

přímo prostředí sídliště. Vytváření prostředí s dominantním bylinným a křovinným patrem mělo zásadní význam také pro přilákání zvěře, kterou pak lidé snadněji loví. Nakonec nesmíme opomenout již zmiňovanou roli některých druhů (kotvice plovoucí, líska) jako potravy mezolitiků. Právě líska si zaslouhuje větší pozornost. V raném postglaciálu tvořila jednu z přirozených dominant. Velmi překvapující je ale náhlý a výrazný nárůst jejího pylu na mnoha lokalitách ve střední Evropě, jenž se na některých z nich objevil už na samém počátku doby poledové. Statistické analýzy opět ukázaly velmi úzký vztah nárůstu pylu lísky s mezolitickým osídlením. Tento problém byl detailněji studován i na významné mezolitické lokalitě kolem bývalého jezera Švarcenberk v jižních Čechách. V pylovém záznamu je zde velmi nápadný výskyt lísky již před cca 10 500 lety. Díky kombinovanému archeologickému

a paleobotanickému výzkumu v okrajových částech bývalého jezera byla nalezena řada dřevěných artefaktů datovaných do doby cca před 10 800 let, navíc byly v sedimentu nalezeny ohořelé skořápky lískových oříšků, které byly datovány do období před 10 400 let. Všechna tato zjištění o časném a masivním výskytu lísky na některých lokalitách a jejím vztahu k mezolitickému osídlení podporují hypotézu o jejím záměrném šíření člověkem. Ten mohl lísku transportovat i na velmi dlouhé vzdálenosti, nebo jen využívat a prosazovat její lokální zdroje na dané lokalitě.

Vliv člověka na prostředí a vegetaci v raném postglaciálu do začátku zemědělství se zdá být stále nevyřešen. Pravděpodobně je, že měl lokální charakter a jako takový je v paleoekologických záznamech jen velmi těžce měřitelný. Na druhou stranu striktní popírání a vylučování možnosti pěstování některých druhů rostlin, včetně obilovin,

má stále menší oporu v množících se konzistentních paleoekologických záznamech. Pokud by se předpoklady o předneolitickém zemědělství v budoucnosti potvrdily, mělo by to zásadní vliv na formování neolitické teorie. Dnes se často diskutuje, zda se zemědělství ve střední Evropě vyvinulo lokálně pod vlivem nově přicházejících znalostí např. z jihovýchodní Evropy, či zda přišlo se zemědělství samotnými. Stav našeho poznání spíše nasvědčuje první možnosti. S tím souvisí i postupná a relativně dlouhotrvající změna, která vedla v pozdním mezolitu a neolitu k usedlému způsobu života a zemědělství. Konec mezolitu můžeme konečně také chápat jako symbolický konec přirozeného vývoje vedoucího k postupnému vzniku kulturní krajiny.

Výzkum podpořila Grantová agentura AV ČR (IAA6163303 a IAAX00020701).

Jan Brábek, Daniel Rösel

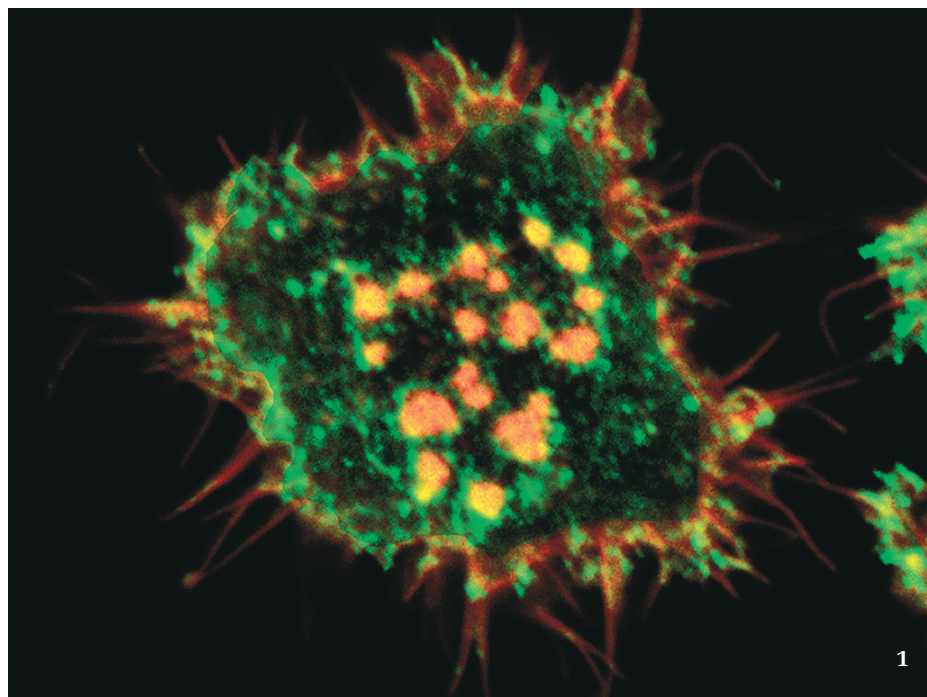
Améboidní invazivita nádorových buněk

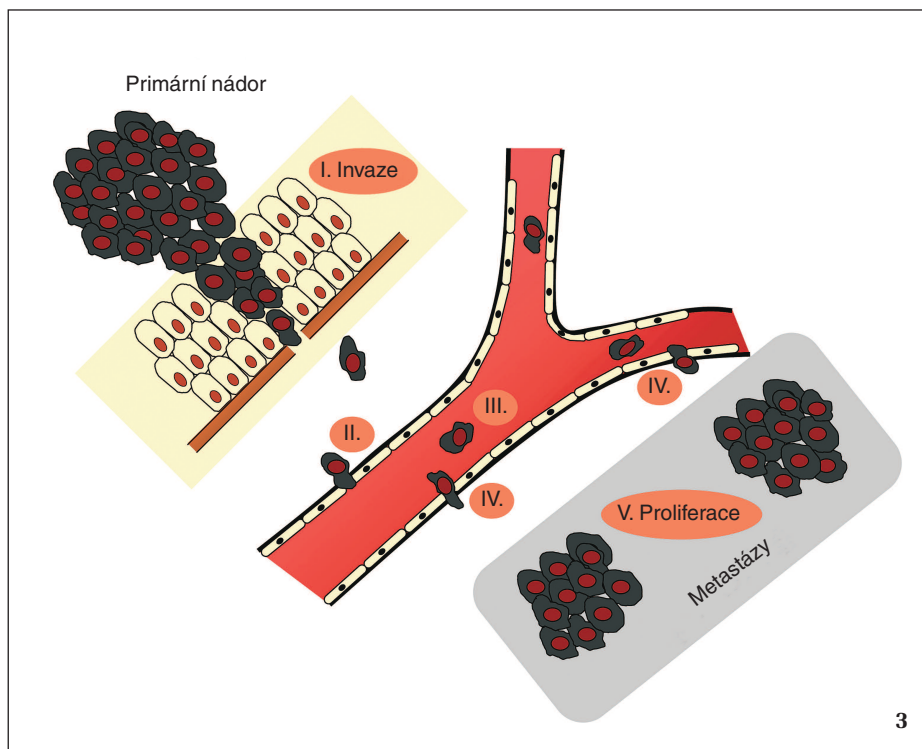
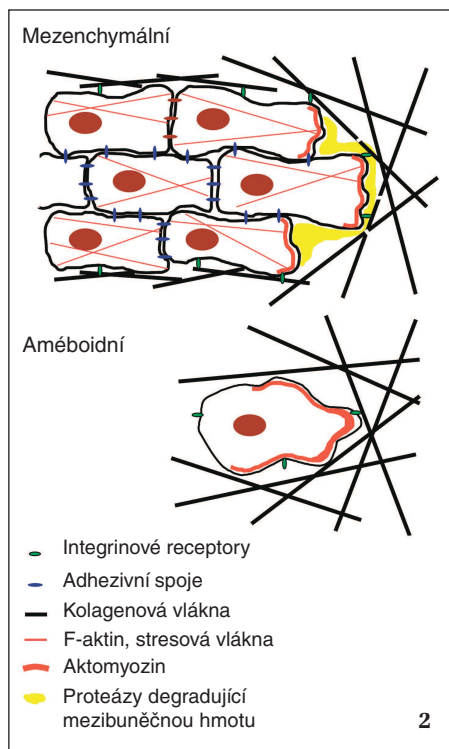
Tvorba metastáz je podmíněna invazivitou nádorových buněk, tedy pronikáním nádorových buněk z primárního nádoru do okolní tkáně. V současné době jsou známy dva hlavní způsoby buněčné invazivity – mezenchymální invazivita závislá na degradaci mezibuněčné hmoty a nově popsaná améboidní invazivita charakterizovaná zvýšenou aktivitou kinázy ROCK (Rho-kinase) a schopností buněk působit větší silou na své okolí. Článek přibližuje současné názory na mechanismus invazivity nádorových buněk, včetně objevu nového způsobu – améboidní invazivity.

U většiny nádorových onemocnění je nejnebezpečnější vlastností nádorových buněk schopnost vytvářet sekundární ložiska, tzv. metastázy. Právě metastázy jsou příčinou přibližně 90 % úmrtí na nádorová onemocnění. Z tohoto důvodu je v biologickém i lékařském výzkumu věnována velká pozornost problematice tvorby metastáz. Soubor procesů, které vedou k jejich vzniku, se nazývá metastatická kaskáda (obr. 3).

Aby buňka mohla metastázovat, musí nejprve proniknout (invadovat) z primárního nádoru do okolní tkáně a následně i do krevního nebo lymfatického řečiště. V řečišti musí být navíc schopna přežít v suspenzi, tj. nezávisle na kontaktech s okolní tkání. Následně musí nádorová buňka opustit řečiště, opět proniknout do tkáně a v cílovém místě se začít dělit. Při tom všem musí ještě unikat buňkám imunitního systému. Ačkoli pro úspěšné metastázování je obvykle třeba, aby buňky absolvovaly celou metastatickou kaskádu, kritický bývá většinou první krok – průnik (invaze) buněk z původního nádoru do okolní tkáně. Studiu invazivity nádorových buněk se proto v poslední době věnuje velká pozornost. Rozvoj nových technologií, zejména zobrazování pohybu buněk v živé tkáni v reálném čase a modely buněčné invazivity v trojrozměrném prostoru, přinesly mnoho nových poznatků.

V současné době jsou známy dva hlavní způsoby buněčné invazivity. Déle známá a lépe prostudovaná je mezenchymální invazivita. Tento typ je závislý na aktivitě extracelulárních proteáz – enzymů schopných odbourávat mezibuněčnou hmotu. Buňky invadující do mezenchymu využívají celou řadu proteáz, mezi nejdůležitější patří matrixové metaloproteinázy, katepsiny, uPAR (urokinase plasminogen activator receptor) a proteiny z rodiny ADAM (a disintegrin and metalloproteinase). Pomocí těchto proteáz buňka štěpí jednotlivé složky mezibuněčné hmoty, např. kolagen, čímž dojde k rozvolnění mezibuněčné hmoty a vzniku tunelů (cestiček), kterými buňka následně proniká do okolí. Nádorová buňka si pro invazi vytváří specializované struktury, mezi nejvý-





znamnější dosud popsané patří podozomy a invadopodia. Podozomy (obr. 1) jsou specializované dynamické aktinové struktury na straně buněk přiléhající k podkladu, které umožňují adhezi buněk k mezibuněčné hmotě. Vyskytují se nejen u nádorových, ale i u normálních buněk, které se musí v těle přesouvat (např. fagocytující buňky imunitního systému – makrofágy) či vstřebávat mezibuněčnou hmotu (např. buňky odbourávající kostní tkáň – osteoklasty). Podozomy obsahují řadu proteinů regulujících dynamiku cytoskeletu, což umožňuje rychlou přestavbu těchto struktur a pravděpodobně i tvorbu invadopodií (viz dále). Kromě toho obsahují i zmíněné extracelulární proteázy – k jejich aktivaci a uvolňování do mezibuněčného prostoru dochází právě v oblasti podozomů.

Invadopodia jsou dlouhá a poměrně tenké výběžky, které buňka často vysouvá do okolí v oblasti větších shluků podozomů. Invadopodia pronikají do mezibuněčné hmoty pomocí proteáz uvolňovaných jejich konci a zároveň se v důsledku přestaveb cytoskeletu prodlužují. Průnikem invadopodií dochází ke značnému rozrušení mezibuněčné hmoty a vytvoření větších otvorů, kterými následně prochází celá buňka. Mezenchymální invazivitou se vyznačují nejen buňky mnoha druhů karcinomů, ale třeba i pojivové buňky (fibroblasty) transformované různými onkogeny. Zkoumání mechanismů mezenchymální invazivity vedlo k vývoji nových typů protinádorových léčiv zaměřených na potlačování metastazování. Mezi ně patří dnes již běžně klinicky používané specifické inhibitory extracelulárních proteáz. Použití inhibitorů extracelulárních proteáz však snižuje schopnost metastazování jen v některých případech. Možné vysvětlení přinesl objev nového způsobu buněčné invazivity.

V r. 2003 byly v laboratoři profesora P. Friedla ve Würzburgu inkubovány fibrosarkomové buňky (fibrosarkom – nádor z fibrózní – pojivové tkáně, často metastazuje) linie HT-1080 se směsí inhibitorů

všech extracelulárních proteáz známých svou účastí na mezenchymální invazivitě. Navzdory inhibici extracelulárních proteáz fibrosarkomové buňky neztratily schopnost pronikat do kolagenu. Podrobnější zkoumání ukázalo, že se buňky stávaly améboidními (měňavkovitými) a doslova se protahovaly úzkými otvory mezi kolagenovými vlákny. Obdobné výsledky autoři získali i s metastatickými buňkami karcinomu prsu linie MDA-MB231. Ve stejném roce E. Sahai a Ch. Marshall (Institute of Cancer Research v Londýně) analyzovali buněčnou invazivitu různých melanomů a karcinomů a rovněž zjistili dva rozdílné způsoby invazivity. U nádorových linií, jejichž buňky měly při pohybu v kolagenu nebo mezibuněčné hmotě protáhlý tvar, pozorovali autoři známou mezenchymální invazivitu. Naproti tomu u buněk linií s převažující améboidní morfologií nebyla invazivita závislá na extracelulárních proteázách, ale na aktivitě jiného enzymu – malé GTPázy Rho (účastní se zejména regulace aktinového cytoskeletu). Skupina E. Sahaie ve spolupráci s týmem J. S. Condeelis (Albert Einstein College of Medicine v New Yorku) později améboidní invazivitu blíže charakterizovala. Prokázala, že zvýšená aktivita GTPázy Rho vede v améboidně invadujících buňkách k aktivaci kinázy ROCK. Tato kináza fosforilyzuje lehký řetězec myozinu a tím zesiluje kontraktilitu aktomyozinu. Podle autorů postačuje síla vzniklá kontrakcí aktomyozinu (souboru vzájemně propojených aktinových a myozinových vláken) k deformaci kolagenových vláken, což umožňuje buňkám proniknout mezibuněčnou hmotou i bez štěpení kolagenu extracelulárními proteázami.

Pozorný čtenář si jistě všiml, že obě skupiny vysvětlují mechanismus améboidní invazivity odlišným způsobem. Skupina P. Friedla uvažuje protahování améboidních buněk již existujícími otvůrkami mezi kolagenovými vlákny, zatímco tým E. Sa-

1 Buňka s podozomy sarkomové linie RsK4 ve fluorescenčním mikroskopu. Podozomy jsou patrné jako žlutooranžově zbarvené útvary ve středu buňky. Jsou to vysoce dynamické cytoskeletární struktury charakterizované přítomností jak F-aktinu (červeně), tak i fosfotyrozinu (zeleně). Foto O. Tolde, z archivu laboratoře J. Brábka, úpravy D. Rösel

2 Způsoby invazivity. Orig. D. Rösel

3 Metastatická kaskáda: I. Invaze – průnik buněk z primárního nádoru do okolní tkáně; II. Intravazace – průnik do krevního nebo lymfatického řečiště; III. Transport na cílové místo krevním řečištěm; IV. Extravazace – únik z krevního řečiště; V. Proliferace buněk na sekundárním místě – tvorba sekundárních nádorů. Orig. D. Rösel

haie tvrdí, že améboidně invadující buňky jsou schopny pomocí kontrakce aktomyozinu kolagenová vlákna deformovat a pronikat tak aktivně mezibuněčnou hmotou. Pravdivé mohou být obě interpretace, a to např. v závislosti na typu buněk či typu nebo pevnosti mezibuněčné hmoty.

Améboidní invazivita byla dosud popsána jako primární způsob invazivity pouze u nádorových buněk epitelálního původu – karcinomů a melanomů. V naší laboratoři jsme améboidní invazivitu prokázali i u sarkomových linií (sarkom – nádor z pojivové tkáně) s různou metastatickou kapacitou, tedy u nádorových buněk mezenchymálního původu.

Závislost améboidní invazivity na aktivitě kinázy ROCK byla využita k vývoji nové skupiny protimetastatických léčiv – specifických inhibitorů kinázy ROCK. Jak bylo výše uvedeno, minimálně některé nádorové buňky jsou schopny podle situace použít jeden nebo druhý způsob invazivity. Účinnou terapii zaměřenou proti invazivitě nádorových buněk by tedy mohla představovat kombinace inhibitorů kinázy ROCK a inhibitorů extracelulárních proteáz.