

# Aktuality z Národního ústavu pro výzkum rakoviny

## Fibrillar extracellular matrix produced by pericyte-like cells facilitates glioma cell dissemination

Vymola P, Garcia-Borja E, Cervenka J et al.

*Brain Pathol* 2024; e13265. doi:10.1111/bpa.13265.



Autoři ve své práci poskytují nový pohled na buněčný zdroj fibrilárních proteinů extracelulární matrix (ECM) u glioblastomu (GBM) a na to, jak tyto proteiny podporují maligní fenotyp gliomových buněk. Identifikují buňky podobné pericytům, exprimující serinovou proteázu FAP (aktivační fibroblastový protein), jako hlavní producenty ECM bohaté na kolagen I (COL1) a fibronektin (FN1) a poskytují důkaz, že takto složená ECM usnadňuje migraci a adhezi gliomových buněk prostřednictvím aktivace fokální adhezivní kinázy (FAK). GBM je nejčastějším primárním nádorem mozku, který se vyznačuje špatnou prognózou s mediánem přežití 12–15 měsíců. Jedním z charakteristických znaků GBM je jeho schopnost rychle infiltrovat a invadovat okolní mozkovou tkáň, což znemožňuje účinné chirurgické odstranění a omezuje možnost vyléčení. Infiltrace GBM do okolní tkáně probíhá převážně podél cév v oblastech označovaných jako perivaskulární nika (PVN), která obsahuje ECM tvořenou fibrilárními proteiny. Gliomageneze je spojena se změnami v jejím složení, charakterizovanými zvýšeným ukládáním COL1 a FN1. Již dříve bylo popsáno, že změny v architektuře COL1 podporují progresi nádoru a jsou u GBM spojeny s kratším celkovým přežitím, pravděpodobně proto, že COL1 vytváří rigidní prostředí, které vede invazi gliomových buněk podél cév. FN1 je jedním z nejčastěji regulovaných proteinů ECM u různých solidních nádorů, vč. GBM. V perivaskulární nice podporuje diferenciaci gliomových kmenových buněk (glioblastoma stem cells – GSC), což potenciálně vede k invazivnějšímu fenotypu těchto buněk a přispívá ke špatné prognóze pacientů. COL1 a FN1 tedy představují důležité molekuly podílející se na progresi GBM. Nicméně jejich buněčný zdroj v GBM zůstával z velké části neznámý. Autoři publikace prokázali, zvýšenou produkci COL1 a FN1 pericytům podobnými mezenchymálními buňkami exprimujícími FAP v GBM. ECM, produkovaná FAP-pozitivními buňkami podobnými pericytům, zvyšuje migraci gliomových buněk, vč. GSC, podporuje jejich adhezi a iniciuje intracelulární signální kaskády vč. aktivace FAK. Tato nереceptorová tyrozinkináza podporuje maligní fenotyp gliomových buněk tím, že zvyšuje jejich proliferaci, migraci a invazi. FAP-pozitivní buňky podobné pericytům jsou tedy podle závěru publikace rozhodujícími producenty komplexní ECM bohaté na COL1 a FN1, která usnadňuje šíření gliomových buněk.

## ERIC recommendations for TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia – 2024 update

Malcikova J, Pavlova S, ..., Pospisilova S.

*Leukemia* 2024; 38(7): 1455–1468. doi: 10.1038/s41375-024-02267-x.



U chronické lymfocytární leukemie (CLL) je analýza aberací genu *TP53* (delece anebo mutace) klíčovou součástí algoritmů rozhodování o léčbě. Technologické a terapeutické pokroky si vynutily potřebu aktualizovat poslední doporučení pro analýzu *TP53* u CLL, která v roce 2018 zveřejnila Evropská výzkumná iniciativa pro CLL (ERIC). Autorský kolektiv, který byl koordinátorem tvorby nových mezinárodních doporučení ERIC, v článku uvádí, že u pacientů s aberací *TP53* již není akceptovatelná léčba chemoimunoterapií, a to bez ohledu na velikost klonu nesoucího *TP53* mutaci. Cílená léčba může zabránit nežádoucí expanzi klonů s *TP53* poškozením, jenž může být doprovázena vývojem dalších aberací, např. komplexního karyotypu. Nicméně informace o mutacích *TP53* ve vztahu k cílené léčbě se stále vyvíjí a důkazy ještě nejsou dostatečně zralé, aby umožnily výběr mezi jednotlivými konkrétními cílenými látkami (např. inhibitory Brutonovy kinázy či inhibitory antiapoptotického proteinu BCL-2) nebo mezi kombinovanými terapeutickými režimy. Autoři proto ve shodě s ERIC zdůrazňují význam přesné klasifikace aberací *TP53* (del[17p] vs. mutace; mono- vs. bialelické aberace), jakož i zahrnutí variant *TP53* bez ohledu na konkrétní mezní hodnotu frekvence variantních alel (VAF) do návrhu klinických studií s cílem získat spolehlivé důkazy pro lepší přizpůsobení léčby. Je doporučeno reportovat všechny varianty *TP53* nad limitem detekce (LoD) stanoveným laboratoří (s výjimkou benigních variant). Výsledek analýzy *TP53* je pak interpretován v kontextu dostupných laboratorních a klinických informací, indikace léčby a terapeutických možností. Stále větší důraz se také klade na přání pacienta. V publikované práci jsou shrnuty metodické aspekty zavádění sekvenování nové generace (NGS) do rutinní praxe se zaměřením na spolehlivou detekci klonů s nízkou zátěží. Zdůrazněna je potřeba validace či verifikace použité metody, aby bylo možno poskytnout spolehlivý výsledek, zejména v případě variant s nízkou VAF. Je také nezbytné, aby diagnostické laboratoře dodržovaly normy ISO. Autoři dále shrnují potenciální interpretační problémy a uvádějí, že většina variant *TP53* nalezených u CLL je jednoznačně patogenní, ale v určitých případech

může být interpretace méně přímočará. Pro rychlejší klasifikaci variant *TP53* nalezených u CLL je předložen zjednodušený klasifikační algoritmus, jenž představuje konsenzus z publikovaných prací. V práci jsou dále zdůrazněny požadavky na klinická hlášení aberací *TP53* shrnuté do podoby návodné šablony. Závěrem autoři shrnují, že aktualizovaná Doporučení ERIC pro analýzu mutací *TP53* u CLL mají pomoci diagnostickým laboratořím při správném hodnocení mutačního stavu *TP53*, ale také lékařům při porozumění laboratorním zprávám. Cílem je snížit riziko chybné interpretace a nesprávného postupu u pacientů v běžné praxi, a zároveň zlepšit stratifikaci pacientů s CLL v klinických studiích.

### **DNA polymerase $\alpha$ -primase facilitates PARP inhibitor-induced fork acceleration and protects BRCA1-deficient cells against ssDNA gaps**

**Machacova Z, Chroma K, Lukac D et al.**

*Nat Commun* 2024; 15: 7375. doi: 10.1038/s41467-024-51667-1.



Replikace eukaryotické DNA začíná v místech označovaných jako replikační počátky, z nichž vycházejí dvě replikační vidlice postupující obousměrně. Efektivní zdvojení eukaryotické DNA závisí na přesné aktivaci replikačních počátků a plynulém postupu replikačních vidlic. Inhibitory poly(ADP-ribózy)polymerázy (PARPi) prokázaly svou účinnost v protinádorové léčbě díky své schopnosti vytvářet jednovláknové mezery v replikované DNA a zrychlovat replikaci. Molekulární mechanismus, který za uvedeným zrychlením replikace stojí, však zůstával dosud neobjasněn. Autoři ve své práci demonstrují, že primárním účinkem PARPi na replikaci DNA je zvýšení rychlosti replikačních vidlic – až po něm následuje sekundární snížení aktivity replikačních počátků. Systematickým vypínáním lidských DNA polymeráz identifikovali jako prostředníka zrychlení replikace vyvolané PARPi DNA polymerázu  $\alpha$ -primázu (tzv. komplex POLA, složený ze dvou primázových podjednotek PRIM1 a PRIM2 a dvou polymerázových podjednotek POLA1 a POLA2). Komplex POLA vykazuje unikátní kombinaci polymerázové i primázové aktivity, které jsou důležité pro zahájení replikace DNA. Deplece POLA1 navíc zvyšuje akumulaci replikačních mezer vyvolaných inhibicí PARP. Obzvláště náchylné k tvorbě replikačních mezer při inhibici POLA1 jsou buňky s deplecí BRCA1. Nádorová buňka s nefunkčním genem *BRCA1/2* po nasazení léků PARPi již nemá k dispozici žádné záložní mechanismy, které by poškozenou DNA opravily, a zahájí buněčnou smrt. Uvedená zjištění dokládají, že komplex POLA je důležitým hráčem při zrychlování replikace vyvolané PARPi, a naznačují, že syntéza opožděných vláken představuje u buněk s deficitem *BRCA1* zranitelný cíl, na který by bylo možno zaměřit budoucí léčbu nádorů s mutacemi v genech *BRCA1/2* – typicky karcinomů prsu a ovarií.