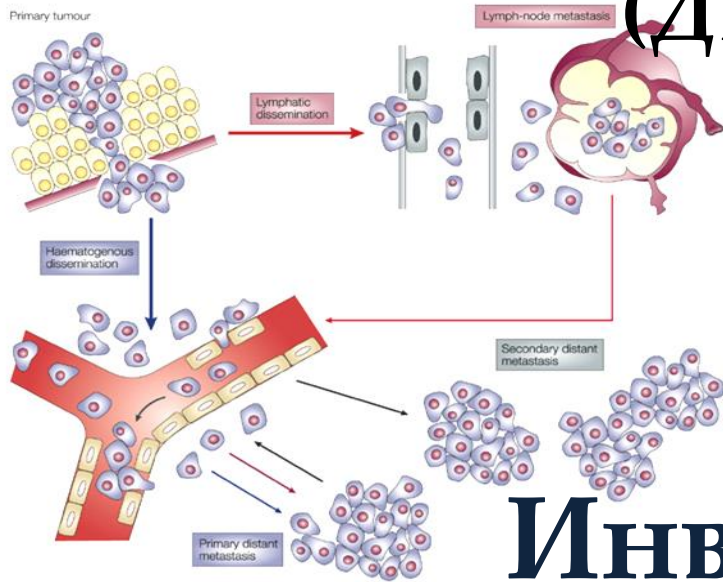


НАСТАВНА ЈЕДИНИЦА 10 (ДЕСЕТА НЕДЕЉА)



Инвазивност и метастазирање тумора

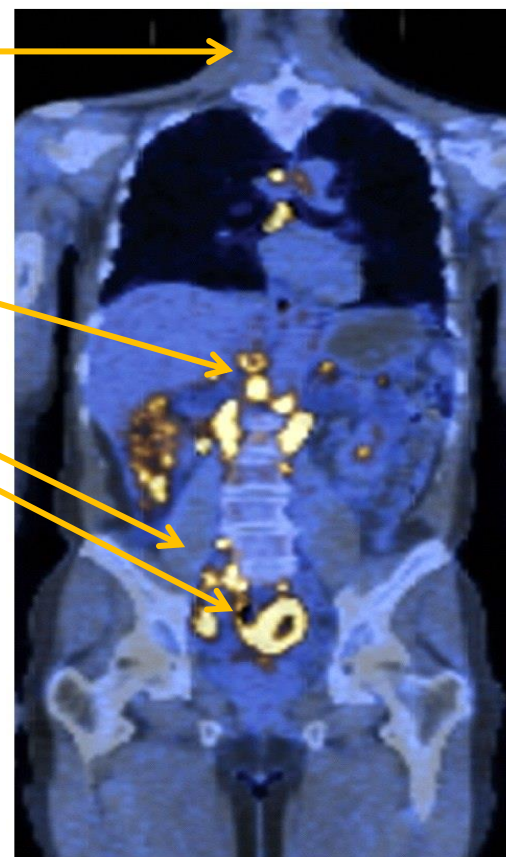
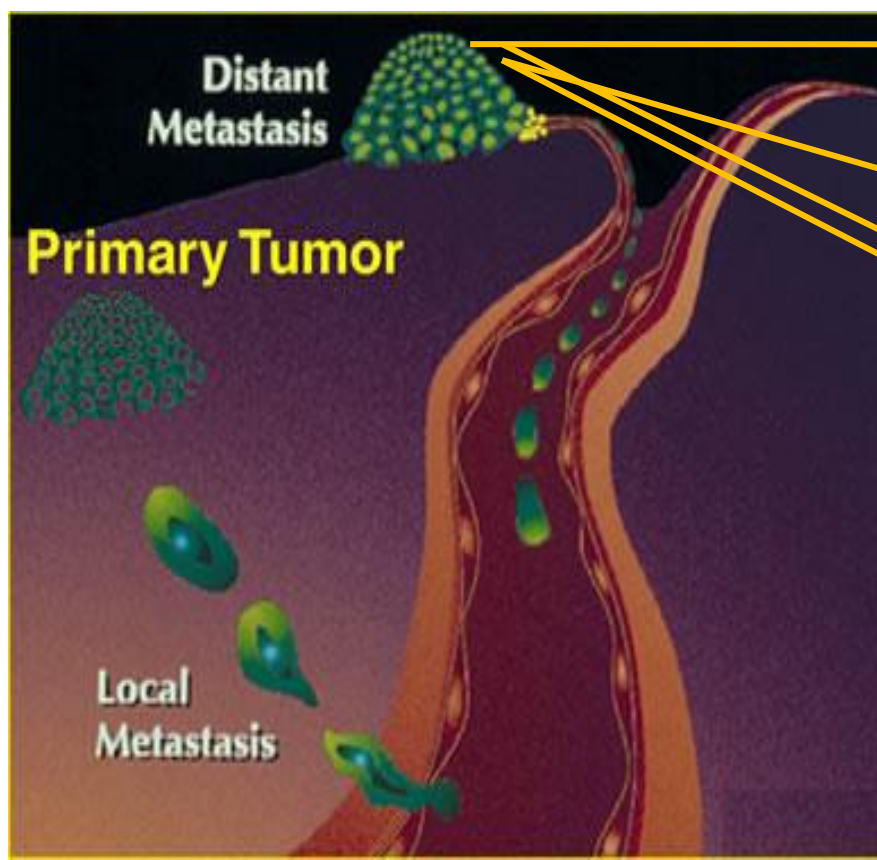
*Основни принципи инвазивног раста
тумора*

*Генетска основа и механизми
метастазирања*

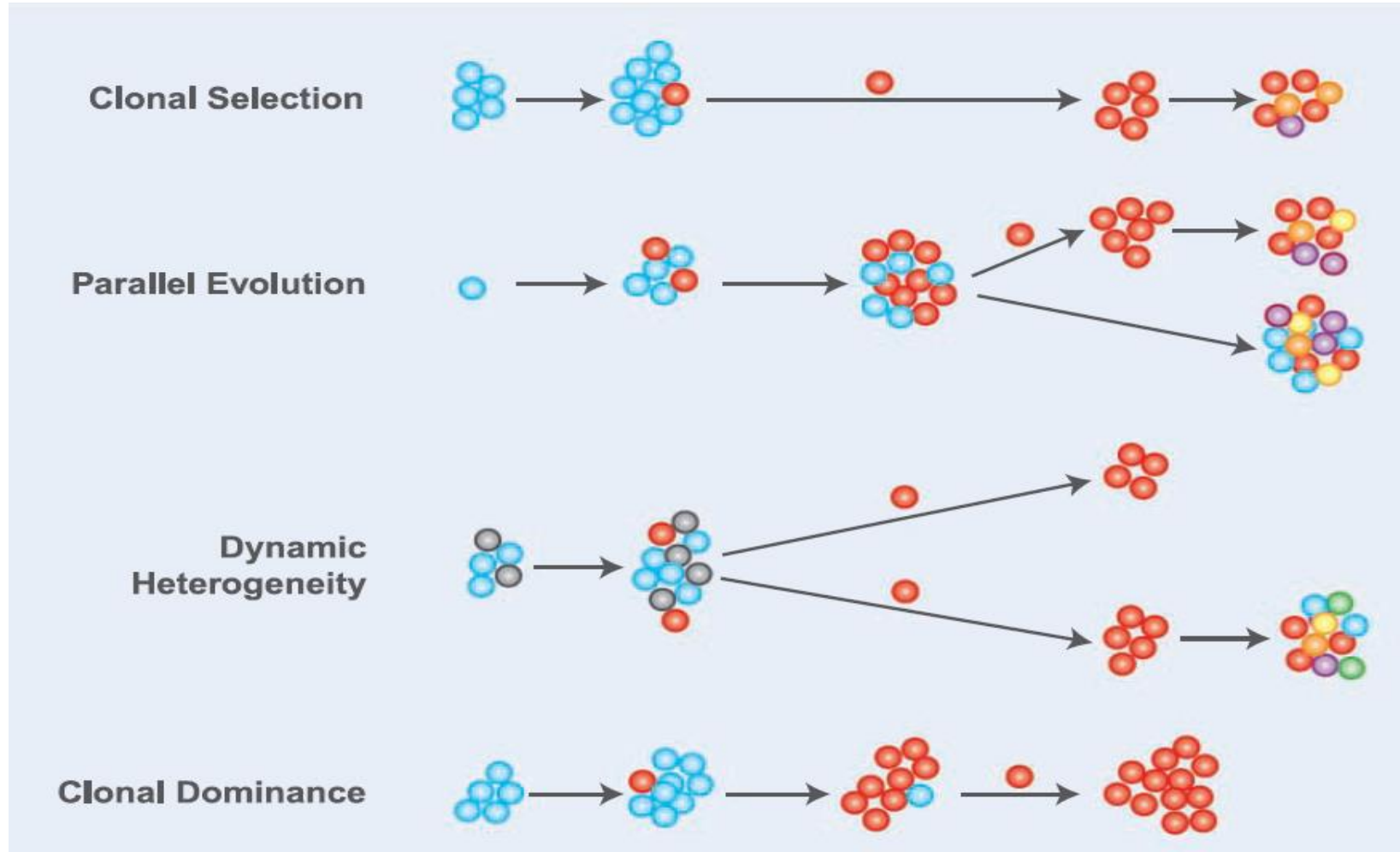
Метастазирање тумора је процес ширења малигних ћелија из примарног тумора у удаљена места.

Успостављање метастаза је последњи квалитативни корак прогресије малигних тумора.

Динамика прогресије зависи од генетских мутација, ћелијске селекције и ткивне организације.



Свака генетска промена у малигно трансформисаној ћелији подлеже клонској селекцији.

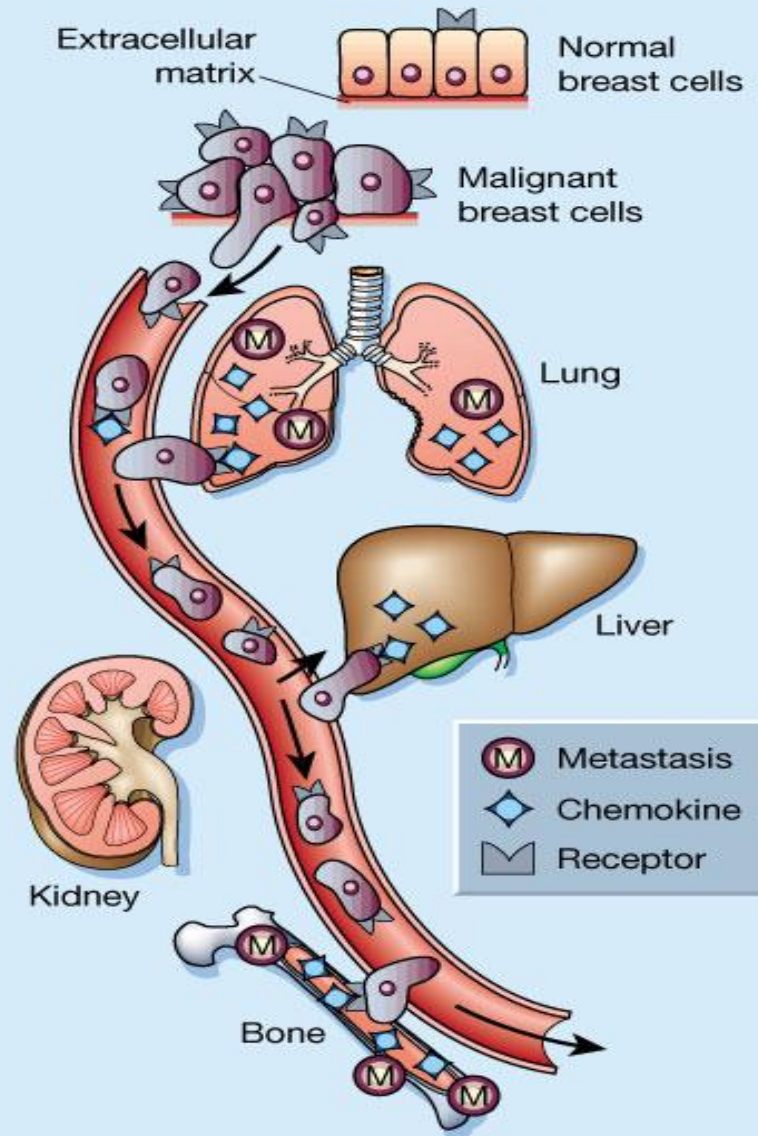




Stephen Paget (1855-1926)

Године 1889. Stephen Paget је поставио теорију метастазирања под називом "*seed and soil*".

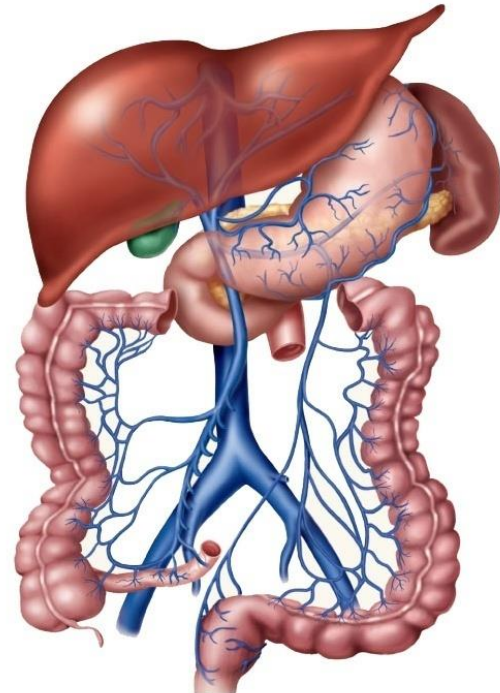
Орган-специфично метастазирање



James Ewing

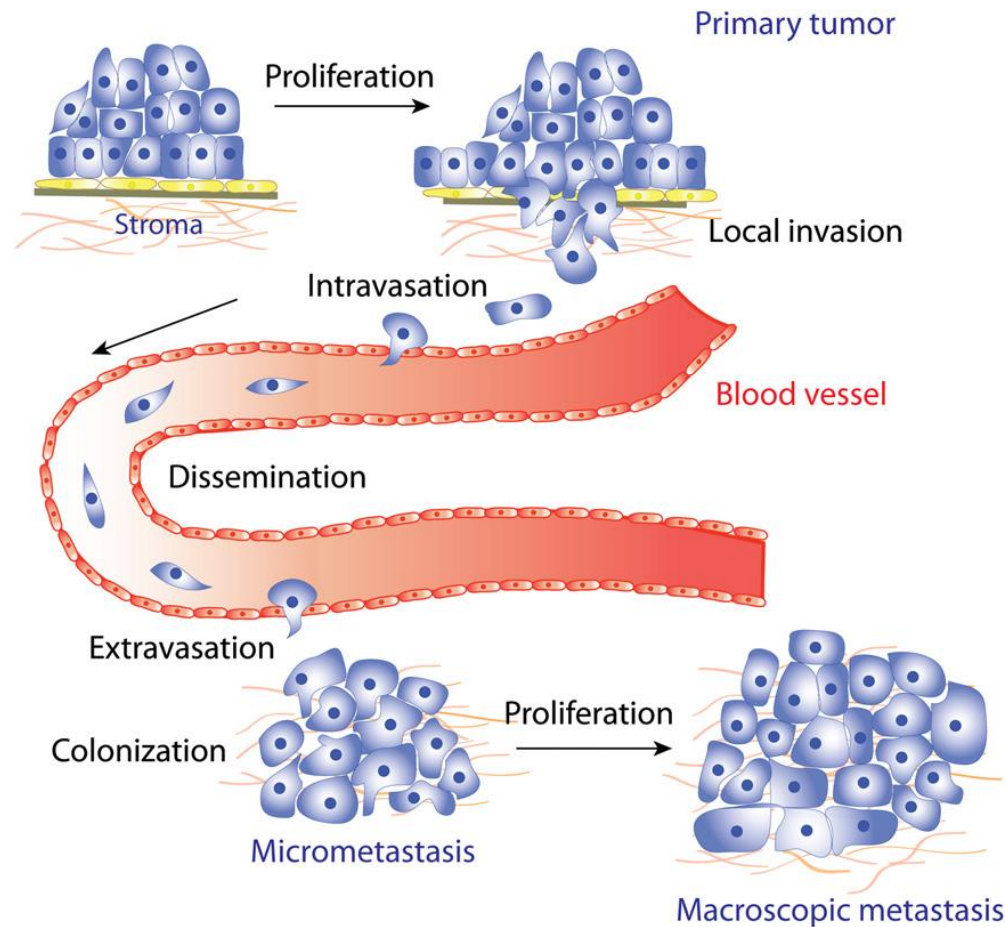
(1866- 1943)

Ткивни тропизам малигних ћелија је резултат механичких фактора и образаца циркулације примарног тумора.



Главни кораци у метастатској каскади су...

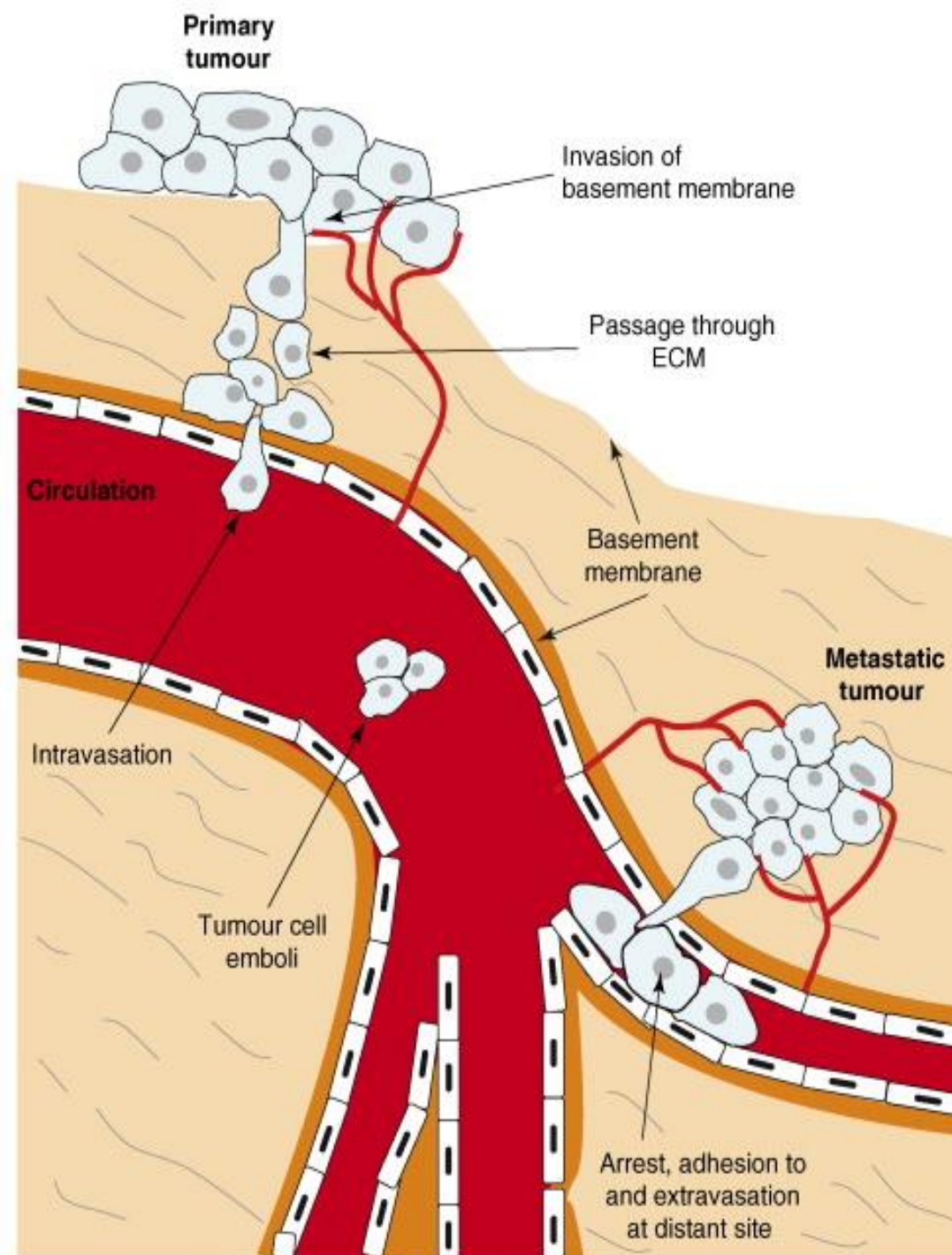
- ✓ Инвазија и покретљивост
- ✓ Интравазација и преживљавање у циркулацији
- ✓ Екстравазација малигних ћелија у паренхиматозне органе
- ✓ Раст метастатских колонија у удаљеним органима

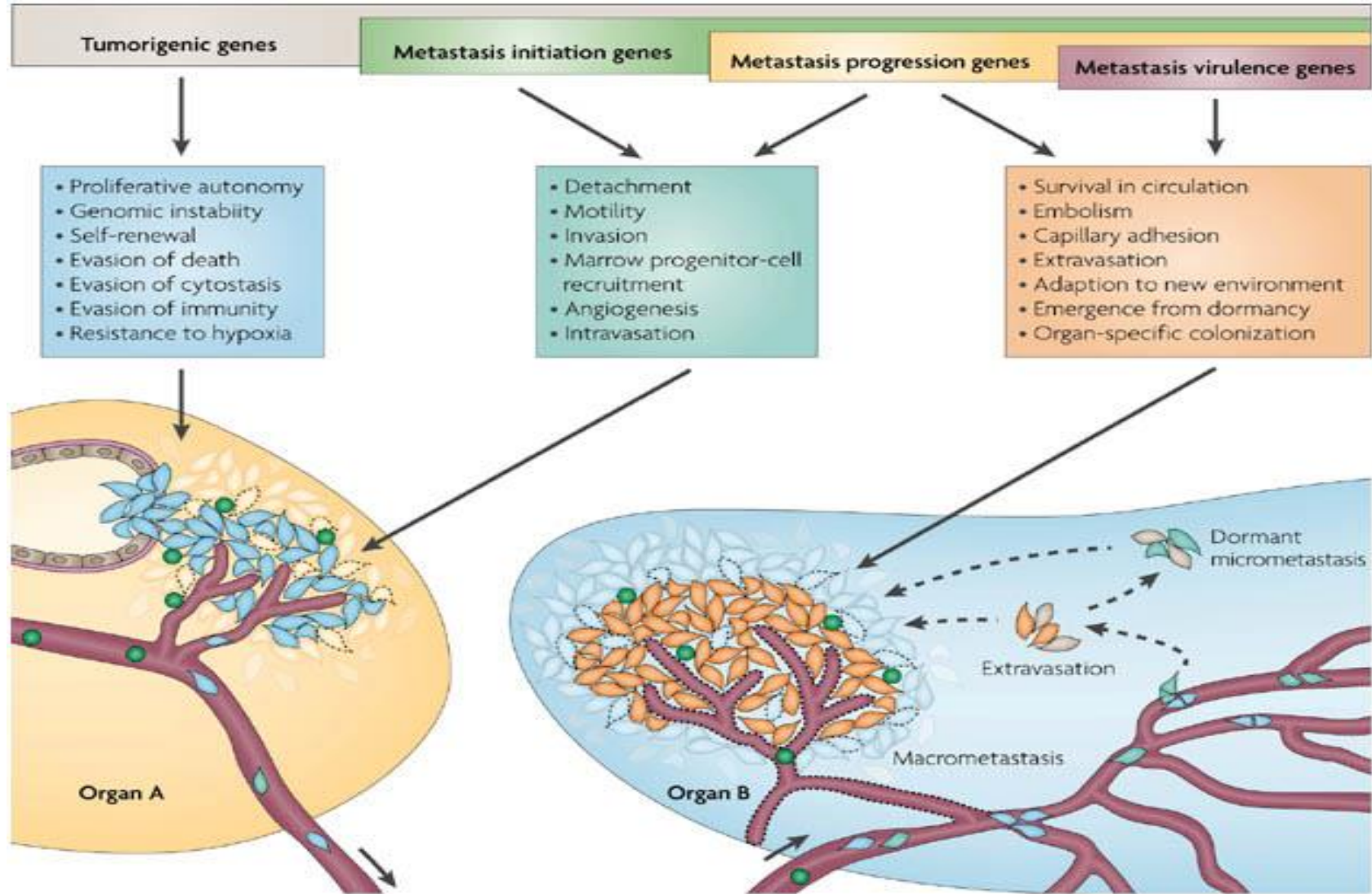


Метастатска каскада

Сви кораци у метастатској каскади су неопходни за успешно формирање метастаза. Ако изостане само један од корака, метастазирање туморских ћелија је безуспешно.

Само оне туморске ћелије које су претрпеле све неопходне генетске промене могу успешно да формирају метастатска жаришта.



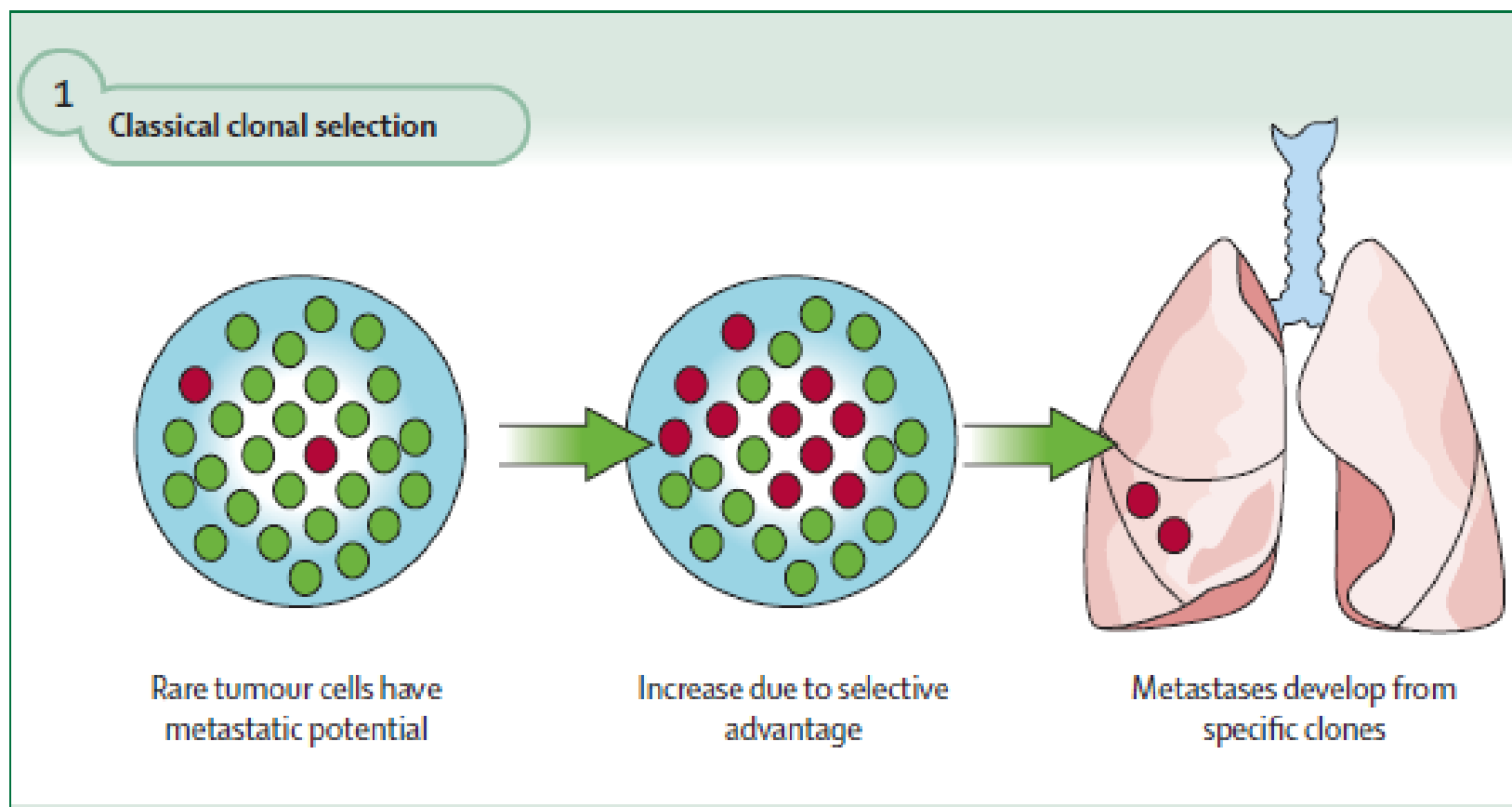


Nature Reviews | Genetics

Бројни гени су одговорни за сваки појединачан корак у метастатској каскади. Ови гени су сврстани у три групе – гени за **иницијацију метастазирања**, гени **одговорни за прогресију метастаза** и гени **метастатске "вируленције"**.

У потки тумора, само мали број туморских ћелија успева да акумулира све генетске промене које су неопходне за **потпуни метастатски потенцијал** ћелија.

Доминантан клон ћелија у примарном тумору подлеже серији генетских промена и тако стиче "**селективну предност**" у односу на друге клонове, као и способност метастазирања.

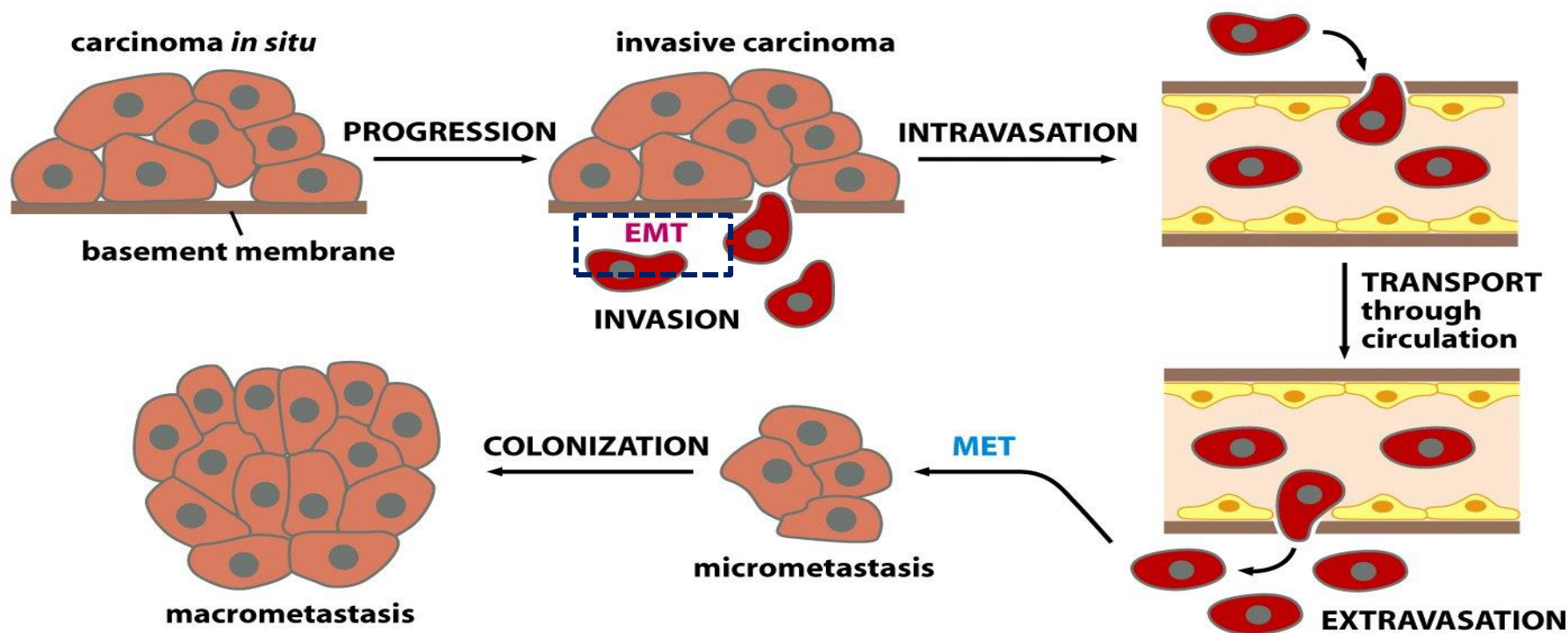


Селективни притисак у примарном тумору утиче на стицање метастатског потенцијала

Хипоксија и инфламација играју важну улогу у метастазирању и утичу на то да тумор кооперира са бројним ћелијама као што су ћелије пореклом из костне сржи (**BMDCs**, енгл. *Bone Marrow-Derived Cells*), међу којима су важне мијелоидне супресорске ћелије (**MDSCs**, енгл. *Myeloid-Derived Suppressor Cells*) и мезенхимске матичне ћелије (**MSCs**, енгл. *Mesenchymal Stem Cells*).

Способност малигних ћелија да у примарном тумору покрену **програм транзиције епителних ћелија у мезенхим (ЕМТ, енгл. *epithelial-to-mesenchymal transition*)** је такође резултат селективног притиска са којим се суочавају у примарном тумору.

Покретање ЕМТ у метастатским ћелијама за последицу има њихову миграцију, инвазију и интравазацију. Представља и главни механизам којим се подстиче развој циркулишућих малигних ћелија.



Хипоксија у потки тумора

У условима хипоксије, стабилизују се **HIF1 α** и **HIF2 α** што резултира транскрипцијом више од 100 гена.

Ови циљни гени су укључени у ангиогенезу, гликолизу и инвазију што све заједно помаже туморским ћелијама да се адаптирају на хипоксичне услове.

Прилагођавајући се селективном притиску хипоксије, туморске ћелије стичу способност да издрже неповољније услове микросредине и то тако што индукују свичинг гликолизе, резистенцију на апоптозу, ангиогенезу и инвазију кроз ванћелијски матрикс.

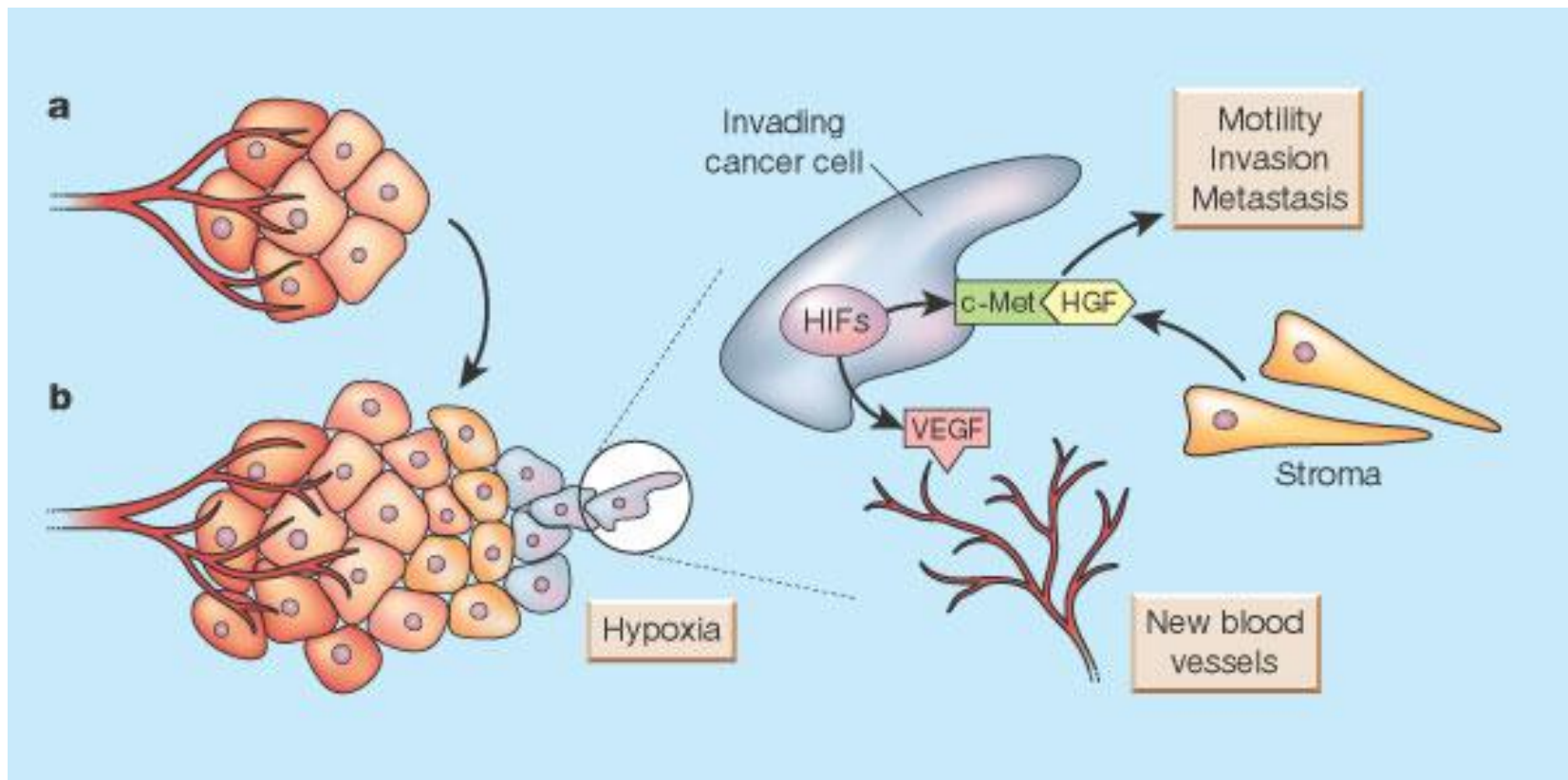
Све ове стечене функције омогућају туморским ћелијама и да метастазирају у удаљена места.

Различити гени за гликолизу су експримирани и метаболитички продукти који се ослобађају утичу на ацидификацију екстраћелијског простора.

Пошто су ови услови токсични за ћелије неопходна је даља адаптација туморских ћелија која подразумева како повећану експресију транспортера H^+ тако и стицање резистенције на апоптозу.

Анаеробни метаболизам и резистенција на апоптозу су есенцијални за преживљавање метастатских ћелија како у циркулацији тако и у удаљеним органима.

Хипоксија подстиче ангиогенезу и инвазију тумора

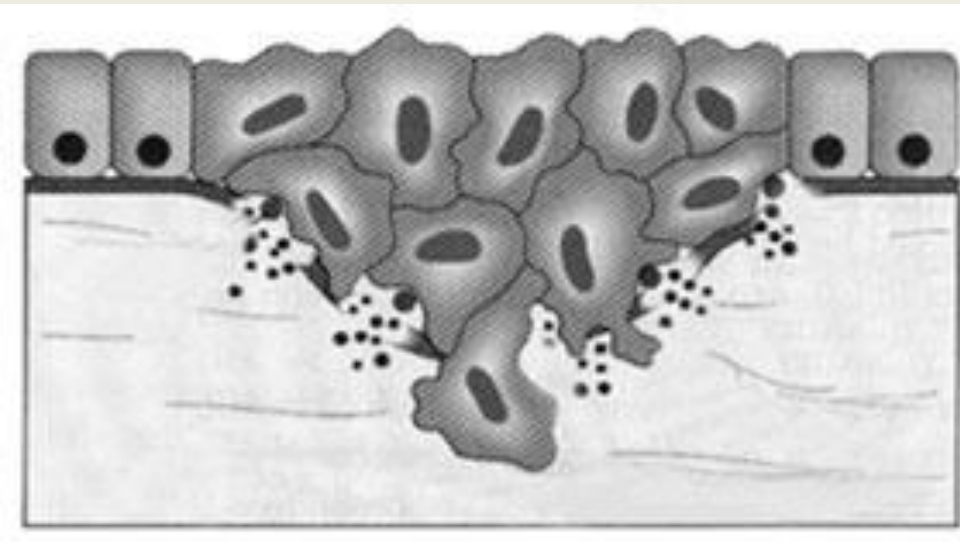


... **Повећава се експресија гена за ангиогенезу**, као што је **VEGF**. Повећана пропустљивост крвних судова за последицу има екстравазацију протеина који учествују у ремоделовању крвних судова и ванћелијског матрикса у непосредној близини. Ови протеини учествују и у активацији ендотелних ћелија укључених у **стварању новог васкуларизованог региона** у туморској потки.

Ангиогенеза доприноси и успешном прилагођавању метастатских ћелија у паренхиму удаљених органа.

HIF α повећава експресију MMP1 и MMP2, LOX (енгл. *Lysyl Oxidase*) и хемокински рецептор CXCR4 и на тај начин потпомаже инвазију туморских ћелија у нови васкуларизовани регион.

Деградација базалне мембране под утицајем MMP2 и промене у ванћелијском матриксу под утицајем MMP1 и LOX омогућују да се уклони физичка баријера што резултује миграцијом малигних ћелија. Експресијом CXCR4 на својој површини, малигне ћелије мигрирају у регионе ангиогенезе.



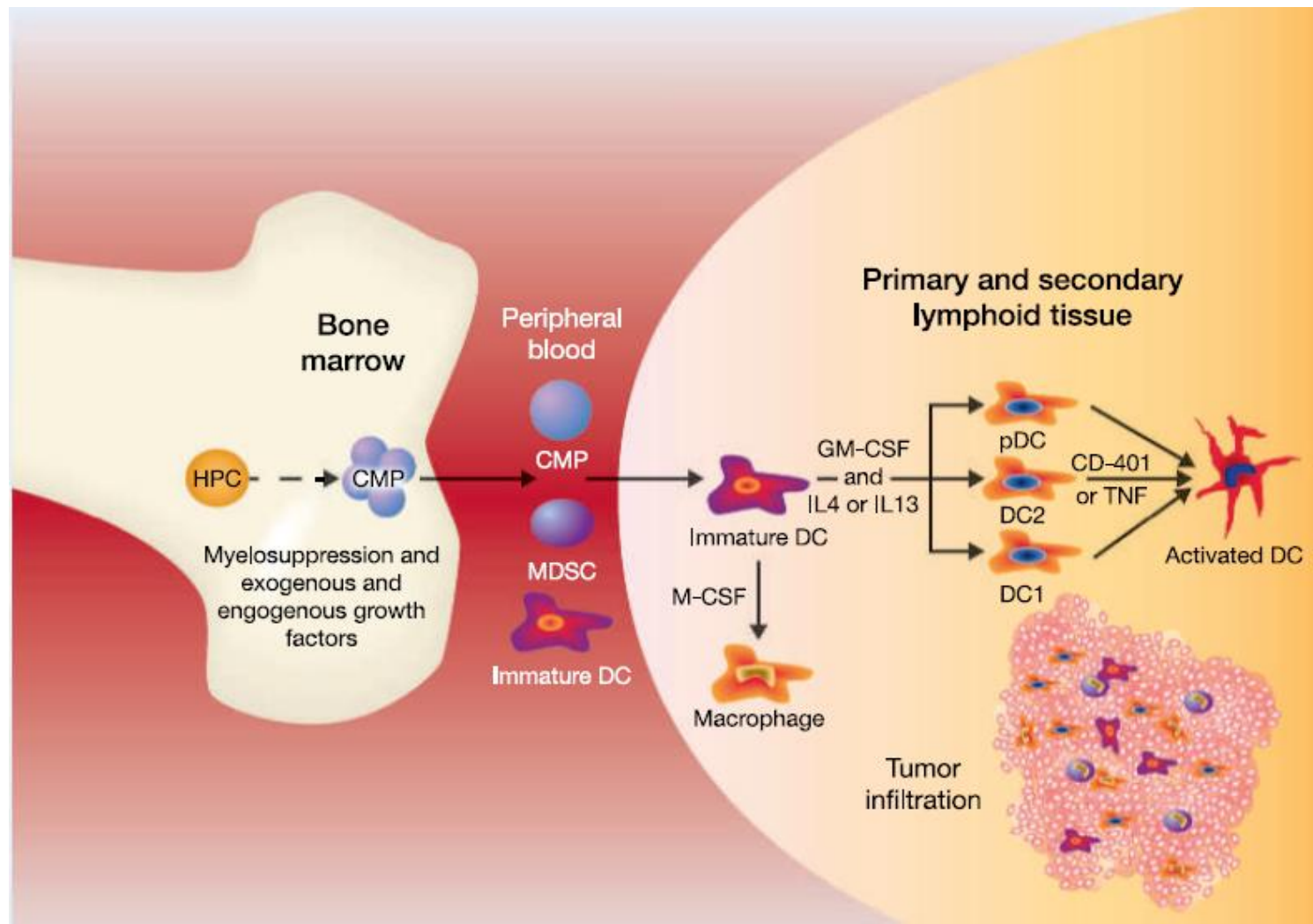
Способност малигних ћелија да инвадирају и мигрирају кроз ванћелијски матрикс истовремено им **омогућује и улазак у циркулацију**, као и напуштање крвног суда.

Инфламација у потки тумора

Због сличности између процеса који се дешавају у току канцерогенезе и процеса у току зарастања ране, канцер подсећа на **"рану"** али која **никада не зараста...**

... Запаљенски одговор у туморској потки игра значајну улогу у селективном притиску на туморске ћелије.

Тумор селектује имуносупресивно окружење, и истовремено користи ћелије урођене имуности за сопствено напредовање.

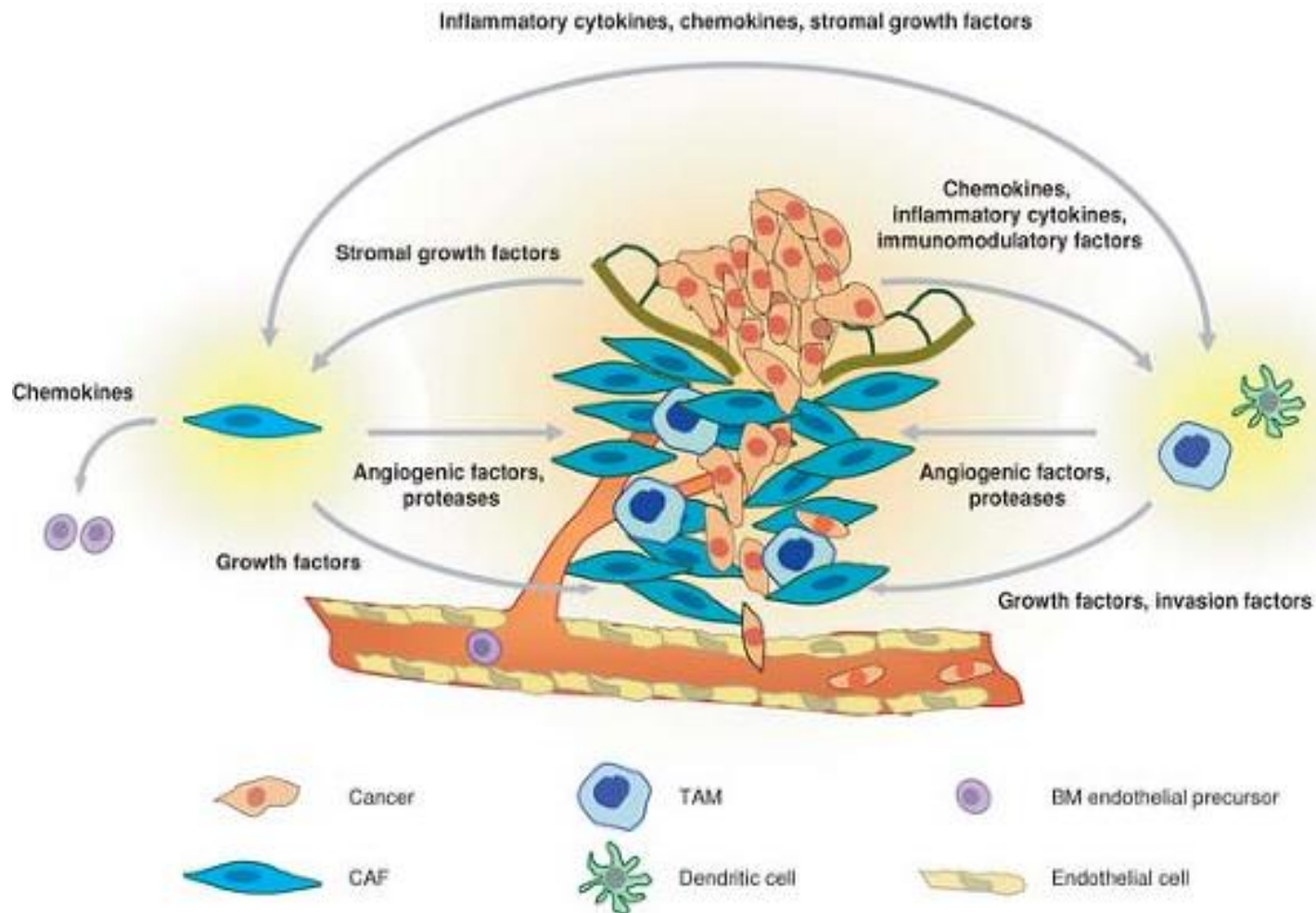


Туморска микросредина селектује оне ћелије које стимулишу продукцију **имуномодулаторних фактора** (TGF- β , COX2, фактор раста макрофага CSF-1 (colony-stimulating factor-1), IL-10 и IL-6)

Сви наведени фактори инхибирају матурацију дендритских ћелија и утиче на фенотип тумор-асоцираних макрофага (**TAM**).

Тумор **регрутује MDSCs**. Ове ћелије повећавају локалну продукцију имуносупресивног TGF- β , и тако блокирају функције Т лимфоцита и инхибирају активацију NK ћелија.

Туморска микросредина, хроничном активацијом и то пре свега ћелија урођене имуности, **поларизује хроничну инфламацију** која на различите начине подстиче прогресију тумора.

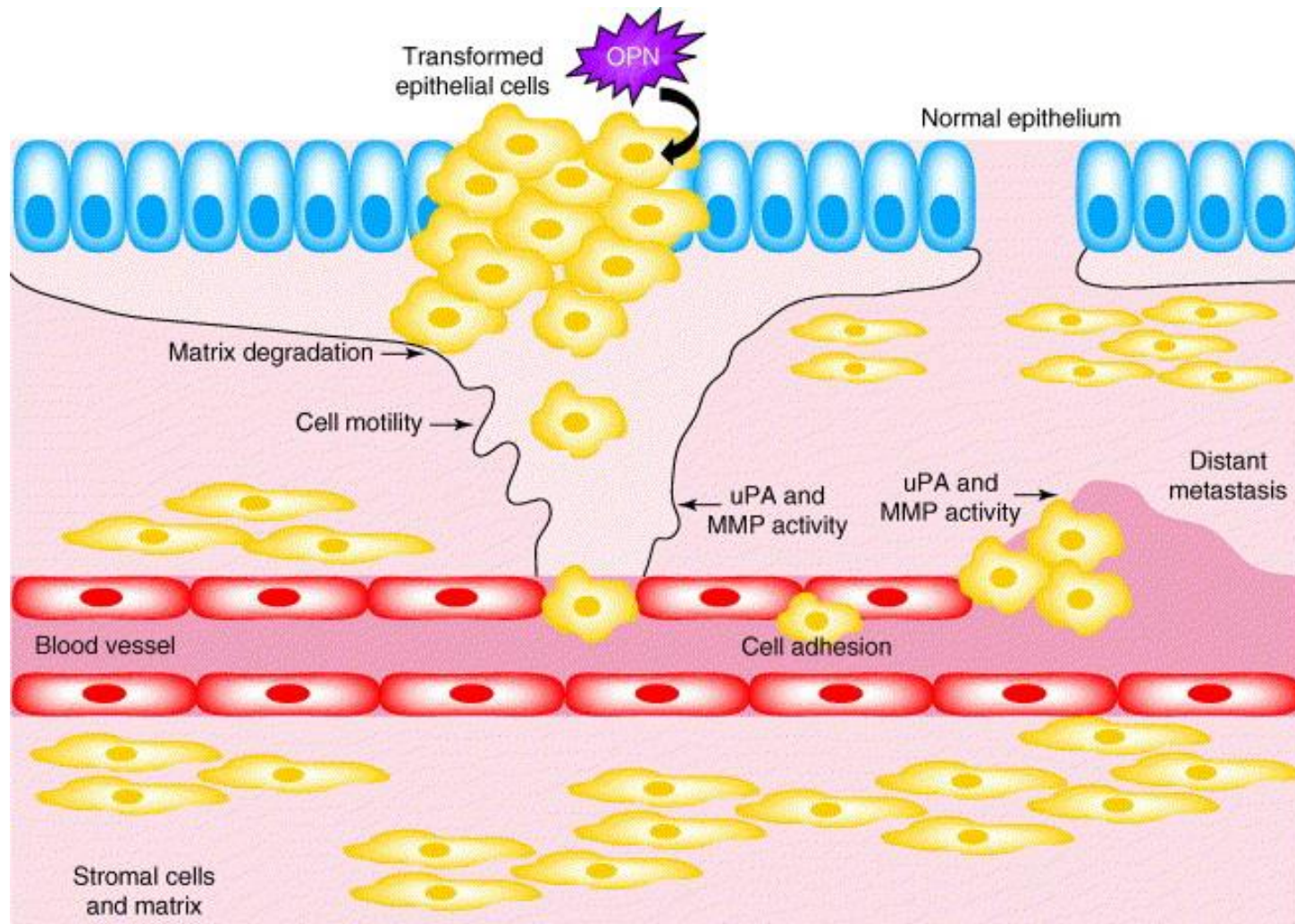


Интеракције туморских ћелија са стромом стимулишу инвазију и метастазирање тумора

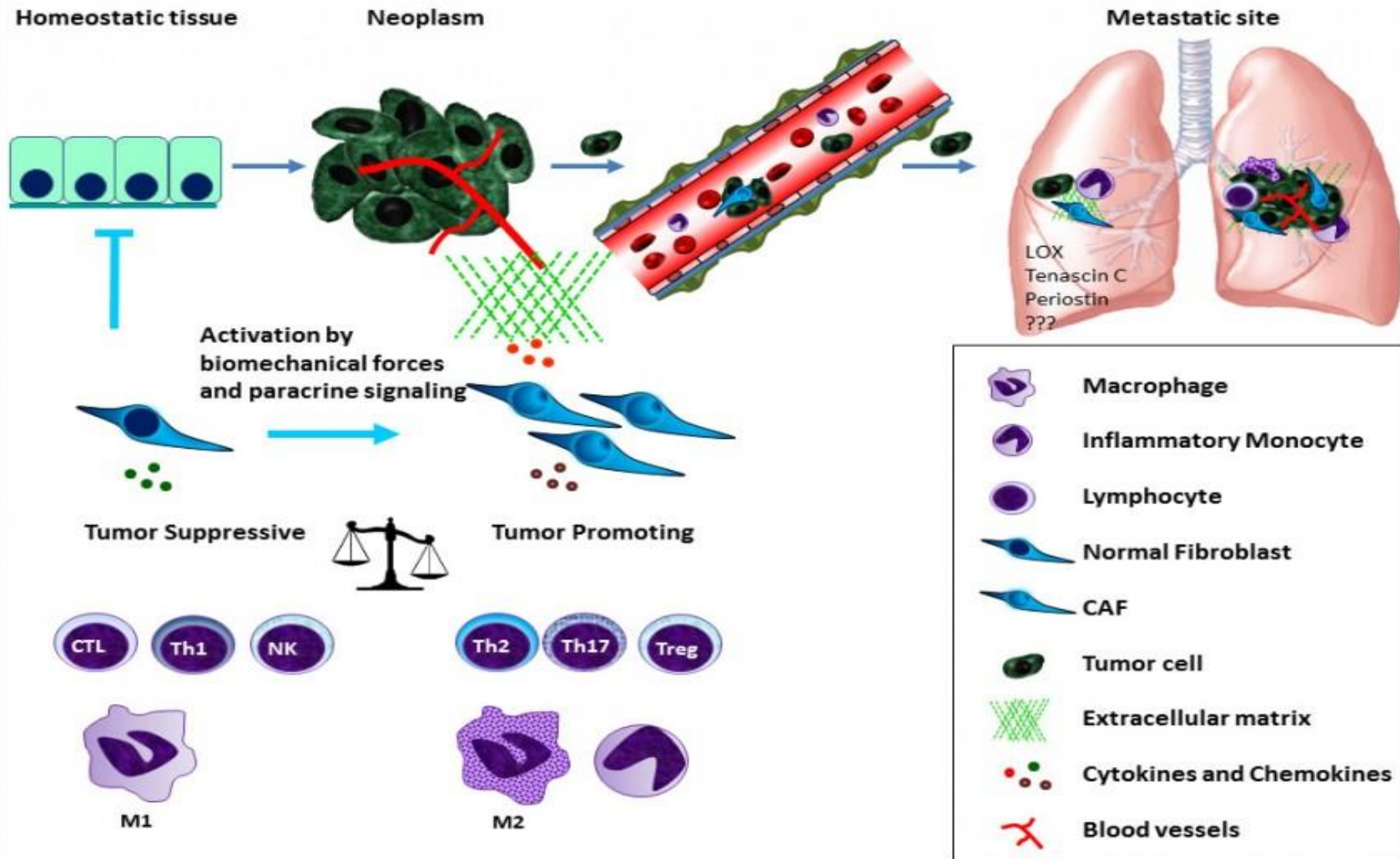
...Туморске ћелије подстичу запаљенске механизме које затим
користе за своје потребе.

MDSCs и **TAMs** учествују у разградњи базалне мембране, и то тако што продукују **uPA** и **MMPs** који помажу туморским ћелијама да разграде компоненте екстраћелијског матрикса што резултује миграцијом и инвазијом малигних ћелија.

Карцином асоцирани фибробласти (CAFs, енгл. *Carcinoma-associated Fibroblasts*) подстичу раст тумора тако што секретују **CXCL12** којим стимулишу експресију CXCR4 на туморским ћелијама. CAFs стимулишу и ангиогенезу помоћу CXCL12 којим индукују регрутовање прекурсорских ендотелних ћелија. Такође, ове ћелије делују и на TAMs који се регрутују у регионе хипоксије где продукују VEGF.



Туморске ћелије на различите начине имунски систем као "непријатеља" преусмеравају у свог "саучесника"



Избегавање апоптозе и старења

Најчешћи унутрашњи ћелијски окидачи апоптозе су прекомерна активација или губитак функције неких протеина.

Спољашњи окидачи апоптозе су хипоксија, низак рН, реактивни кисеонички радикали, губитак ћелијског контакта и убијање посредовано имунским механизмима...

... Туморске ћелије игноришу наведене сигнале и ова резистенција на апоптозу је један од предуслова за њихово успешно метастазирање.

... Ектопична експресија антиапоптозских гена у малигним ћелијама, као што су **BCL2** и **BCL-XL** не само што ове ћелије чини отпорним на широк спектар инzulта (хипоксију, ниску рН и реактивне кисеоничке радикале), већ повећавају и њихов метастатски капацитет.

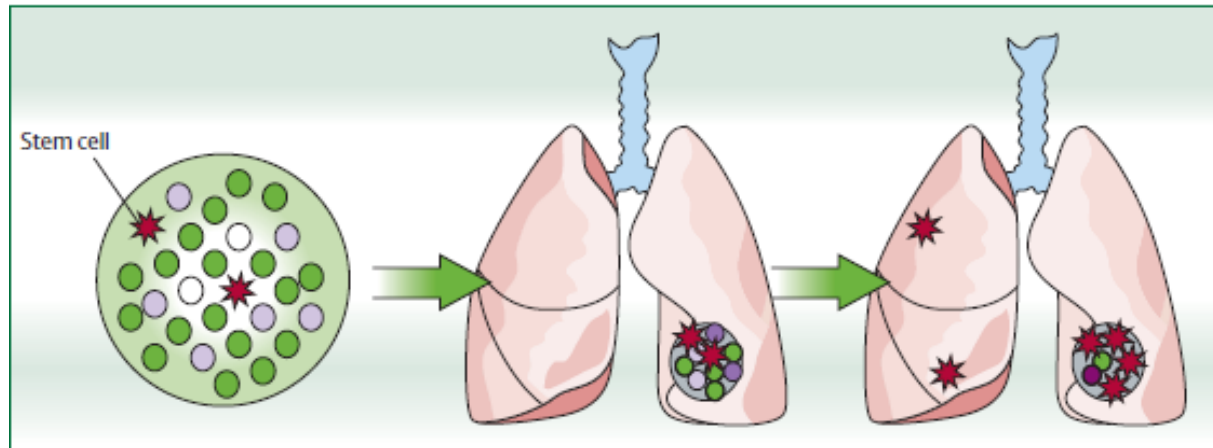
... Ћелијско старење представља другу важну баријеру у канцерогенези.

Притисак на туморске ћелије да избегну ћелијско старење резултира или инактивацијом или мутацијом **p53 гена** у малигним ћелијама.

Способност самообнављања

Док многе туморске ћелије могу имати ограничен пролиферативни потенцијал, неке ћелије стичу способност самообновљања.

Туморске матичне ћелије су мала субпопулација ћелија која има **способност самообновљања**.

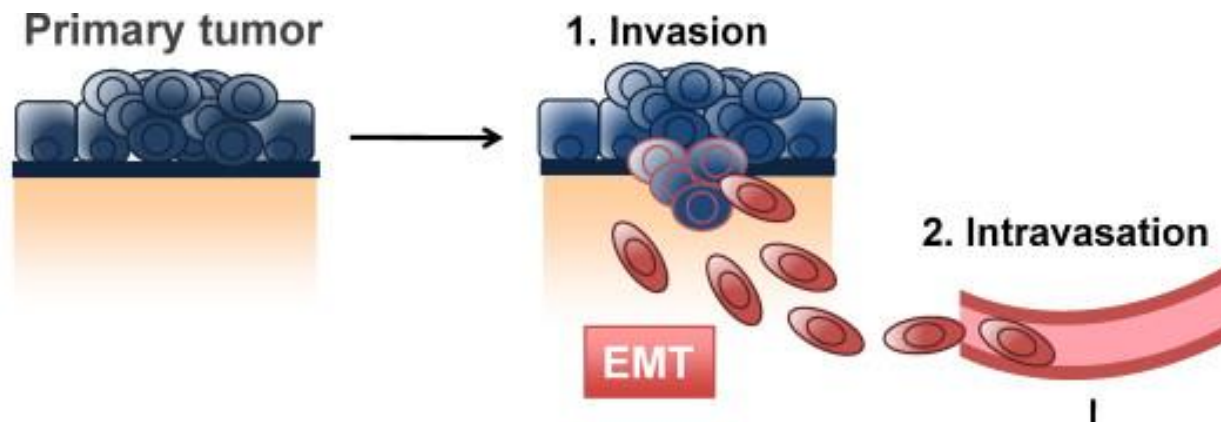


1. Процеси важни у иницијацији метастазирања

Програм транзиције епителних ћелија у мезенхим (EMT, енгл. *Epithelial-to-Mesenchymal Transition*) је један од најзначајних карактеристика оних карцинома који има тенденцију да метастазирају.

Хипоксија повећава активност β -катенина који онда промовише експресију транскрипционог фактора Snail и последично покретање EMT.

TNF- α , кога секретују TAMs, учествује у стабилизацији β -катенина и Snail-а и на тај начин овај **инфламацијски медијатор** повећава покретљивост малигних ћелија.



Туморске ћелије које користе програм ЕМТ
карактеришу ...

.... **повећана резистенција на апоптозу**
што је вероватно у вези са транскрипционим фактором
Snail.

... **способност да избегну селективни притисак**
аптозе и ћелијског старења.

... стицање карактеристика
туморских **матичних ћелија**.

Инвазија тумора започиње услед **губитка ћелијске адхезије**. У већини случајева за губитак ћелијске адхезије одговорна је **смањена експресија Е-кадхерина**.

Губитак експресије Е-кадхерина ремети међућелијску адхезију и подстиче одвајање туморских ћелија од епитела. Овако измењене туморске ћелије стичу способност да инвадирају и метастазирају.

Након одвајања од суседних ћелија, малигне ћелије:

...индукују **деградацију** и **ремоделовање ванћелијског матрикаса** и на тај начин инвадирају ову структуру.

... имају тенденцију да **мењају експресију интегрина**.

Током миграције, малигне ћелије
исказују **филаподе** (протрузије на периферији ћелије).

Интегрини потпомажу кретање малигних ћелија
кроз локално разграђени ванћелијски матрикс.

2. Процеси важни у метастатској прогресији

Међу генима који су селектовани да потпомогну раст примарног тумора, неки гени су истовремено неопходни и у каснијим процесима прогресије тумора, односно за дисеминацију малигних ћелија. Ови гени обезбеђују функције које су специфичне за метастазирање и означени су као гени одговорни за метастатску прогресију.

Преметастатска ниша

Преметастатске нише су често локализоване око терминалних вена у удаљеним органима и садрже **регрутоване хематопоетске прекурсорске ћелије мијелоидне лозе**, као и **ћелије строме**. Ове нише обезбеђују цитокине, факторе раста и адхезивне молекуле које потпомажу долазак метастатских ћелија.

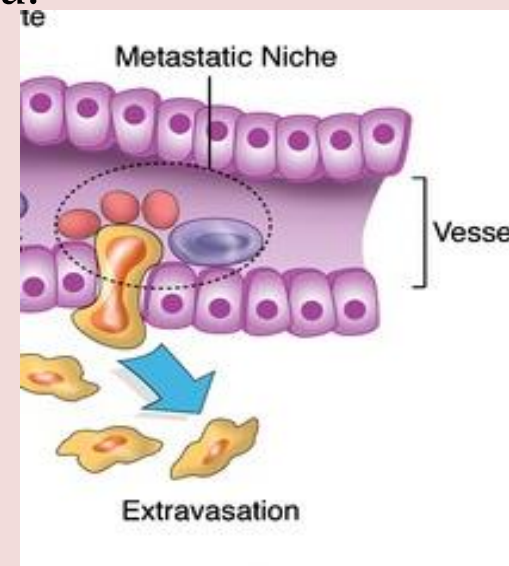
Малигне ћелије, у примарном тумору, секрецијом:

VEGF и **PlGF** могу да мобилишу **VEGFR1+ мијелоидне ћелије** из костне сржи у специфична циљана ткива.

VEGF, TGF- β и TNF- α , могу да индукују синтезу **S100A8 и S100A9** специфично у плућном паренхиму. Ово за последицу има инфилтрацију мијелоидних ћелија у плућа и последично формирање преметастатске нише.

LOX (енгл. *Lysyl OXidase*), такође може да усмери формирање преметастатске нише.

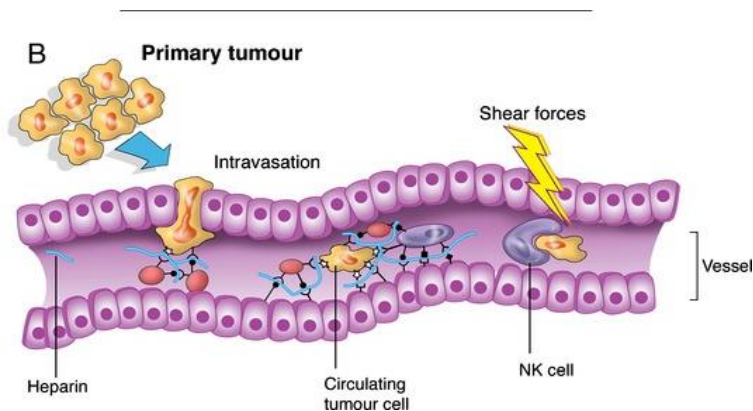
...
Цитокини и фактори раста који прате инфламацију и хипоксију у примарном тумору не само што стимулишу раст примарног тумора, већ након дисеминације малигних ћелија учествују и у креирању микросредине у удаљеним органима.



Локална средина у удаљеним органима је измењена и почиње да личи на примарну туморску лезију. Када се малигне ћелије одвоје од примарног тумора и уђу у циркулацију, циљани органи са успостављеним преметастаским нишама постају "боље тло" што олакшава усидравање, задржавање, преживљавање и раст метастатских ћелија.

3. Преживљавање метастатских ћелија у циркулацији

Раст примарног тумора је резултат селекције оних туморских ћелија који су појачано резистентни на апоптозу, и ове ћелије имају предност у односу на друге туморске ћелије и интензивно пролиферишу. **Повећана експресија антиапоптотских гена BCL2 и BCLX_L или смањена експресија проапоптотских гена** као и **гена за рецепторе TNF-фамилије** резултује повећањем метастатског капацитета туморских ћелија.



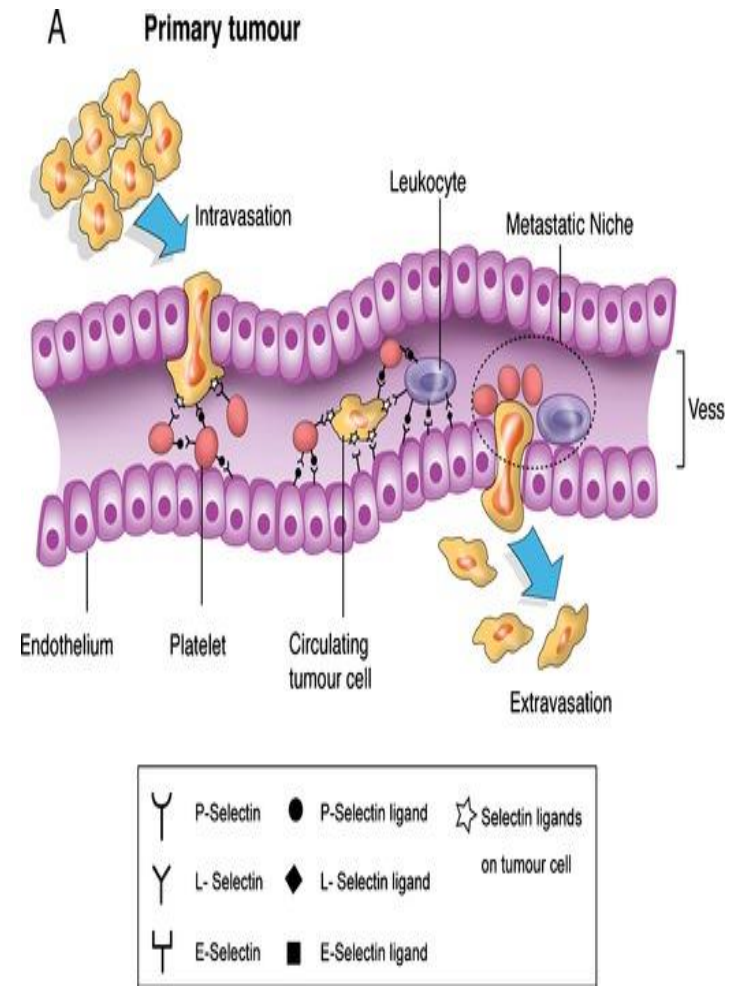
Експресија $\alpha V\beta 3$ интегрина на циркулишућим туморским ћелијама и тромбоцитима подстиче њихову агрегацију које тако формирају туморске емболусе. Ови туморски емболуси не само што олакшавају задржавање туморских ћелија већ их и штите и од деловања NK ћелија.

4. Екстравазација и колонизација метастатских ћелија

У току екстравазације, **туморске ћелије опонашају леукоците** јер користе исте адхезивне молекуле као и леукоцити.

Туморске ћелије се **везују за Е-и Р-селектин** на ендотелу у циљаним органима. **VEGF** ослобођен из туморских ћелија прекида међућелијске везе између ендотелних ћелија и повећава васкуларну пропустљивост што све заједно фацилитира екстравазацију туморских ћелија.

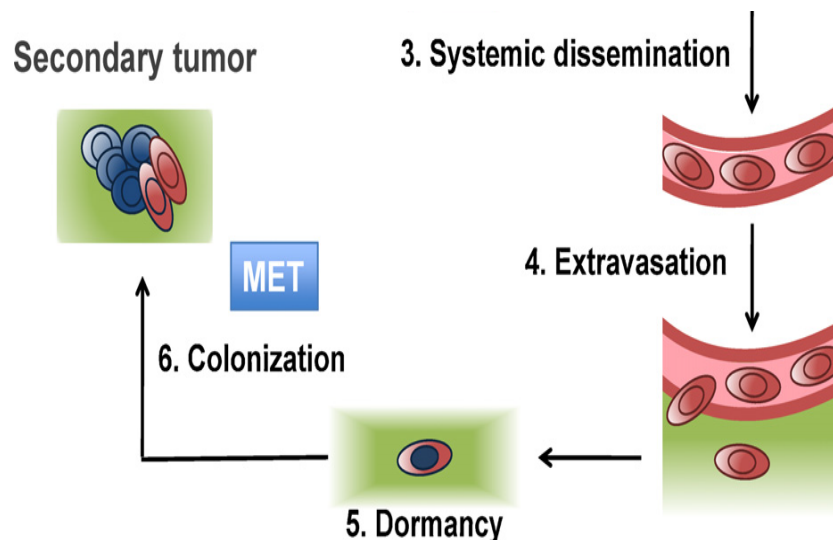
Експресија **CXCR4** на циркулишућим туморским ћелијама омогућује селективну екстравазацију у одређене органе. Ова селективна екстравазација је последица продукције **CXCL12** у одређеним органима

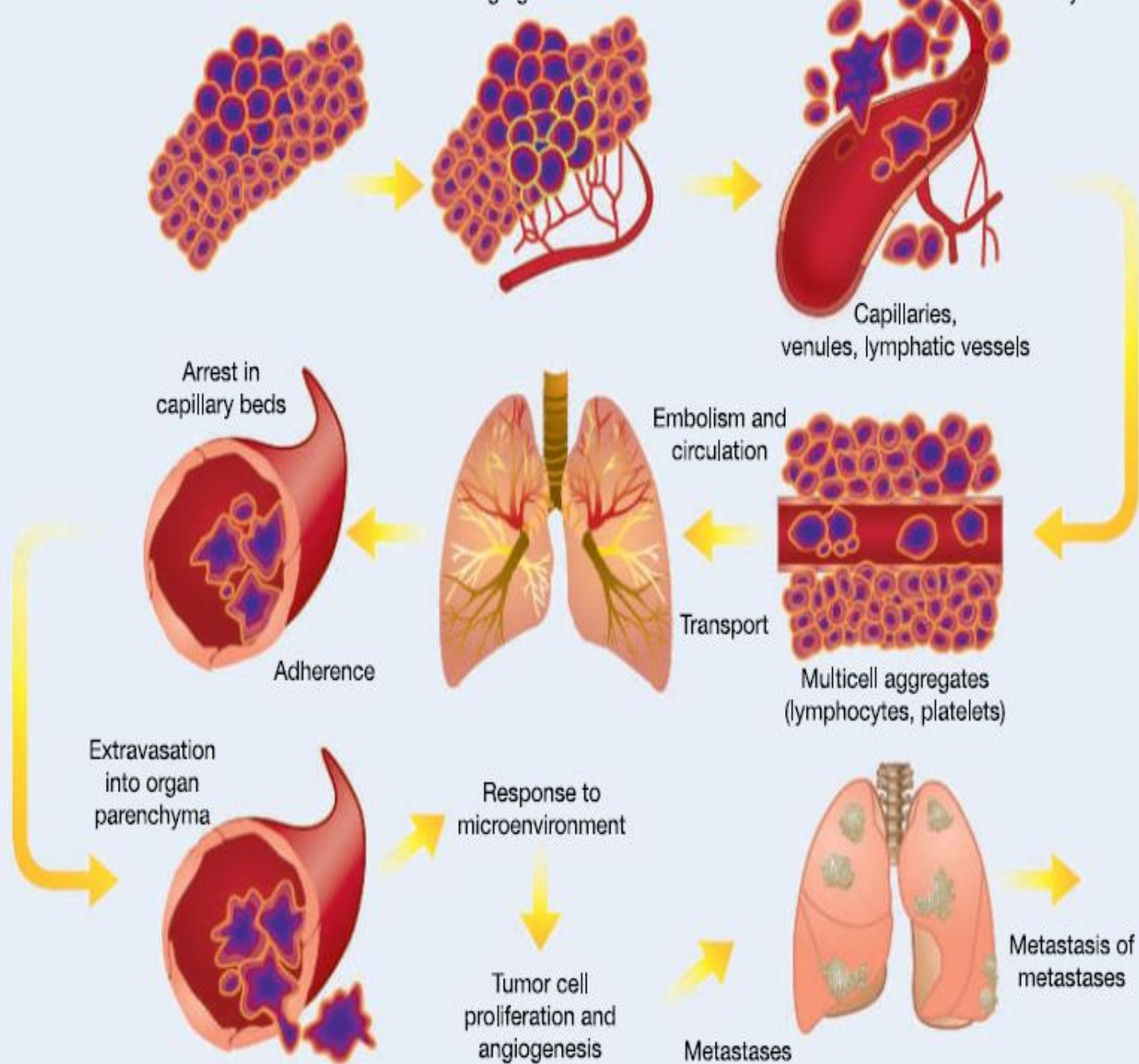


5. Раст метастатских колонија у удаљеним органима

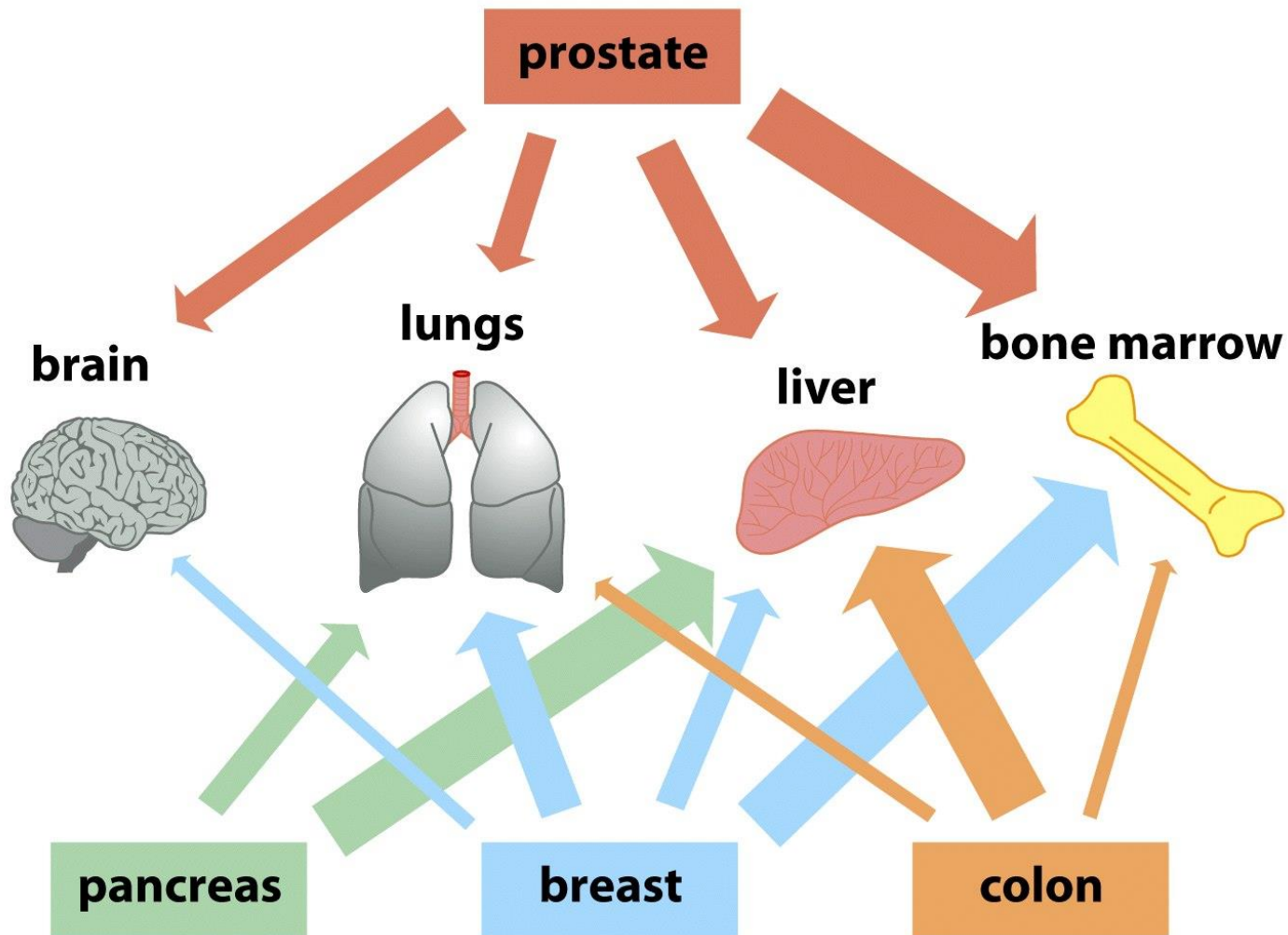
Један од главних лимитирајућих корака у метастатској каскади је **способност** метастатских ћелија да након екстравазације **наставе раст у удаљеним органима**.

Успешна адаптација на нову микросредину поспешује успостављање метастатских колонија у удаљеним органима а подразумева **постојање фактора раста** као и **очуваност осетљивости** метастатских ћелија на те факторе.





Метастатски тропизам



Кости -место метастазирања карцинома плућа, бубрега и дојке.

Плућа -место метастазирања меланома, карцинома дојке, дебелог црева, мокраћне бешике... Продукција **MMP-9** у плућима у току преметастатске фазе је критична за инвазију дисеминованих туморских ћелија у плућно ткиво. Интегрини учествују у "навођењу" малигних меланоцита у плућа.

Код колоректалног карцинома карактеристично је формирање метастаза у **јетри**, при чему малигне ћелије **преко портне циркулације** доспевају на ово место. Туморске ћелије меланома и карцинома плућа и дојке **преко системске циркулације** доспевају у јетру.

Мозак - место метастазирања карцинома плућа, дојке, бубрега, колоректалног карцинома, меланома... Малигни меланоцити који метастазирају у мозак имају појачану активност **STAT3**. Овај транскрипциони фактор повећава синтезу FGF, VEGF и MMP2 одговорних за ангиогенезу и инвазију.

За узнатредоване туморе карактеристична је и лимфангиогенеза (процес стварања нових лимфних судова).

У лимфангиогенези су укључени **VEGF-C** и **VEGF-D** који се везују за **VEGFR-3**. Експресија VEGF-C и VEGF-D је индукована инфламацијом, али не и хипоксијом.

...Метастазирање тумора у регионалне лимфне чворове су један од раних знакова метастатског потенцијала и/или ширења у удаљене органе.

Лимфни чворови секретују **CXCL12** који интерагује са CXCR4 исказаним на малигним ћелијама. **CXCR3** игра значајну улогу у метастатирању тумора у лимфне чворове.