 prokázána v metastázách do lymfatických uzlin. Zvýšená exprese p53 byla rovněž zjištěna v metaplastickém epitelu Barrettova jícnu, přičemž frekvence se zvyšovala v dysplasticky změněném epitelu přímo úměrně se stupněm dysplasie. Mutace p53 byly nalezeny jak v karcinomech spinocelulárních, tak i glandulárních, stejně jako v epitelu Barrettova jícnu. To vše potvrzuje význam funkčního defektu p53 v časných fázích karcinogeneze jícnu. Asi 1/3 pacientů s karcinomem jícnu má navíc společný defekt p53 a Rb1, což může tendenci k vývoji nádorů ještě více potencovat.

Se zvýšenou expresí cyklinu D v nádorech jícnu může souviset nalezená zvýšená exprese autokrinních růstových faktorů EGF a TGF α . Okolo 30-70% karcinomů jícnu rovněž exprimuje vysoké hladiny receptoru pro EGF (EGFR). V karcinogenezi se s velkou pravděpodobností uplatňuje rovněž c-erbB-2 (HER2/neu), analog EGFR. Amplifikace genu pro tento receptor s aktivitou tyrosin kinázy byly zjištěny jen u spinocelulárních karcinomů jícnu. U přibližně 50% případů karcinomu jícnu byla rovněž nalezena LOH 9p a následně mutace MTS1 genu. Dále byly u skupiny adenokarcinomů, ale ne u spinocelulárních karcinomů jícnu, zjištěny různé replikační defekty související s nestabilitou mikrosatelitů.

Karcinomy žaludku

Přestože incidence karcinomů žaludku u nás, stejně jako ve většině zemí Evropy a Severní Ameriky stále klesá, jsou tyto nádory závažným medicínským problémem. Vysoká incidence je stále v Japonsku a zemích Dálného Východu. V poslední době se ukázalo, že v etiologii velké části karcinomů žaludku se pravděpodobně uplatňuje EB virus. Histologické typy karcinomů žaludku zahrnují převážně různé varianty adenokarcinomů. Jako velmi užitečná se ukázala tzv. Laurenova klasifikace karcinomů žaludku, která dělí nádory této lokalizace na dva typy, intestinální a difusní. Potvrdilo se, že toto dělení nejlépe odráží rozdíly morfologické, klinické i prognostické. Intestinální typ karcinomů žaludku se vyvíjí postupně z prekancerózních stavů jako jsou chronická gastritida, intestinální metaplasie a různé stupně dysplasie, jeho prognóza je relativně dobrá. Difusní typ karcinomů žaludku se však pravděpodobně vyvíjí de novo bez předchozích preneoplastických změn a jeho prognóza je významně horší než u předchozího typu. I když u karcinomů žaludku nebyl popsán specifický hereditární syndrom jako např. u karcinomů tlustého střeva, v některých rodinách byl pozorován zvýšený výskyt tohoto typu rakoviny, který se dědil autosomálně dominantním způsobem. Bylo rovněž pozorováno, že u hereditárních syndromů karcinomů tlustého střeva, jako jsou mnohočetná familiární polypózní adenomatóza (FAP) nebo Lynchův syndrom 2, se rovněž vyskytují ve zvýšené míře karcinomy žaludku.

Dvě rozdílné signální dráhy pro vývoj špatně diferencovaných a dobře diferencovaných karcinomů žaludku byly navrženy Taharou v roce 1995.

Špatně diferencované karcinomy, které jsou zpravidla totožné s difusním typem karcinomu dle Laurenovy klasifikace, vznikají přímo z normálních buněk, bez preneoplastických a premaligních mezistupňů, jako jsou intestinální metaplasie, hyperplasie a adenom. Klíčovou úlohu při jejich vývoji hraje vznik genetické nestability a defekty reparačních mechanismů. Pro zahájení vývoje vedoucího přímo ke vzniku časného karcinomu však musí dojít k defektům p53 a alelické ztrátě c-MET (onkogen kódující transmembránovou tyrosin kinázu s funkcí receptoru pro SF/HGF). Pro další vývoj karcinomu vedoucí k lokálnímu růstu a větší agresivitě jsou nutné další

změny spočívající ve ztrátě heterozygosity krátkého raménka 1. chromosomu (1p LOH), snížení až vymizení exprese cadherinu, nadměrné expresi TGF β a změnám jeho receptoru (TGFR) a rovněž k chybné transkripci CD44. Schopnost metastazovat je pak předurčena ztrátou heterozygosity dlouhého raménka 7. chromosomu (7q LOH), amplifikací genu c-MET a KSAM (člen rodiny receptorů pro fibroblastický růstový faktor) a pravděpodobně též snížením exprese nm23.

Dobře diferencované karcinomy, zpravidla konzistentní se skupinou intestinálního typu karcinomu dle Laurenovy klasifikace, prodělávají během vývoje typická morfologická mezistadia přes intestinální metaplasii, adenom a různé stupně dysplasie. Na počátku celého transformačního postupu stojí opět vznik genetické nestability v metaplasticky změněných buňkách. Pro vznik adenomu jsou důležité mutace p53, K-ras a APC. Vývoj dysplastických změn, směřujících ke vzniku časného karcinomu, je spojen se ztrátou heterozygosity dlouhého raménka 5. chromosomu (5q LOH), kde se nachází gen APC a se ztrátou nemutovaných alel p53. K tomu se přidružují změny typu nadměrné exprese c-MET. Vývoj směrem k více agresivnějšímu a progresivnějšímu karcinomu je do jisté míry podobný jako u výše popisovaného špatně diferencovaného karcinomu (to znamená změny TGFR a CD44). Rozdíly spočívají v tom, že u této dráhy nenastává ztráta exprese cadherinu, místo LOH krátkého raménka 1. chromosomu se objevují LOH dlouhého raménka (1qLOH) a bývají časté delece dlouhého raménka 18. chromosomu, které jsou místem genu DCC („deleted in colorectal cancer“) kódujícího protein homologní s adhezní molekulou pro neurální buňky. Rovněž genetické změny predisponující vývoj metastatického fenotypu žaludečního karcinomu jsou podobné změnám v obdobném místě vývojové dráhy špatně diferencovaného karcinomu (7q LOH, redukce exprese nm23). Navíc k nim přistupuje amplifikace genu c-erbB-2 (HER2/neu).

Karcinomy tlustého střeva a rektu

Je jedním z nejčastějších typů rakoviny jehož incidence je obzvláště vysoká v naší republice, stejně jako ve většině zemí Evropy a Severní Ameriky. Na rozdíl od četných karcinomů jiných lokalizací, nebyla u této diagnózy prokázána souvislost s kouřením. Histologické typy tohoto karcinomu zahrnují různé varianty adenokarcinomu. Prognosticky důležitější než histologický typ nádoru je staging onemocnění (nejčastěji užívané je rozdělení do stadií dle Dukese). Jsou popisovány dvě základní skupiny tohoto karcinomu, podle toho, zda se jedná o sporadický nebo hereditární nádor. Hereditární karcinomy tlustého střeva a rektu však rovněž tvoří homogenní skupinu. Kromě dobře poznávaných jednotek jako jsou hereditární nepolypózní kolorektální karcinom (HNPCC), která tvoří asi 5% všech karcinomů tlustého střeva a karcinomu při familiární adenomatózní polypóze (FAP), tvořící jen asi 1% všech kolorektálních karcinomů, existuje ještě poměrně rozsáhlá skupina karcinomů s familiárním výskytem (přibližně 19% všech karcinomů této oblasti), které nelze zařadit do žádné z výše uvedených skupin. Sporadický kolorektální karcinom tedy představuje asi 3/4 (75%) těchto karcinomů. Práce zabývající se genetickou nestabilitou kolorektálních karcinomů došly k závěru, že karcinomy při FAP a také většina (85-90%) sporadických karcinomů a familiárních karcinomů, které nesouvisí s HNPCC nebo FAP, vznikají v souvislosti s vývojem chromosomální nestability, zatímco všechny HNPCC a zbytek (10-15%) ostatních karcinomů vzniká v souvislosti s indukovanou mikrosatelitní nestabilitou. Karcinomy jejichž vznik a vývoj souvisí s chromosomální nestabilitou se vyvíjí na podkladě postupných genetických změn v buňkách kolorektální sliznice a mají řadu morfologicky definovaných mezistupňů. Tento model patogenetické dráhy, navržený Vogelsteinem na počátku 90. let minulého století, přesně definuje mutace a delece jednotlivých onkogenů a nádorových supresorů. Podle něj jsou pro změnu normálního epitelu v dysplastický nezbytné

LOH 5q, mutace nebo delece APC a amplifikace myc. Hypometylace DNA potom vede k vývoji adenomů a mutace genu K-ras a delece DCC na 18q ke vzniku adenomu s těžkou dysplasií. Teprve po LOH 17p a mutaci p53 však může dojít ke vzniku invazivního karcinomu a po deleci nm23 spolu s LOH 8p k vývoji metastatického fenotypu. Karcinomy jejichž vznik a vývoj souvisí s mikrosatelitní nestabilitou tvoří okolo 15% sporadických a do jiných skupin nezařaditelných nádorů, které vykazují mikrosatelitní nestabilitu označovanou někdy jako RER pozitivitu (replication error). Sporadické nádory s touto charakteristikou mají řadu vlastností podobných HNPCC. Jsou totiž často diploidní nebo blízce diploidní, vyskytují se v pravé části tračníku a mají lepší prognózu. Mezi důležité charakteristiky patří i to, že se rozvíjí v průměru o 2 dekády dříve než většina sporadických karcinomů (již ve 4. až 5. dekádě života), a přestože pacienti s nimi přežívají déle, jsou rezistentní k léčivům poškozujícím DNA. U pacientů s HNPCC je tato nestabilita způsobena mutacemi genů odpovědných za opravu chybného párování (viz příslušná kapitola), které se dědí autosomálně dominantním způsobem. V 80-90% případů se tyto mutace týkají genů hMLH1 a hMSH2. Tyto mutace vedou ke zvýšené incidenci bodových mutací a delecí/inzercí v krátkých opakujících se sekvencích DNA - tzv. mikrosatelitech. To je doprovázeno rovněž zvýšenou frekvencí mutací onkogenů a nádorových supresorů a aberací částí chromosomů, kde se tyto geny nachází. Jde buď o mutace inaktivující gen, nebo LOH, nebo hypermetylaci oblastí promotoru hMLH1 vedoucí k supresi transkripce. Kromě uvedených změn se v nádorech, jejichž vznik souvisí s mikrosatelitní nestabilitou, vyskytují častěji i defekty genů APC, TGFβ, bax atd.

Karcinomy jater

Většina pacientů s hepatocelulárním karcinomem má v anamnéze cirhózu jako následek prodělané hepatitidy B, hepatitidy C, autoimunní hepatitidy, primární biliární cirhózy, alkoholismu atd. Vznik hyperplasie tedy musí být jednou z podmínek, která předchází dalšímu vývoji směrem k premaligním a maligním lézím. Přesto infekce viry hepatitidy B a C (HVB, HVC) zvyšuje riziko tohoto vývoje. Odhaduje se, že infekce HVB a HVC, představují 5-10x vyšší pravděpodobnost vývoje hepatocelulárního karcinomu v cirhóze ve srovnání s cirhózou způsobenou alkoholickým poškozením jater nebo primární biliární cirhózou. Při srovnání s populací bez primárního poškození jater je toto riziko až 50násobně vyšší. Unikátní vlastností hepatocelulárních karcinomů je, že i v jednom nádorovém uzlu je možné pozorovat výraznou histologickou heterogenitu. Tato morfologická heterogenita je způsobena genetickou heterogenitou, související s výraznou chromosomální nestabilitou těchto nádorů. Popisované změny exprese p53 a jeho mutace jsou relativně až pozdní události během karcinogeneze. Detailnější informace o patogenetických drahách vedoucích ke vzniku hepatocelulárního karcinomu dosud nebyly publikovány.

Karcinomy pankreatu

Karcinomy pankreatu představují skupinu nádorů s velmi špatnou prognózou. Hlavním důvodem bezesporu je fakt, že vzhledem k anatomické lokalizaci slinivky, je diagnóza stanovena většinou pozdě, takže nádory již nejsou chirurgicky kurabilní. Geny spojené s vývojem tohoto nádoru se formálně rozdělují do tří skupin: (1) onkogeny, (2) nádorové supresory a (3) geny opravující genom. Do první skupiny patří K-ras, c-myc, c-erbB-2 a bcl-2, do druhé p53, p16, Rb, BRCA2 a DPC4 a do třetí MSH2 a MLH1. O většině z těchto genů bylo pojednáno v předcházejících odstavcích. Výjimkou je gen DPC4 (Deleted in Pancreatic Carcinoma) je lokalizován na chromosomu 18q a jeho specifická funkce dosud nebyla přesně popsána. Zjistilo se, že tento gen je homologií se skupinou genů označovaných jako Mad geny, které kódují signální transduktory přenášející signály od rodiny proteinů TGFβ k receptorům na

buněčných povrchích. Inaktivace DPC4 byly zjištěna u 50% pankreatických karcinomů. Z toho ve 30% případů je inaktivace způsobena homozygotní delecí a ve 20% případů mutací jedné alely a ztrátou druhé.

Vývoj karcinomů ženského a mužského genitálního traktu *Karcinomy prsu*

Karcinomy prsu/mléčné žlázy jsou nejčastější malignitou ženské populace a podílí se přibližně na 20% umrtí žen způsobených zhoubnými nádory. Předpokládá se, že 90% karcinomů prsu (pravděpodobně vhodnější je používat termín karcinom mléčné žlázy) vzniká z buněk lokalizovaných v tzv. terminální duktulo-lobulární oblasti (TDLU – terminal ductulo-lobular unit), na podkladě existující premaligní léze. Byla popsána kaskáda morfologických změn vedoucí k malignímu nádoru, zahrnující běžnou duktální a lobulární hyperplasii (UDH, ULH), atypickou duktální a lobulární hyperplasii (ADH, ALH) až po duktální a lobulární karcinom in situ (DCIS, LCIS), který je bezprostředním prekurzorem invazivního karcinomu. Pravděpodobnost, že se z léze vyvine karcinom je odstupňovaná: Pro UH se odhaduje zvýšení této pravděpodobnosti oproti případům z normálním morfologickým obrazem 0-2x, pro AH 4-6x a pro CIS 10x. Byly definovány 3 typy DCIS, které se liší svou diferenciací a označeny jako dobře, středně a málo diferencované DCIS. Nejnovější práce ukazují, že každý z těchto DCIS je předstupněm jiného typu invazivního karcinomu, který si podržuje diferenciační stupeň DCIS a který se pravděpodobně vyvíjí separátní patogenetickou drahou zahrnující jinou souslednost genetických alterací. Doposud se soudilo, že málo diferencovaný DCIS i invazivní karcinom se vyvíjí z dobře diferencovaných analogů.

Patogenetické dráhy vedoucí k různým typům karcinomů mléčné žlázy nejsou dosud poznány dokonale, avšak je jasné, že zahrnují defekty různých onkogenů a nádorových supresorů. Většina studií zabývajících se genetickou stránkou karcinogeneze analyzovala ztrátu heterozygosity (LOH) pomocí metody RFLP (restriction fragment length polymorphism analysis). Tyto studie odhalily, že genetické defekty se vyskytují již ve stadiu UDH a ULH a postihují více než 10 různých chromosomů. Postupem času se vyselektovaly oblasti genomu, jejichž poškození se v karcinomech mléčné žlázy vyskytuje nejčastěji a zjistilo se, že zahrnují některé známé geny, jejichž produkty fungují jako regulátory buněčného cyklu (cykliny, cyklin dependentní kinázy, endogenní inhibitory cdk), proliferace a diferenciace (myc, ras, jaderné estrogenní receptory, c-erbB-2) i jako nádorové supresory (p53, Rb, PTEN, BRCA1/2). Předpokládá se, že pro nádory se známkami dobré diferenciace je charakteristické zachování odpovědnosti na hormonální podněty zprostředkované receptory pro estrogeny a pro nádory špatně diferencované aktivace aberantní regulační dráhy řídící proliferaci bez ohledu na stav hormonální regulační kaskády, zprostředkované c-erbB-2.

Karcinomy prostaty

Karcinom prostaty obvykle vzniká v zadním laloku prostaty (periferní zóna). Nádor vyrůstá především ze žlázoého epitelu (submukózní a hlavní žlázy) a vyznačuje se různým stupněm diferenciace.

Předpokládá se, že základem maligní transformace a nádorové progresi je akumulace genetických změn, které ovlivňují expresi kritických genů. Počet genetických alterací potřebných pro plnou transformaci buňky se odhaduje na pět až deset, další změny jsou nutné pro získání metastatického potenciálu. Je pravděpodobné, že také vývoj a progresi rakoviny prostaty jsou způsobeny akumulací změn v genech, které řídí normální buněčnou proliferaci a homeostázu. Identifikace těchto genů a jejich alterací je důležitá pro pochopení mechanismů nemoci. Jejich znalost potom může usnadnit stanovení prognózy a predikce odpovědi na léčbu a umožnit vývoj nových léčebných postupů. Genetické alterace zahrnu-

jí nádorové supresorové geny (chromozomy 7, 10 a 16) a různé onkogeny.

Růst a přežití buněk primárních nádorů prostaty jsou do značné míry závislé na androgenech. Zpočátku je růst většiny nádorů prostaty androgen-dependentní, a proto většina pacientů úspěšně odpovídá na terapeutickou androgenovou blokádu. U části nemocných nádory po určité době přecházejí do stadia růstu na androgenech nezávislého. Tyto androgen-independentní nádory prostaty jsou potom rezistentní na konvenční chemoterapii. Molekulární mechanismy přechodu z androgen-dependentního na androgen-independentní stav jsou známy jen částečně. Ke vzniku androgenovou nezávislosti tak přispívají mutace a alterace receptorů pro androgeny (AR), aktivace onkogenů, inaktivace nádorových supresorových genů. Výsledky výzkumu ukazují, že detoxikační enzym glutathion S-transferáza π není exprimován ve více než 90% nádorů prostaty, u kterých je metylován jeho promotor. Předpokládá se, že je to jedna z nejčasnějších a nejběžnějších genomických alterací pozorovaných ve sporadických nádorech prostaty. U většiny nádorových buněk je i přes androgenní nezávislost prokazatelná vysoká exprese AR. V časných stádiích rakoviny prostaty je exprese AR velmi homogenní a receptor je exprimován v prakticky všech buňkách. V pozdním stadiu androgen-independentní rakoviny prostaty se charakter exprese stává heterogenní a objevuje se subpopulace buněk, které expresi AR úplně ztratily. Četné důkazy svědčí pro to, že AR hraje důležitou roli ve vývoji a progresi rakoviny prostaty a že regulační dráha zprostředkovaná AR zůstává částečně funkční i u hormonálně-rezistentních nádorů. Feldman se spolupracovníky formulovali v nedávné době pět potenciálních mechanismů, kterými se androgen independentní karcinomy prostaty mohou vyvíjet: (1) Zvýšení sensitivity androgenního receptoru na androgeny, (2) zvýšení schopnosti androgenních receptorů vázat různé jiné ligandy, (3) aktivace androgenních receptorů mechanismem nezávislým na androgenech, (4) obejití regulační dráhy zprostředkované androgenními receptory, (5) transformace a expanze epiteliálních kmenových buněk.

Karcinomy děložního krčku

V celosvětovém měřítku je karcinom děložního krčku druhou nejčastější malignitou ženské populace. Jeho incidence je obzvláště vysoká v méně vyvinutých zemích. Ukázalo se, že v etiologii tohoto typu rakoviny se u většiny případů uplatňují infekce lidskými papilomaviry (HPV), které jsou přenášeny pohlavním stykem. Mezi četnými typy HPV představují nejvyšší riziko pro vznik tohoto karcinomu typy HPV 16, 18, 31, 33, 35 a 45. Tyto viry nejsou příčinou vzniku jen rakoviny děložního krčku, ale rovněž rakoviny krycích epitelů celé anogenitální oblasti u obou pohlaví (vagina, vulva, konečník, penis).

Asi nejdůležitějším patogenetickým faktorem podporujícím vývoj karcinomu jsou dva časně geny označované jako E6 a E7, vyskytující se ve vysoce rizikových typech HPV, které inhibují funkci nádorových supresorů p53 a Rb. Postupně pak dochází ke vzniku genomové nestability, která vede k akumulaci neopravených chromosomálních abnormalit a selekci i expanzi klonů maligních buněk. Mezi dalšími geny, které se velmi často uplatňují v karcinogenezi epitelu děložního krčku, je třeba jmenovat myc (aktivuje se zejména v pokročilých stádiích choroby, proto se předpokládá, že je důležitý pro progresi k malignějšímu fenotypu), jehož nadměrná exprese je znakem vyšší pravděpodobnosti relapsu choroby.

Karcinomy endometria

Incidence tohoto typu rakoviny ve světě rovněž stále vzrůstá. Není běžná v rozvojovém světě, ale v rozvinutých zemích to je nejčastější nádor ženského genitálního traktu. Nejvyšší nárůst incidence byl zaznamenán v 70. letech 20. století v souvislosti s nekontrolovanou preskripcí preparátů s estrogenním efektem u postmenopauzálních žen. V současné době bylo

potvrzeno, že dlouhodobé užívání Tamoxifenu, nesteroidního estrogenového antagonisty i agonisty, zvyšuje u pacientek s karcinomem mléčné žlázy riziko vývoje endometriálního karcinomu.

Během posledních několika let došlo na základě poznání dvou molekulárních signálních drah k rozdělení endometriálních karcinomů do dvou typů: (1) Endometroidní karcinomy – tvořící asi 80% všech děložních malignit. Vznikají na základě atypické hyperplasie endometria a jsou podmiňovány estrogenní stimulací. Vyskytují se převážně u žen v premenopauze a perimenopauze a jsou provázány obezitou, hyperlipidemií, anovulací, neplodností a pozdním nástupem menopauzy. V typickém případě je tento nádor omezen na dělohu a má příznivou prognózu. K transformaci buněk endometria dochází po replikačních chybách způsobených mikrosatelitní nestabilitou (MN) a následné akumulaci mutací v onkogenech a genech kódujících nádorové supresory. Mimo mikrosatelitní nestabilitu se popisují 3 hlavní genové alterace: Mutace genů pro PTEN, K-ras a β -katenin. Všechny alterace se však nevyskytují ve všech nádorech současně. Uvádí se jejich následující frekvence: MN 25-30% případů, K-ras 10-30% případů, PTEN 37-61% případů, β -katenin 25-38% případů. Nádory s mikrosatelitní nestabilitou mají deficit genů odpovědných za opravu chybného párování a získávají tzv. „mutator“ genotyp. Nejčastěji vznikají mutace genů pro TGF- β , Bax, receptor pro insulin-like růstový faktor II (IGF II), hMSH3 a hMSH6. Ukázalo se, že mikrosatelitní nestabilita je důsledkem chybné metylace způsobené hypermetylací promotoru genu MLH-1, která se pravděpodobně vyskytuje již v časných fázích karcinogeneze. (2) Non-endometroidní karcinomy – představují asi 10% děložních malignit. Histologicky se zpravidla jedná o papilární a serózní karcinomy vznikající někdy v endometriálních polypech nebo z prekancerózních lézí vyvíjejících se v atrofickém endometriu. Tento typ nádorů není závislý na estrogenní stimulaci a nevzniká na podkladě hyperplasie. Velmi často roste invazivně do myometria a proniká do cév. Jeho prognóza je špatná, úmrtnost na něj je vysoká. K vývoji karcinomu dochází po alteracích genu p53 a ztrátě heterozygosity na čtených chromosomech.

Rozdělení na oba typy nelze chápat dogmaticky, protože existují výjimky, které vybočují z tohoto schématu. Například nedávno bylo zjištěno, že některé non-endometroidní karcinomy se mohou vyvíjet na podkladě dříve vzniklého endometroidního karcinomu.

Karcinomy ovárií

Epidemiologické studie týkající se těchto karcinomů nedávají jednotné výsledky, protože incidence i mortalita se dost výrazně liší jak u blízkých zemí, tak i v závislosti na věku. Molekulárně genetické studie jsou omezeny na studium pokročilých stádií, protože vzhledem k anatomickým poměrům není možné získat premaligní léze tak často, jako u jiných typů nádorů. Jedním z nejčastějších se vyskytujících znaků, zejména u pokročilejších stádií, je amplifikace genu myc (asi 30% všech nádorů ovaria). Dále byly nalezeny mutace genu K-ras a to častěji u mucinózních adenokarcinomů (asi 45%), než u serózních adenokarcinomů (asi 16%). Tyto mutace se také častěji vyskytují u hraničních lézí, což dovoluje spekulovat o tom, že tato mutace může být relativně časnou událostí v procesu karcinogeneze. Podobně jako u karcinomů mléčné žlázy, je asi u 30% případů karcinomu ovaria zjišťována amplifikace c-erbB-2, která silně koreluje se špatnou prognózou tohoto karcinomu. Vysokou frekvenci výskytu má rovněž ztráta heterozygosity (LOH), která bývá detegována zejména na chromosomech 6p, 6q, 9q, 13q, 17p a 17q. Předpokládá se, že právě chromosom 17 může hrát při vývoji ovariálního karcinomu klíčovou úlohu, protože na jeho krátkém raménku se nachází lokus pro p53 a na dlouhém raménku lokus pro BRCA1. Asi 5-10% ovariálních karcinomů vzniká na podkladě vrozené predispozice, která se může projevit třemi způsoby: (1) společně

s predispozicí ke karcinomům mléčné žlázy, typický je mnohočetný výskyt v mladším věku, (2) společně s predispozicí k hereditárnímu nepolypóznímu kolorektálnímu karcinomu a endometriálnímu karcinomu a (3) vznikem místně specifického (site-specific) ovariálního karcinomu.

Nádory varlat

Testikulární nádory z germinálních buněk (zde je míněn především seminom) jsou poměrně vzácné novotvary, jejichž incidence nevzrůstá. Maximální výskyt je v mladém nebo mladším věku. Nádory poměrně dobře reagují na konvenční chemoterapii a aktinoterapii a jejich mortalita je nízká. Zatím chybí podrobnější údaje o molekulárních změnách indukujících a provázejících karcinogenezi. Z chudých údajů, které jsou k dispozici, se soudí, že důležitým genem v tomto procesu by mohl být myc.

Vývoj karcinomů ledvin a odvodných cest močových

Karcinomy močového měchýře

Přestože incidence karcinomů močového měchýře celosvětově, zejména ve vyvinutých zemích, stále vzrůstá, jeho mortalita je na ústupu. V zemích, kde se karcinom močového měchýře vyskytuje častěji, je rovněž vysoká incidence karcinomů ledvin. To nepřímo dokazuje, že obě tyto funkčně a anatomicky příbuzná místa mohou být vystavena působení podobných karcinogenních vlivů. Byl dokázán vliv fenolických látek a aromatických aminů vyskytujících se v životním prostředí na karcinogenezi přechodného epitelu odvodných močových cest, včetně močového měchýře. Předpokládá se, že 20-25% karcinomů močového měchýře vzniká na podkladě působení xenobiotik, které se do formy lokálně působícího karcinogenu transformují metabolickými enzymy. Tyto enzymy, vyskytující se v játrech stejně jako přímo v epitelu močového měchýře, mohou aktivovat nebo inaktivovat karcinogeny v závislosti na jejich struktuře. Mnoho úsilí bylo věnováno odhalení genetických změn, které předchází vzniku genetické nestability vedoucí až k vývoji maligního metastatického fenotypu. Téměř ve 30% sporadických karcinomů močového měchýře, které se vyznačovaly vyšší agresivitou, byla odhalena ztráta heterozygosity (LOH). Velmi častou událostí vyskytující se již v dysplasticky změněném epitelu močového měchýře bývají dalece nebo mutace p53. U karcinomů invadujících do svalové vrstvy močového měchýře byly tyto změny prokázány v 50-70% případů. Nejméně 50% případů karcinomů má dalece genu pro p16 na chromosomu 9p21. Tento protein reguluje fosforylaci proteinu pRb. Nejčastější delecí, která se vyskytuje u papilomu a papilokarcinomů nízkého stupně malignity je ztráta velké oblasti na chromosomu 9q (9q13-9q33). Další progresi těchto karcinomů je spojena s mutacemi p53 a Rb a ztrátami na chromosomu 8p, někdy je provázena rovněž aktivací c-erbB-2 (14% případů). 20% nádorů vykazuje amplifikaci segmentu 11q13, pravděpodobně obsahující gen CCND1 kódující protein cyklin D1, 6-30% aktivující mutaci H-ras. Významným faktorem uplatňujícím se v karcinogenezi močového měchýře pravděpodobně je i gen pro receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR). Jeho nadměrná exprese/amplifikace se objevují již v preinvazivních stádiích (stadium Ta), u části nádorů se asi uplatňuje až později při přechodu ze stadia T2 do stadia T3a.

Karcinomy ledvin

Naprostou většinu případů karcinomů ledvin představují světlolobuněčné karcinomy Grawitzova typu. Klinické chování karcinomů ledvin je těžko předvídatelné, i když bylo stanoveno několik znaků, jako jsou stadium tumoru a ploidie, které asi prognostický význam mají. Tyto nádory mají vysoký metastatický potenciál a asi 1/3 pacientů má přítomny metastázy již v čase diagnózy. U většiny pacientů s Von Hippel-Lindauovou (VHL) chorobou se vyvíjí v konečné fázi renální karcinom. Gen odpovědný za tuto chorobu se nachází na krátkém

raménku 3. chromosomu a jeho produkt funguje jako nádorový supresor. Ačkoliv defekty příslušného lokusu na 3. chromosomu byly zjištěny i u sporadických karcinomů ledvin, není stále známo, zda během života získané mutace tohoto genu mohou vývoj sporadického renálního karcinomu indukovat. Mutace genu VHL jsou pravděpodobně nejčastější příčinou vrozeného karcinomu ledvin a pravděpodobně, ve spojení s translokací t(3;8), jsou odpovědné za familiární výskyt tohoto nádoru.

Vývoj neuroektodermálních nádorů

Do skupiny neuroektodermálních nádorů se řadí všechny tumory vznikající z buněk centrálního i periferního nervového systému, které mají původ v buňkách embryonální neurální trubice (tzv. neuroektodermu). Patří sem gangliové buňky (neurony), gliové buňky dělí se na astrocyty a oligodendrocyty a Schwannovy buňky se svými deriváty, melanocyty. Proto celá skupina tvoří značně heterogenní skupinu zahrnující nádory typu meduloblastomů, oligodendrogliomů, astrocytomů, neuroblastomů, neurinomů (Schwannomů), neurofibromů melanomů a dalších. Patogenetické dráhy vedoucí ke všem typům neuroektodermových nádorů nejsou dosud poznány úplně. Přesto bylo dosaženo velkého pokroku v porozumění některých genetických drah u gliálních nádorů, neurofibromů a maligních melanomů (melanoblastomů).

Astroglální nádory

Byly identifikovány dvě dráhy, které odrážejí rozdílné fáze vývoje těchto nádorů: (1) dráha iniciace a (2) dráha progresu. Průběh iniciační dráhy je umožněn inaktivací (mutací) genu p53 (TP53). Vlastní vývoj astrocytomů (vznik astrocytomu grade II) je však pravděpodobně iniciován aktivací signální dráhy zprostředkované PDGF (platelet-derived growth factor) a PDGFR (receptor PDGF). Podílí se na ní defekty genu ras a receptorů tyrosin-kináz. Vznik pilocytárního astrocytomu (grade I) je umožněn ztrátou genu NF1. Progrese v těchto nádorech je zahájena inaktivací nebo ztrátou nádory suprimujícího genu Rb a následována amplifikací genu pro cyklin dependentní kinázu 4 (CDK4). Primární glioblastom se vyvíjí přímo z prekurzorových buněk po inaktivační mutaci nebo delecii genu kódujícího p16 (INK4A). Podpůrnými faktory jsou mutace a amplifikace genu pro receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR) i amplifikace MDM2, která způsobí vyřazení funkce p53, v případě, že není již primárně mutován. Dalším nádorovým supresorem, který je vyřazen z funkce v průběhu progresu je gen PTEN. Lze tedy shrnout, že ztráta funkce p53 spolu s nadměrnou expresí PDGF a PDGFR vede ke vzniku astrocytomu nízkého stupně malignity (grade II). Pilocytární astrocytom (grade I) se vyvíjí samostatnou dráhou po ztrátě genu NF1. Další progresu směrem k astrocytomům vyššího stupně malignity (grade III a IV) a sekundárnímu glioblastoma multiforme (GBM) je umožněna ztrátou genu Rb a amplifikací genu pro CDK4. Primární glioblastom má rovněž separátní vývojovou dráhu, která podporuje přímou transformaci k vysoce malignímu fenotypu bez zmíněných mezistadií. V této dráze se popisují ztráty genů INK4A (p16) a PTEN, spolu s amplifikacemi (mutacemi) genů pro receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR) a MDM2.

Nádory periferního nervového systému

V této části budeme diskutovat vznik a vývoj neurofibromu a maligního nádoru periferního nervového pochvy (malignant peripheral-nerve-sheath tumor – MPNST). Neurofibromy mají dvě charakteristické vlastnosti. Vznikají uvnitř periferního nervu a jsou tvořeny heterogenní směsí buněčných typů, které jsou přítomny v normálním periferním nervu (Schwannovy buňky, perineurální buňky, neuronální vlákna, fibroblasty a infiltrující mastocyty). I když neurofibromy mohou vznikat sporadicky, typický je jejich mnohočetný výskyt v rámci onemocnění označovaného jako neurofibromatóza 1. typu. V rámci tohoto

onemocnění mohou vznikat dva hlavní typy neurofibromů. Nejčastěji to je dermální neurofibrom, vyvíjející se a progresující nejčastěji v době puberty. Někdy ale již v době embryonálního vývoje se může vytvořit tzv. plexiformní neurofibrom a to přímo v kranálních a spinálních nervech. Faktorem, který umožňuje vznik a vývoj těchto tumorů, je mutace genu NF1. Nepředpokládá se mutace obou alel tohoto genu, tak jak je tomu například u MPNST, feochromocytomu apod., ale postačuje ztráta jedné alely. Často u těchto nádorů bývá rovněž zvýšená exprese receptoru pro EGF (EGFR). Další progresi směrem k MPNST je umožněna kromě kompletní ztráty obou alel NF1, také genetickými alteracemi genů pro p53 (TP53), p16 (INK4A), pRb (Rb) a p27 (Kip1).

Melanoblastomy

U této skupiny zhoubných nádorů byly popsány četné změny na různých chromosomech. Týkají se ztráty heterozygosity (LOH) na chromosomech 1p, 6q, 6p, 7, 9p, 10q, 11q, 17p, 17q. Postupně byly identifikovány geny, které s těmito změnami souvisí a určena časová souslednost těchto změn. Pro vznik maligního melanomu je důležitá vrozená predispozice, která se s velkou pravděpodobností týká zárodečné mutace ve dvou genech: cdk4, kódující cyklin dependentní kinázu 4 a INK4A, kódující inhibitor cyklin dependentní kinázy 4 (protein p16). Oba produkty jsou bezprostředně zapojeny do regulace buněčného cyklu. Gen INK4A je klasický nádorový supresor, jeho inaktivace může být způsobena delecí, bodovou mutací nebo metylací promotoru. U případů familiárně se vyskytujícího melanomu postihuje zárodečná mutace jednu alelu, druhá alela je pak inaktivována během života somatickou mutací nebo ztrátou heterozygosity. U sporadických případů melanomu jsou obě alely inaktivovány až v průběhu života, pravděpodobnost vzniku nádoru se tím však výrazně snižuje. Naproti tomu gen cdk4 se chová jako klasický onkogen, to znamená, že se chová jako dominantní gen a ke ztrátě jeho funkce stačí mutace jedné alely. Předpokládá se, že pro vznik běžného, během života získaného, pigmentového névu z normálních melanocytů je nutný vrozený defekt jedné alely alespoň jednoho z obou zmiňovaných genů nebo vrozená inaktivace jedné alely dalšího nádorového supresoru, genu PTEN (viz příslušná kapitola). Pro vývoj směrem k dysplastickému névu nebo melanomu in situ (lentigo maligna) je nutná inaktivace, inaktivační mutace nebo dále druhé alely buď genu na chromosomu 9p (INK4A), nebo na chromosomu 10q (PTEN). Pro přechod do fáze radiálně rostoucího maligního melanomu je nutná úplná ztráta exprese proteinu p16 (produkt INK4A) doprovázená mutací p53 nebo N-ras. Obě posledně jmenované události jsou také důležité pro další vývoj směrem k vertikálně se šířícímu malignímu melanomu, avšak přidružují se k nim i dále blíže neidentifikovaných genů na chromosomu 6q. Pro získání metastatického fenotypu maligního melanomu jsou důležité dále genů na chromosomech 1p, 3p, 11q, 17p a 17q. Pravděpodobně tím dochází, mimo jiné, k inaktivaci genů pro β -katenin, NM-23 a NF1. K těmto posaným genetickým změnám se pravděpodobně přidružují i defekty genů opravujících chybné párování DNA a defekt genu EWS (Ewingova sarkomu).

Neurofibromatóza typu 1

Vznik tohoto mnohočetného nádoru souvisí s mutací genu NF1. V současné době se popisuje více než 100 jeho rozdílných mutací. Jedinou poměrně častější mutací vyskytující se v lézích pacientů s neurofibromatózou typu 1 byla záměna C za T v exonu 31. Podle některých pramenů lze očekávat, že za různý klinický průběh i morfologii neurofibromatózy mohou být zodpovědné tři geny zavzaté do 27. intronu NF1. Tyto geny mají označení EVI2A, EVI2B a OMPG.

Neurofibromatóza typu 2

Její vznik závisí na defektech genu NF2, které vznikají v souvislosti s delecí, bodovou mutací, insercí a poruchou sestřihu.

Mutace jsou obvykle rodinně specifické, záměna C za T v 57. kodonu je relativně častá. Sporadické neurinomy (Schwannomy) a meningiomy mají poměrně často popisovanou inaktivující somatickou mutaci NF2. Pro vznik nádoru jsou však nutné mutace obou alel.

Neuroblastom

Je jedním z nejčastějších nádorů dětského věku. Cytogenetické studie předpověděly inaktivaci nádorových supresorů a aktivaci onkogenů na chromosomu 1p36. Byly zde objeveny oblasti, jejichž sekvence DNA jevíla částečnou homologii s genem N-myc. Amplifikace tohoto genu je v neuroblastomech rovněž velmi častá a dá se předpokládat, že má kauzální význam.

Ewingův sarkom

Ve více než 80% případů tohoto nádoru byla zjištěna translokace t(11;22)(q24;q12). Touto přestavbou dochází opět k tvorbě fúzního genu spojujícího některé vlastnosti genu EWS a FLI1. U části případů byla rovněž nalezena translokace t(21;22), která vede ke vzniku dalšího fúzního genu EWS/ERG, umožňující produkci fúzního proteinu. Jak FLI1, tak ERG jsou transkripčními faktory.

Vývoj jiných typů solidních nádorů

Retinoblastom

Vývoj tohoto nádoru souvisí s vrozenými nebo získanými mutacemi genu Rb1.

Wilmsův nádor

Nádor je způsoben vrozenou nebo získanou mutací genu WT1. Tyto mutace mají většinou charakter dalece nebo bodové mutace. Zejména mutace v oblasti zinkového prstu molekuly vedou ke ztrátě schopnosti tohoto proteinu se vázat k DNA, zatímco mutace v oblasti jeho transaktivací domény změny represní funkce proteinu na aktivací. Některé zárodečné mutace WT1 genu způsobují těžké poškození v rámci tzv. Denis-Drashova syndromu (dysgeneze gonád, neuropatie, výskyt Wilmsova nádoru). Wilmsův nádor se rovněž vyvíjí u tzv. Beckwith-Wiedemannova syndromu (makroglosie, gigantismus, zvýšený výskyt nádorů, často Wilmsův nádor), který je spojen s defekty na chromosomu 11p15. V této oblasti bylo identifikováno několik dalších kandidátních genů, které se mohou spolupodílet na vývoji Wilmsova nádoru. Jsou to IGF2 a WT2. Konečně, v rodinách s výskytem Wilmsova nádoru byl na 11. chromosomu identifikován další kandidátní gen WT3.

Mnohočetná endokrinní neoplasie (MEN1, MEN2)

MEN 1 je syndrom provázející vrozené endokrinně aktivní nádory příštítných tělísek, pankreatu a přední hypofýzy. MEN 2 se dělí na MEN2A a MEN2B, které spolu s familiárním medulárním karcinomem štítné žlázy (FMTC) tvoří tři rozdílné klinické syndromy dědicí se autosomálně dominantním způsobem. MEN2A a 2B bývají rovněž spojeny se vznikem feochromocytomu.

Gen pro MEN1 byl identifikován na chromosomu 11q13. Defekty tohoto chromosomu byly objeveny rovněž u sporadických forem nádorů výše uvedených lokalizací. Pro vznik nádoru je však nezbytná inaktivace obou alel.

Gen pro MEN2A byl nalezen na chromosomu 10. Ve stejné oblasti byly zjištěny rovněž geny odpovědné za MEN2B a FMTC. Produkt genu má funkci receptorové tyrosin kinázy, její aktivace zesiluje signální transdukcii vedoucí k buněčné proliferaci. Mutace genu pro MEN2A a FMTC se primárně vyskytují v extracelulární doméně bohaté na cystein a způsobují substituci cysteinu jinou aminokyselinou. Jedna z nejčastějších mutací, která je spojená i s vývojem karcinomů příštítných tělísek je náhrada cysteinu v kodonu 634 argininem. Pro vývoj MEN2B je nezbytná mutace v kodonu 918, při které dochází k náhradě threoninu methioninem v tyro-

zin kinázové doméně genu nazvaného RET. Tento gen má tak funkci onkogenu.

Tuberózní skleróza

Jde o sporadicky se vyskytující nebo autosomálně dominantně děděný syndrom zahrnující mnohočetné hamartomy v různých orgánech, včetně kůže, ledvin, mozku, srdce, retiny a plic. Počet sporadických případů je asi dvakrát větší než počet případů vrozených. Rodiny s výskytem tohoto onemocnění mají asi ve 30-50% případů LOH na chromosomu 9q43, zbývající část postižených rodin zpravidla na chromosomu 16. Předpokládá se, že geny způsobující tuberózní sklerózu působí pravděpodobně jako nádorové supresory. Gen z chromosomu 16 se nazývá TSC2 a kóduje protein nazvaný tuberin. Je homologí s GTPázou aktivujícím proteinem GAP3. Gen na chromosomu 9 dostal označení TSC1 a jeho přesná funkce dosud nebyla zjištěna.

Rabdomyosarkom

Většina případů (okolo 60%) se histologicky jeví jako embryonální rabdomyosarkom, mezi zbývajícimi případy dominuje diagnóza alveolárního rabdomyosarkomu. Chromosomální abnormity byly zjištěny u obou histologických typů. U první-

ho však jsou dosti nespecifické, zatímco druhý případ vykazuje typickou translokaci t(2;13)(q35;q14). Na chromosomu 2 byl zjištěn zlomový bod právě v místě genu PAX3, který reguluje embryonální vývoj a na chromosomu 13 lokalizace genu pro transkripční faktor označovaný jako FKHR (forkhead transcription factor). Chromosomálními přesuny dochází k tvorbě fúzního genu kódujícího část molekuly PAX3 společně s DNA vazebnou doménou FKHR. To vede k produkci fúzního proteinu schopného vázat normální cílové geny produktu PAX3, ale s aberantní regulací transkripce. Nedávné studie našly rovněž u embryonálního rabdomyosarkomu LOH v oblasti chromosomu 11p15.5. V tomto lokusu se předpokládá existence nádorového supresoru, jehož inaktivace může vést k vývoji nádoru. Je zajímavé, že stejná oblast je zapojena do vývoje Wilmsova nádoru a že oba typy nádorů mohou být součástí výše zmiňovaného Beckwith-Wiedemannova syndromu.

Práce byla podpořena MSM151100001

Literatura souhrnně

Z. Kolář a kolektiv: Molekulární patologie nádorů. Monografie. EPAVA, Olomouc 2003, 168 stran. (ISBN 80-86297-15-2).