

Molekulární biologie

11. Molekulární podstata nádorových onemocnění

Osnova

základní vlastnosti nádorové buňky
onkogeny, protoonkogeny, nádorové supresory
dědičné nádory

Hlavní zdroje:

*S. Rosypal, Úvod do molekulární biologie 1-4
Masarykova Universita Brno
ISBN 80-902562*

*B. Staveley, Principles of Cell Biology
Memorial University of Newfoundland
<http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/CBhome.html>*

Rakovina - Úvod

*Komplexní onemocnění vycházející z poruch buněčného cyklu
Způsobena maligním nádorem*

- v civilizovaném světě je šance na vznik rakoviny zhruba u 50% populace
- druhá nejčastější příčina úmrtí po kardiovaskulárních nemocech
- vývoj rakoviny je postupný proces kumulace změn - vyšší riziko s věkem

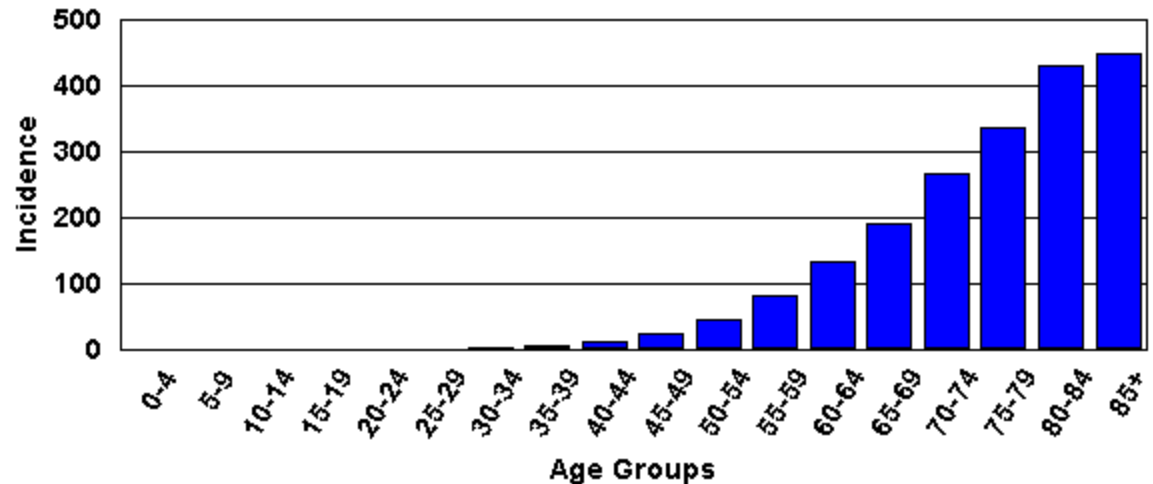
Nádor (tumor, neoplazma, novotvar)

patologický útvar tvořený v tkáni mnohobuněčného organismu, jehož růst se vymkl kontrole. Dělení buněk není omezováno žádným regulačním mechanismem

Kancerogeneze = Karcinogeneze

Proces vzniku a vývoje nádoru

COLON & RECTUM CANCER (Invasive) - INCIDENCE BY AGE CATEGORY
Incidence by Age Category (SEER Table VI-2) 1994-1998
*Incidence means the number of cases per 100,000 population



Rakovina - Úvod

Benigní nádor

- pomalý růst
- podobnost s původní tkání
- ohraničenost
- většinou neohrožují život
- utlačuje okolní tkáň

Maligní nádor

- vysoká proliferace
- změny v morfologii, velikosti a tvaru buněk
- nižší stupeň diferenciacce
- tvorba metastáz

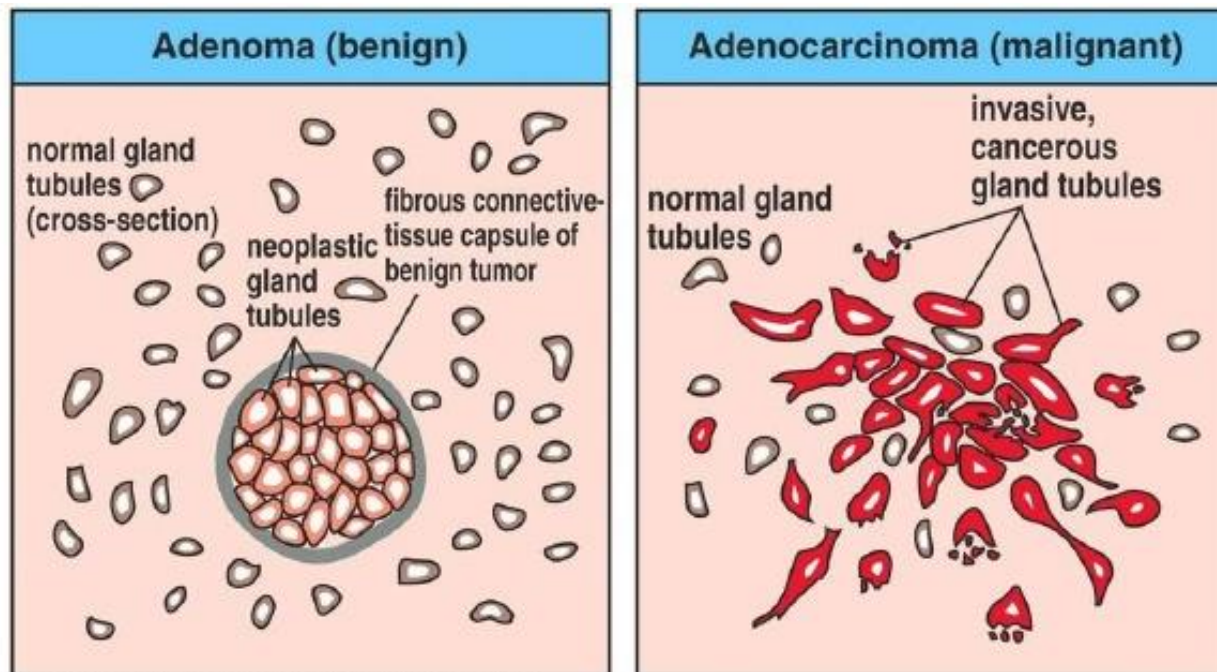


Figure 12-35 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

Adenom/Adenokarcinom: nádor vzniklý z epitelu. Nezhoubný nádor se označuje jako adenom, zhoubný jako adenokarcinom.

Rakovina - Úvod

Typy

1. (Adeno) Karcinomy

- z epitheliálních buněk
- 90% všech rakovin
- např. kůže, játra, slinivka, štítná žláza, plíce, prsa, prostata, tlusté střevo, vaječníky, ledviny...

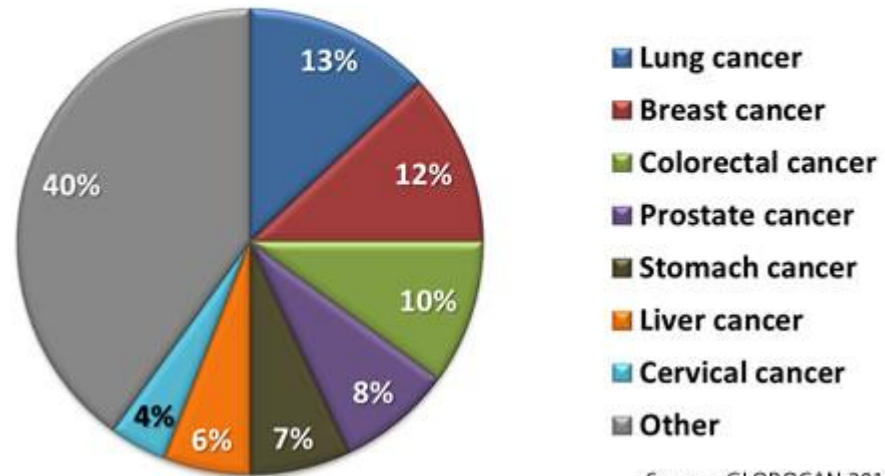
2. Sarkomy

- v podpůrných tkáních
- např. kost, chrupavka, sval...

3. Krevní a lymfatické

- nevyskytují se jako pevné útvary
- lymfomy a leukémie

Most Common Cancers Worldwide in 2012

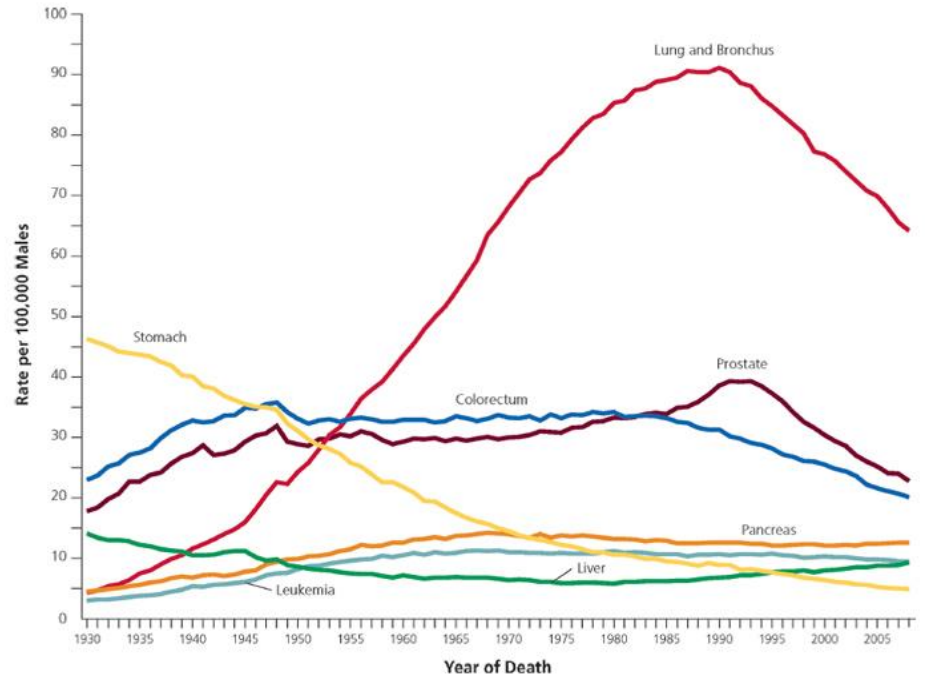
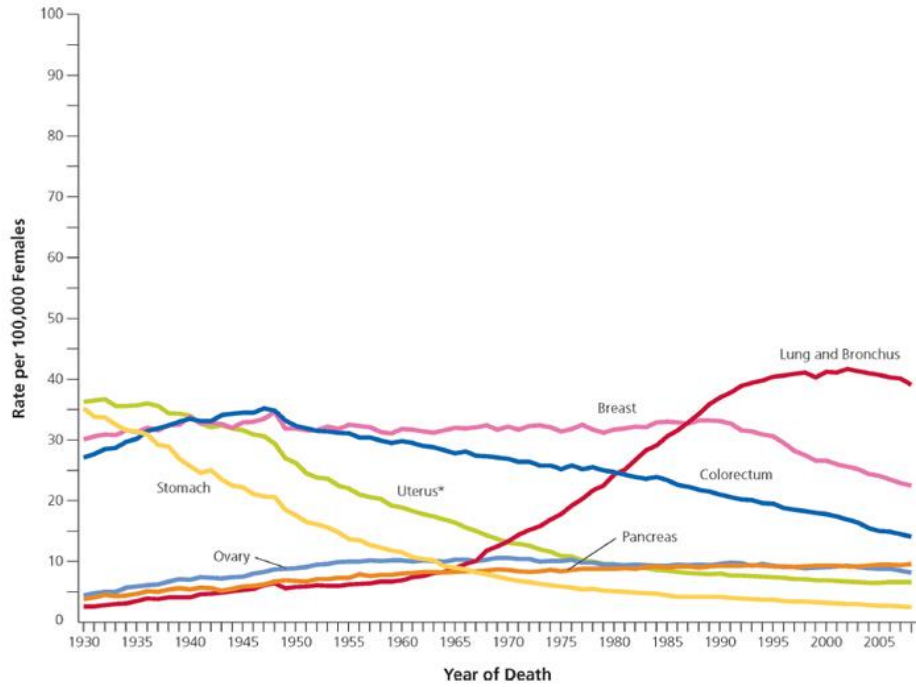


Source: GLOBOCAN 2012

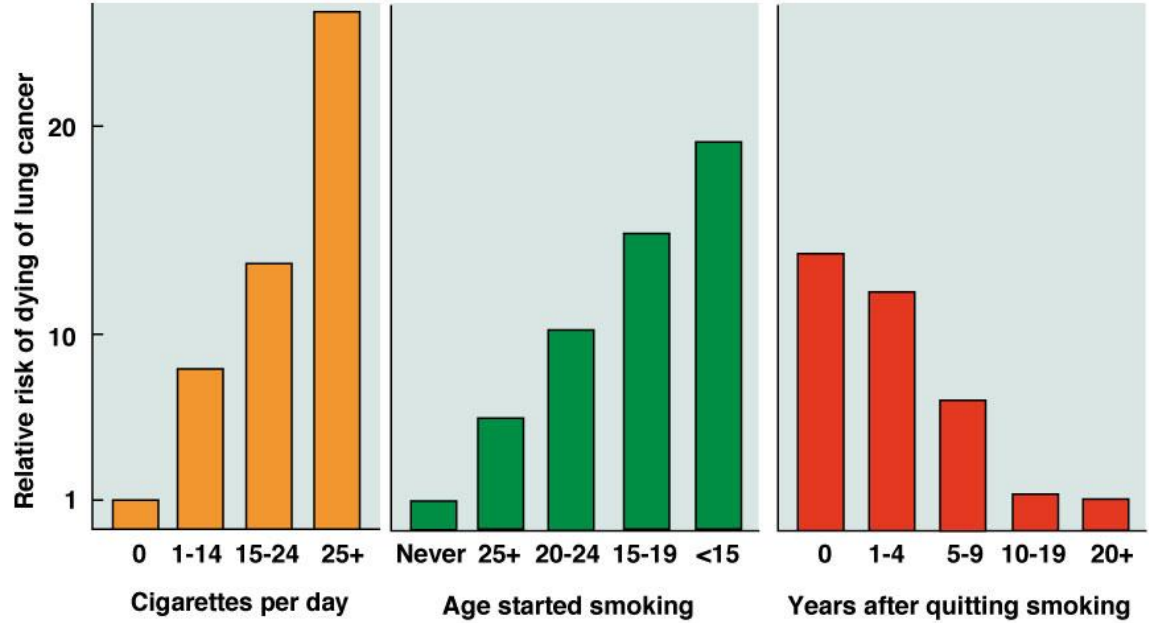
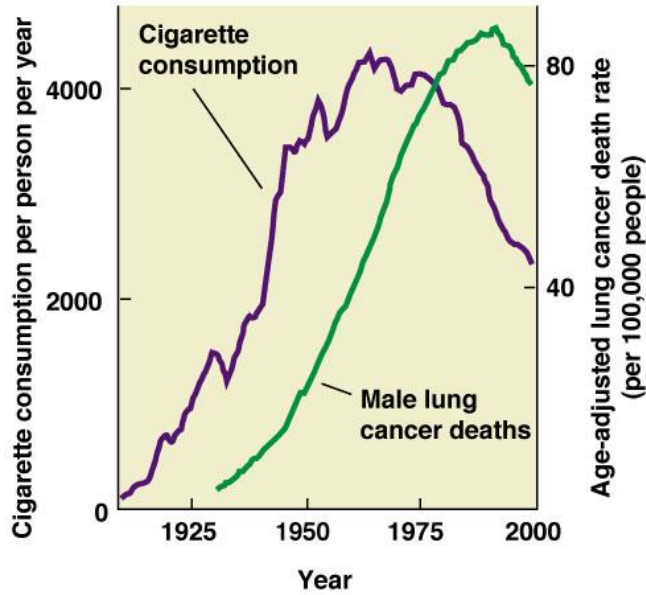
Epitel kryje vnější nebo vnitřní povrchy organismu a má žláзовou funkci. *Fylogeneticky nejstarší typ tkáně. Vzniká ze všech 3 zárodečných listů.*

Endotel - *jednovrstevný dlaždicový epitel (vrstva buněk) vystýlající vnitřní povrch cév a srdce. Mezodermální původ.*

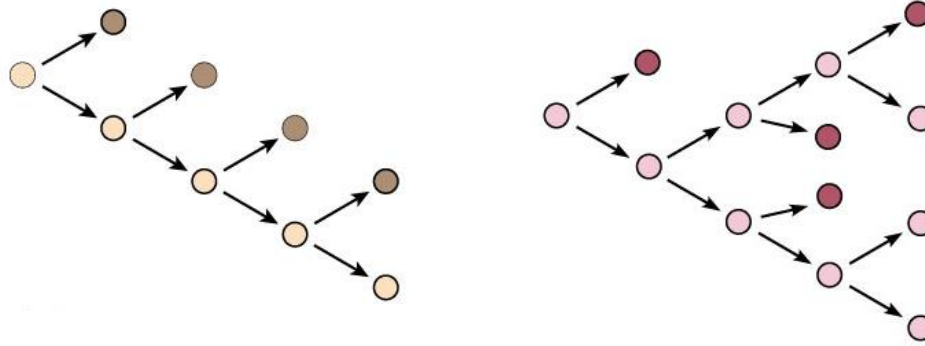
Roční úmrtnost na vybrané typy rakoviny



Cigaretty a rakovina

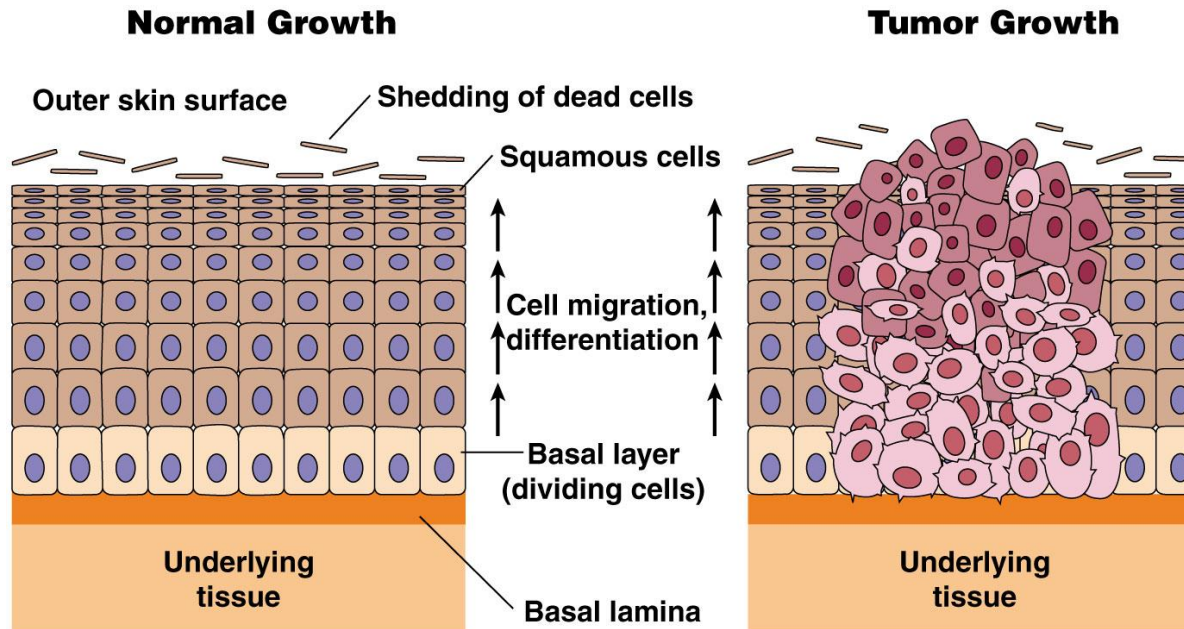


Tumory vznikají nekontrolovaným dělením při ztrátě rovnováhy mezi **proliferací** a **diferenciací**



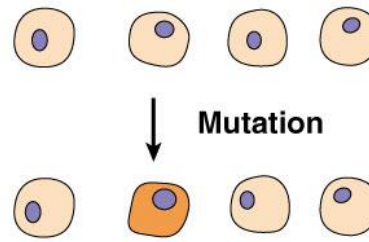
Rakovina kůže

- vrstva epiteliálních buněk z bazální vrstvy začne přerůstat okolní buňky a tvoří tumor
- defektní mechanismy kontroly buněčného cyklu

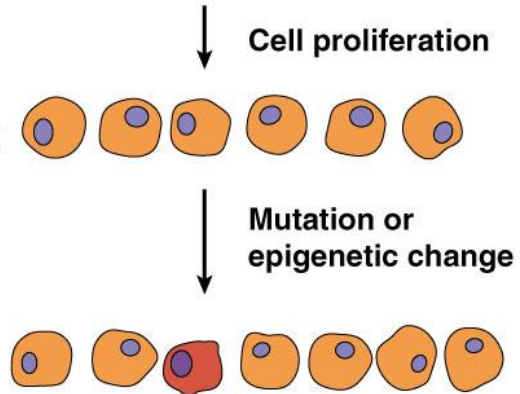


Stádia rakoviny

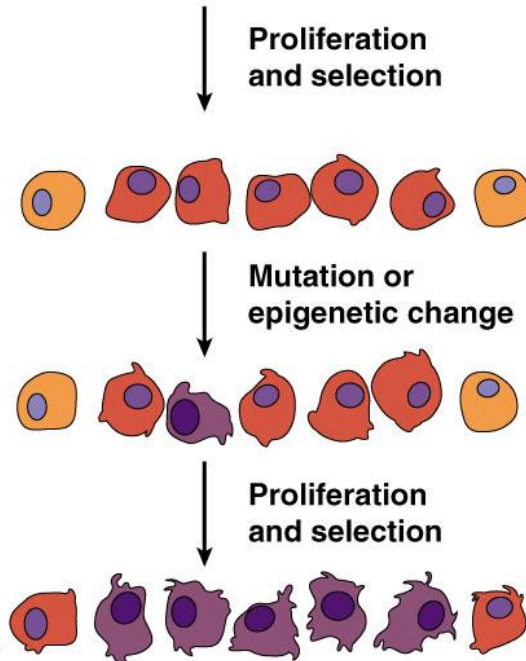
1 Initiation



2 Promotion



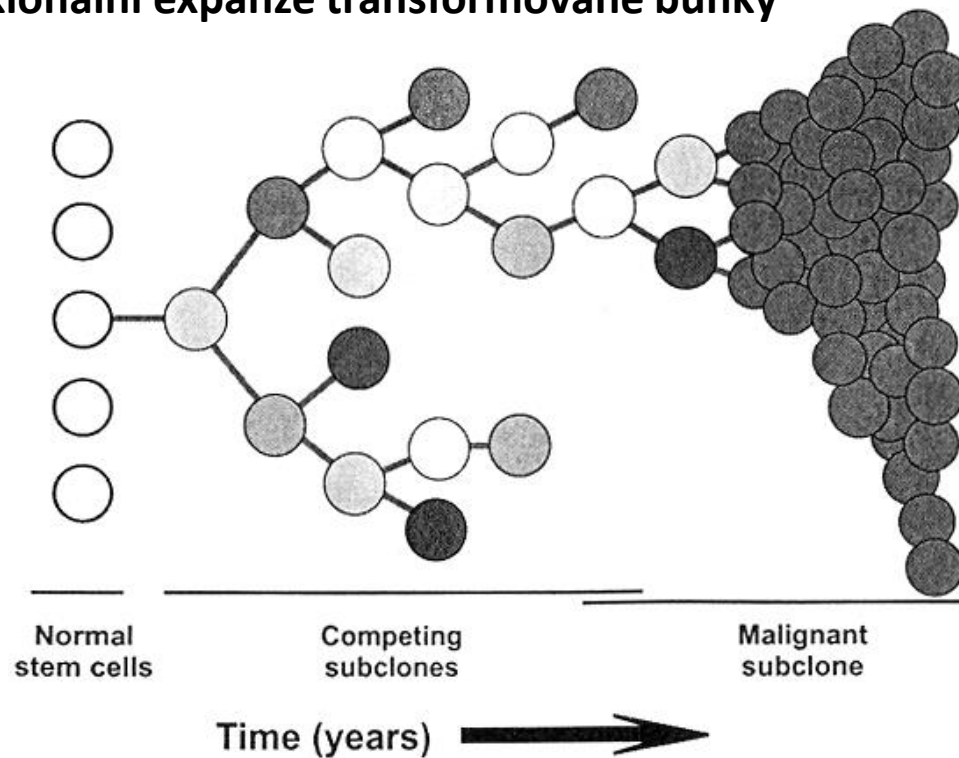
3 Tumor progression



Rakovina není monogenní onemocnění

- Odhadem **4-7 událostí** nezbytných pro nádorovou transformaci buňky
- **Desítky možných genů**, jejichž mutace povede k podpoře vzniku rakoviny

Klonální expanze transformované buňky



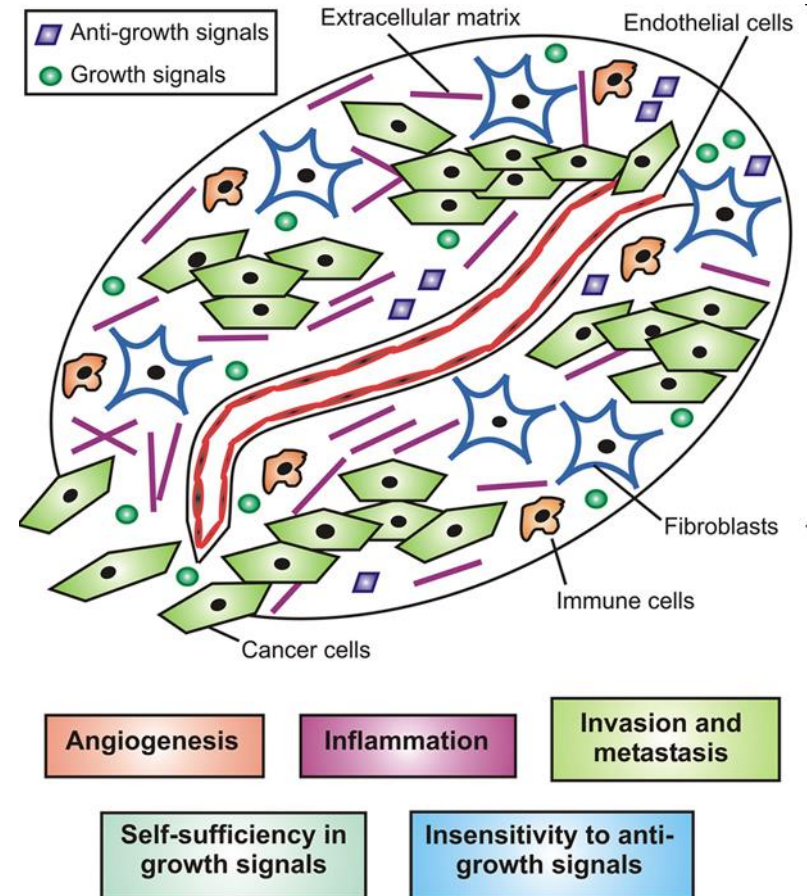
Nádor je komplexní tkáň

1. Nádorové stroma:

- **Podpůrné buňky** – zejm. **Fibroblasty** - udržují tvar, vylučují extracelulární matrix
- Nové **cévní zásobení (endotheliální buňky)** - transport živin a kyslíku, možnost invaze a metastází
- Buňky **imunitního systému** - indukce zánětu

2. Nádorový parenchym:

- Vlastní nádorové buňky
- Heterogenní, k mutacím dochází i během jeho růstu



Obecné vlastnosti nádorové buňky

1. Soběstačnost v produkci růstových signálů
2. Necitlivost k signálům zastavujícím buněčný cyklus
3. Poškození apoptózy
4. Neomezený replikační potenciál
5. Posílení angiogeneze
6. Tvorba metastáz

*Byly porušeny překážky buněčné proliferace
→
Neomezené dělení buňky a její „nesmrtelnost“*

Speciální vlastnosti nádorové buňky při *in vitro* kultivaci

1. Nepotřebují ukotvení

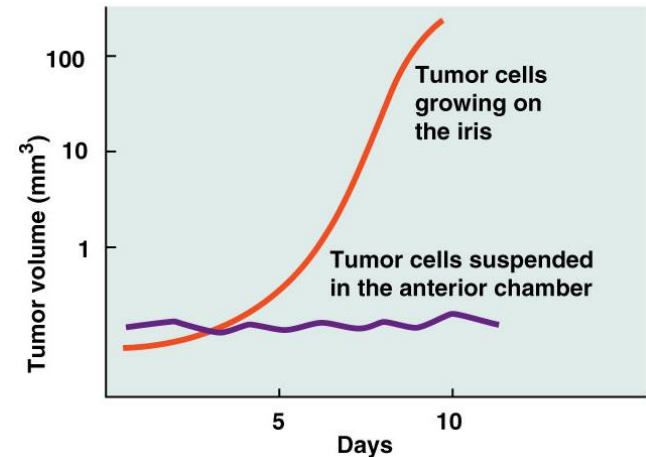
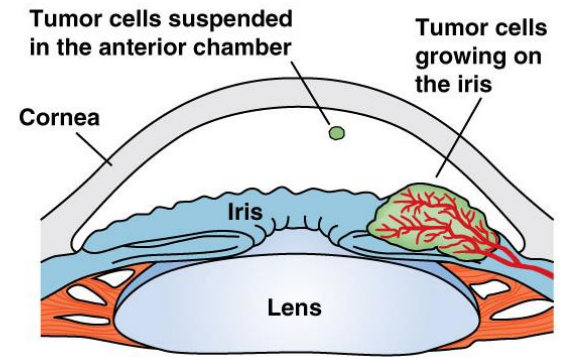
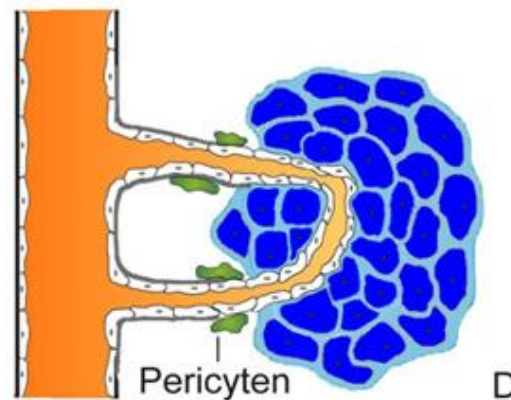
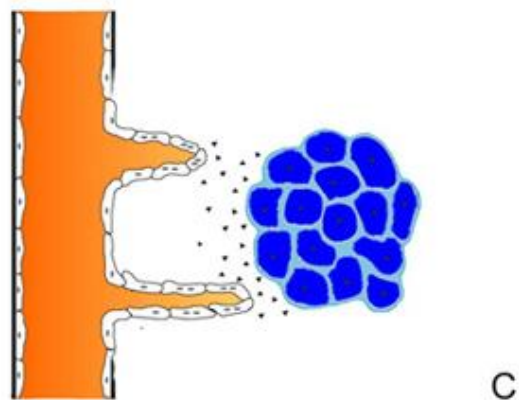
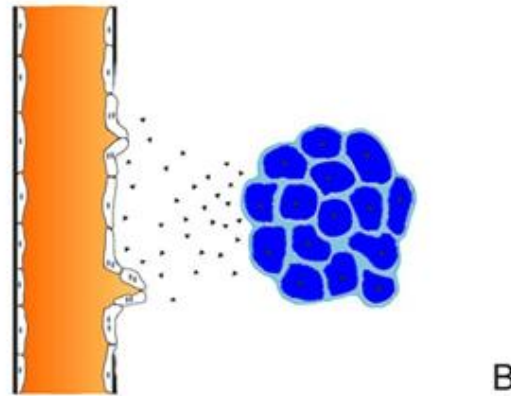
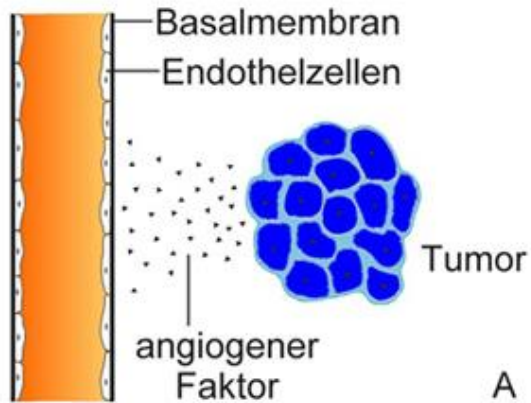
- většina zdravých buněk potřebuje podklad a v kultuře tvoří monolayer
- rakovinné buňky dokážou růst v suspenzi

2. Snížená citlivost ke kontaktním signálům (kontaktní inhibice)

- zdravá buňka se přestane dělit, pokud není místo (v kultuře tvoří pouze monolayer)
- rakovinná buňka se dělí dál a utlačuje okolní tkáň (v kultuře přerůstá do více vrstev, 3D útvary)

Angiogeneze

- tvorba vlastního cévního zásobení
- tumor potřebuje cévní zásobení pro výživu, okysličení a odvod živin, v opačném případě roste pouze max. 1-2 mm
- toto kontroluje vypouštěním směsi angiogenních faktorů (např. VEGF a FGF)



Duhovka (iris) je dobře prokrvená
Cornea - rohovka

Metastáze a invaze

- primární nádory lze odstranit chirurgicky

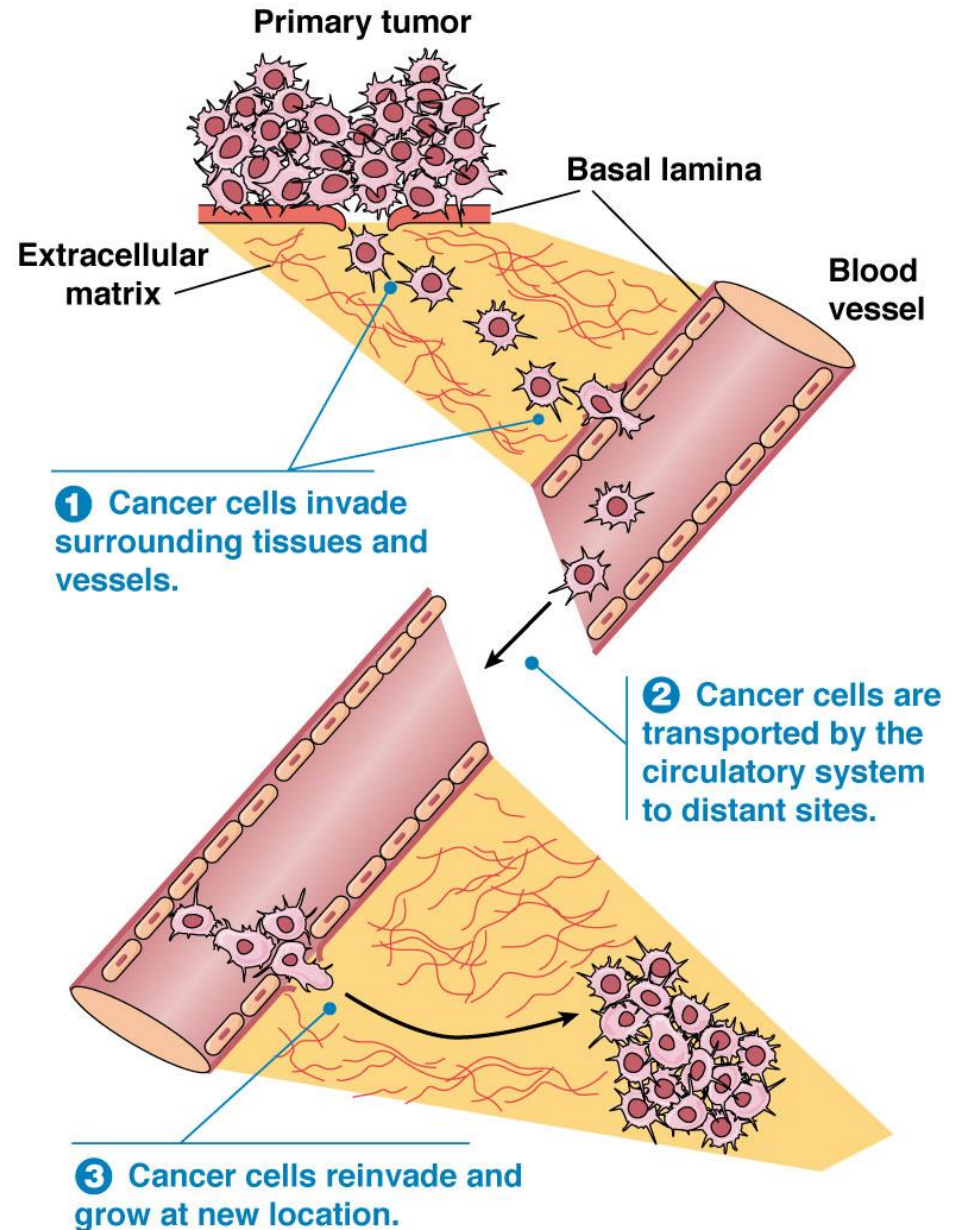
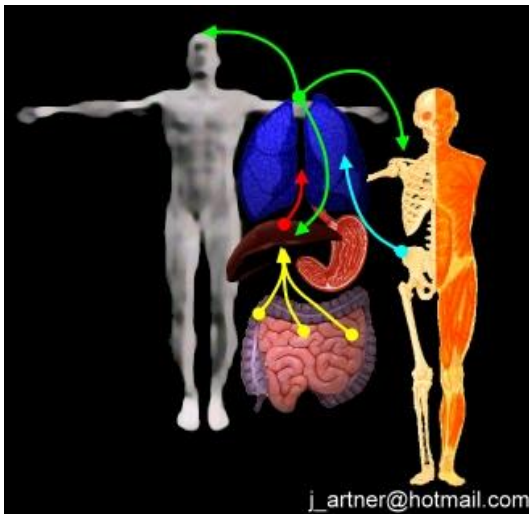
Invaze

migrace a penetrace rakovinných buněk do sousední tkáně

Metastáze

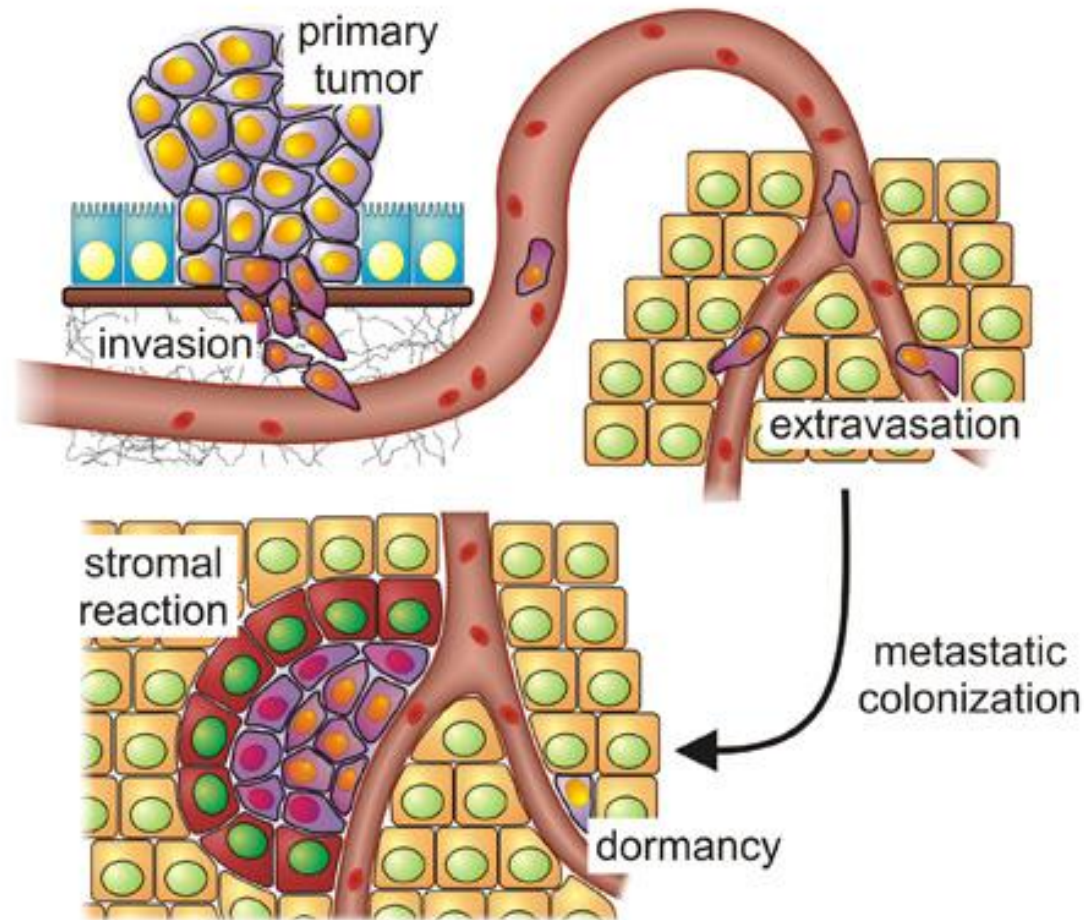
migrace rakovinných buněk krevním oběhem do vzdálených tkání a tvorba sekundárních ložisek

- změny adheze a produkce proteáz, degradujících proteiny bazální laminy



Metastáze a invaze

- rakovinné buňky mohou v sekundárních ložiscích přetrvávat ve stádiu **dormance**, těžko odhalitelné zobrazovacími metodami - relaps onemocnění po letech



Extravasation is the movement of cells from the capillaries to the tissues surrounding them

Neomezený replikační potenciál rakovinných buněk

Telomery

Opakující se sekvence na konci každé chromatidy

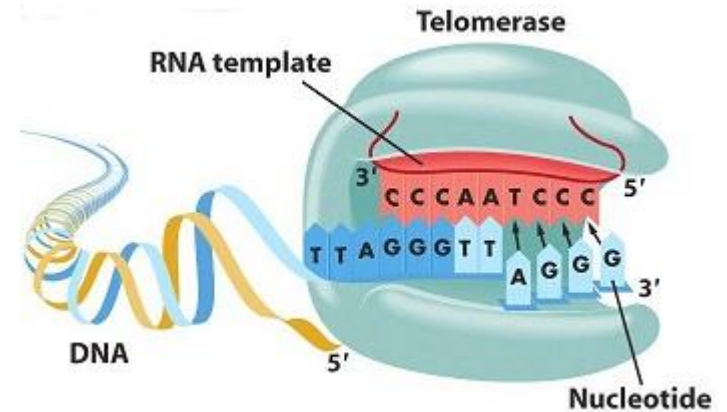
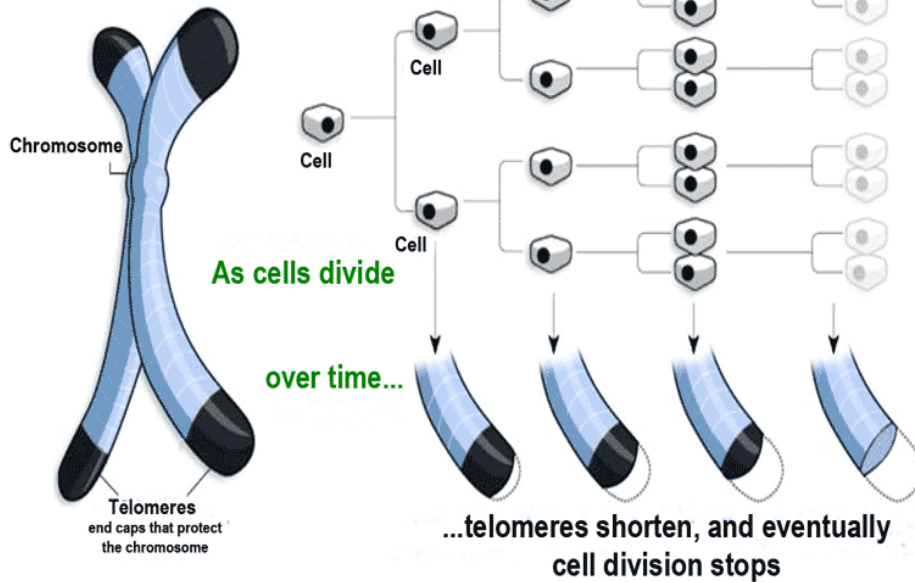
Pro obratlovce: sekvence TTAGGG (opakuje se asi 2500x u lidí)

Při každé replikaci dojde ke zkrácení chromatidy. To může být dorovnáno enzymem telomerázou

U většiny lidských somatických buněk telomeráza není aktivní

Aktivní telomeráza znakem nádorových a kmenových buněk – až 90%

What We Lose With Age



Molekulární podstata rakoviny

Změny v genech, které hrají roli v kontrole buněčného cyklu a opravách DNA

1. Proto-onkogeny

- geny stimulující proliferaci
- při mutacích způsobujících jejich hyperaktivitu je nazýváme **onkogeny**
- "*Gain-of-function*" mutace
- často geny signalizační kaskády růstových faktorů
- např. Ras, Myc...
- aktivace je **dominantní** - stačí porucha v jedné alele pro rozvoj rakoviny



2. Tumor-supresory

- geny zastavující buněčný cyklus
- při rakovině často nefunkční
- "*Loss-of-function*" mutace
- např. p53, Rb1, BRCA1 a BRCA2...
- aktivace je **recesivní** - nutný defekt v obou alelách pro vznik rakoviny



Protonkogeny a nádorově supresorové geny kódují proteiny, které se účastní řízení růstu buněk

1. Růstové faktory

- např. PDGF, EGF...

2. Receptory pro růstové faktory

- např. PDGFR, EGFR...

3. Nitrobuněčné přenašeče

- např. Ras, Src...

4. Transkripční faktory

- např. Myc, Fos...

5. Regulátory apoptózy

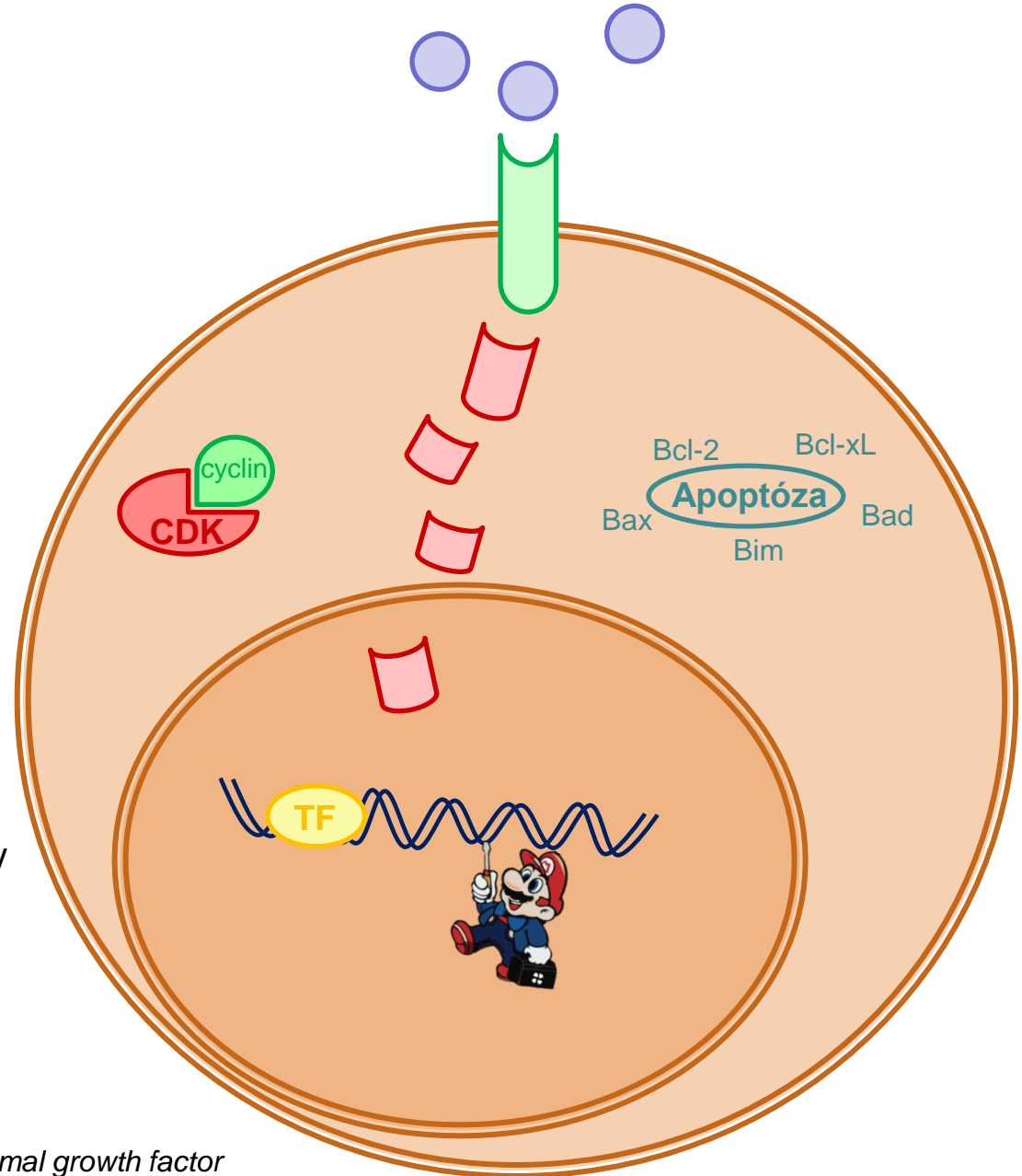
- např. proteinové rodina Bcl2

6. Proteiny řídící buněčný cyklus

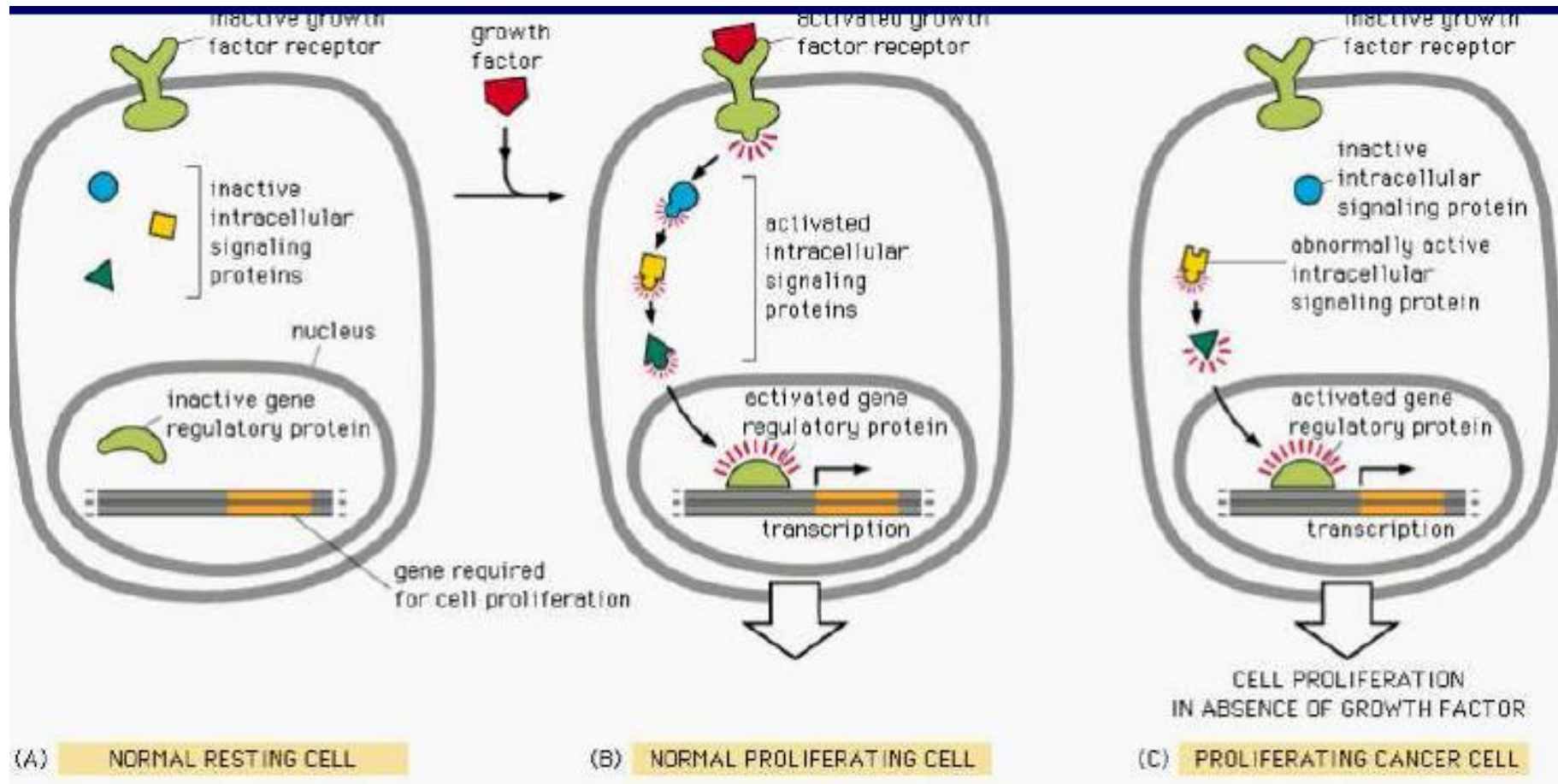
- např. cykliny a cyklin-dependentní kinázy

7. Proteiny zapojené do oprav DNA

- např. BRCA, ATM, ATR, γ H2AX...



Patologická aktivace protoonkogenů



Buněčný cyklus

Interfáze

G1 fáze - období růstu buňky

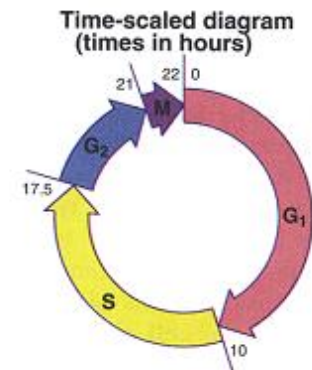
postup fází G1 je řízen dvěma kontrolními body:

- a) bodem restrikce (kontrola velikosti buňky, vnější signály)
- b) kontrolním bodem sledujícím stav DNA

S fáze – replikace DNA

G2 fáze – růst buňky, příprava na mitózu

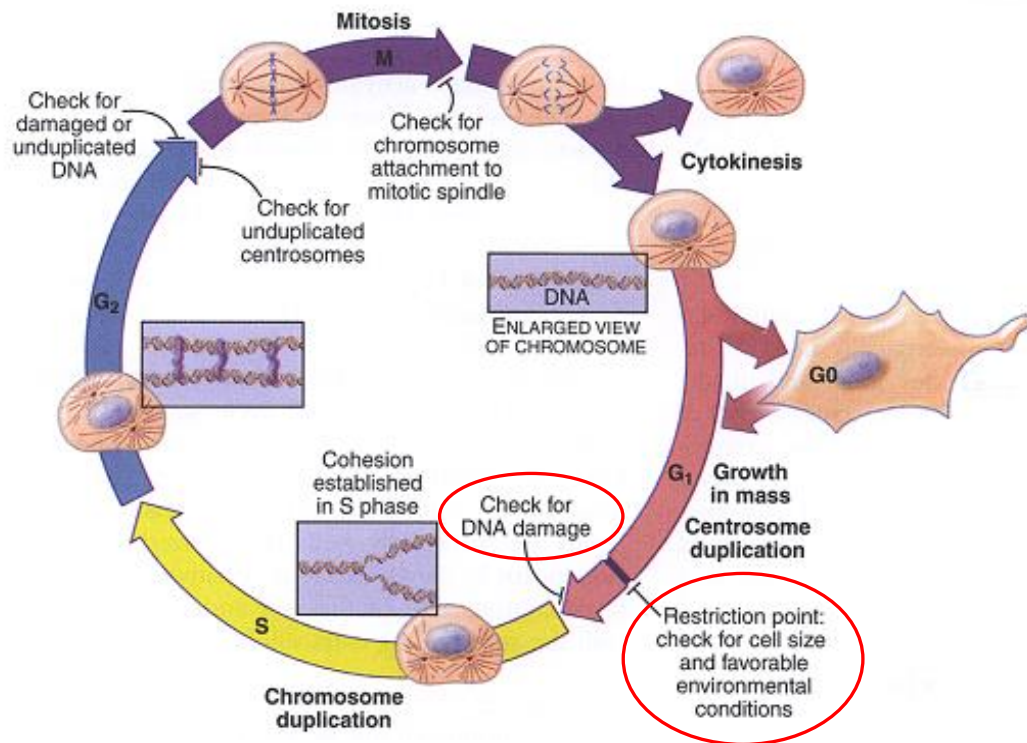
kontrolní bod G2 sledující poškození DNA - kontrola struktury DNA



Mitóza

M kontrolní bod

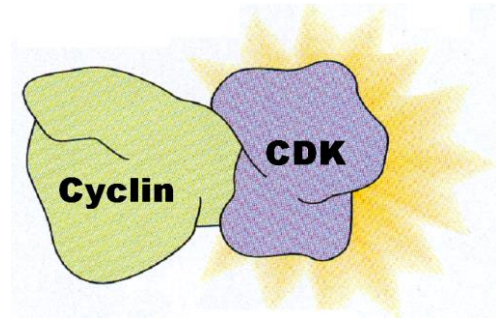
- kontrola sestavení mitotického vřeténka



Řízení buněčného cyklu

CDK- cykliny

heterodimerní protein kinázové komplexy zajišťující fosforylaci proteinů nezbytných pro průběh buněčného cyklu



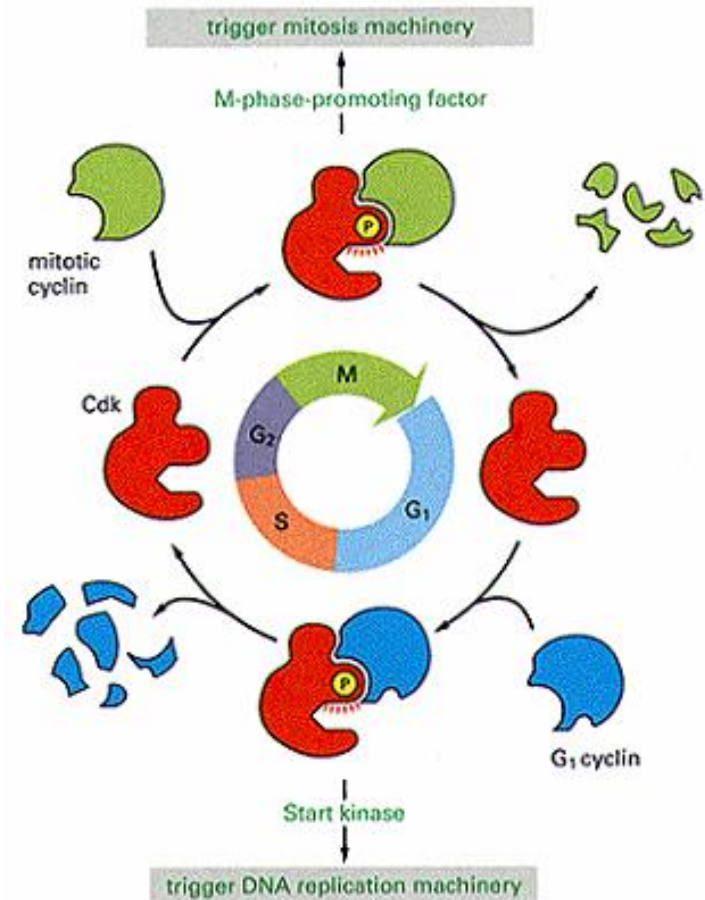
Cykliny

regulační podjednotky komplexu
zapínají kinázovou (fosforylační) aktivitu CDK
- jejich hladiny se během cyklu pravidelně kolísají
ve specifických fázích cyklu podléhají degradaci
proteolýzou

CDK (Cyklin dependentní kinázy)

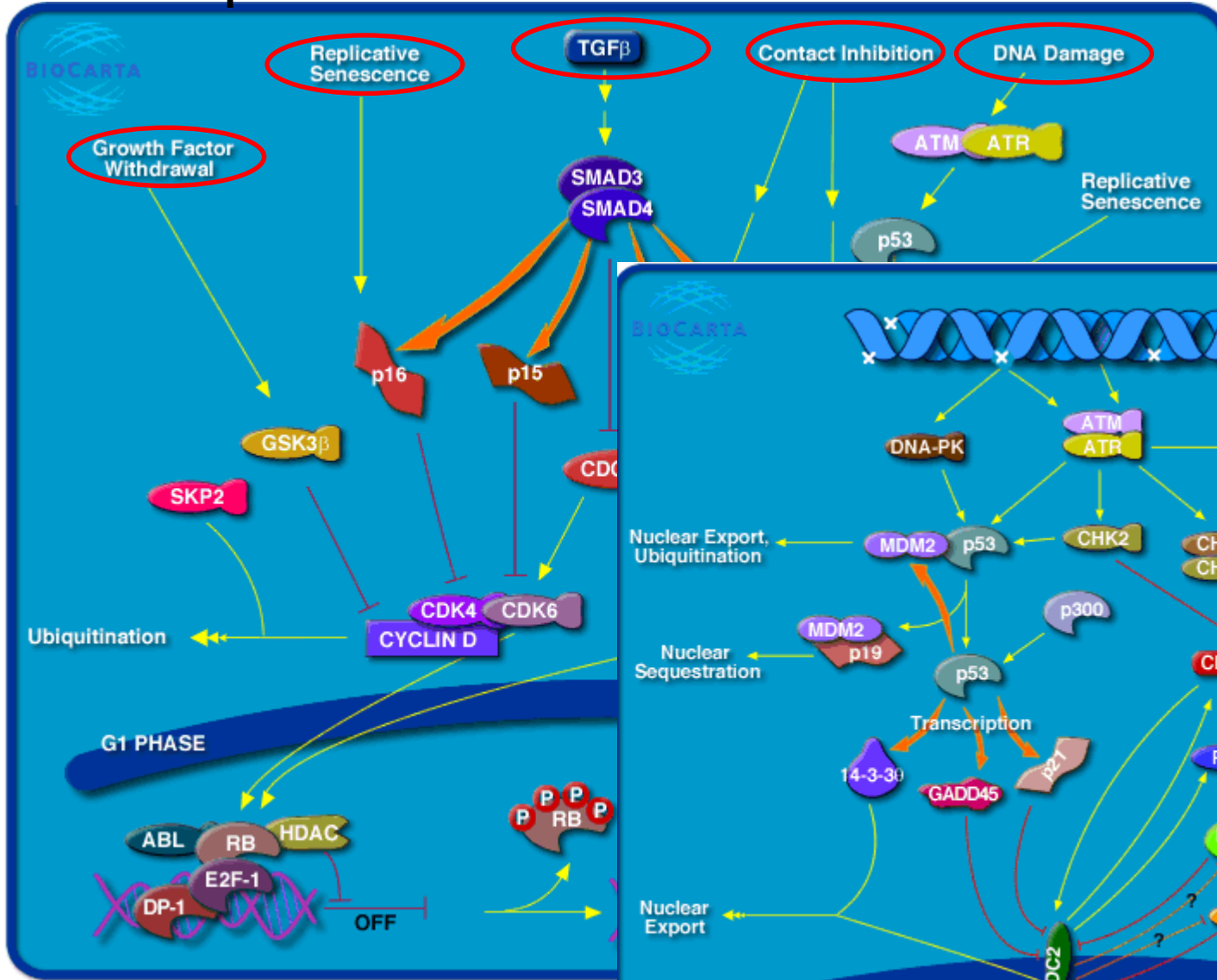
- katalytické podjednotky komplexu
aktivovány ve spojení s cykliny
aktivita (nikoli koncentrace) během cyklu kolísá

Inhibitory CDK

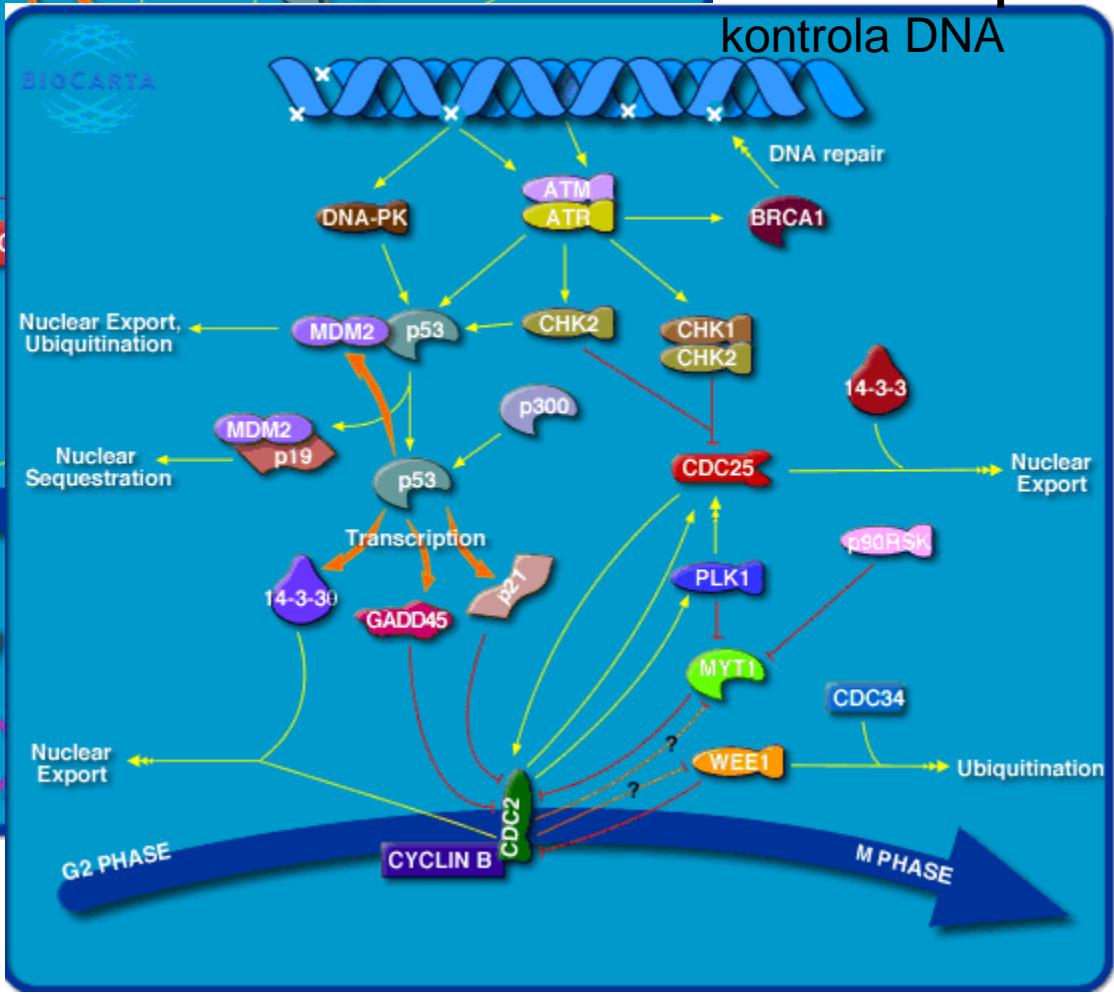


Antiproliferační signálizace (RB inhibuje cyklus v G1 vazbou na E2F)

G1/S Checkpoint

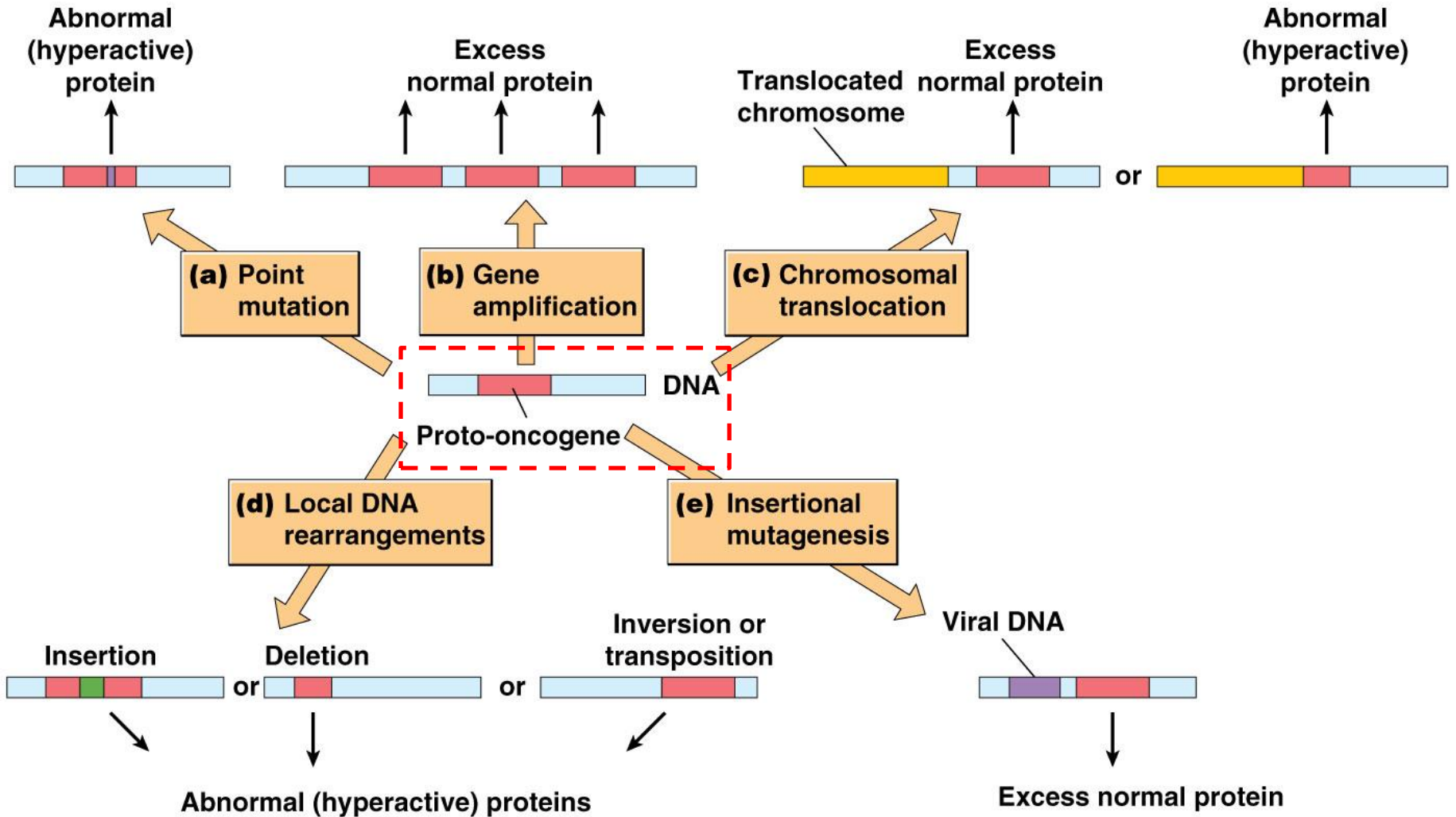


G2/M Checkpoint kontrola DNA

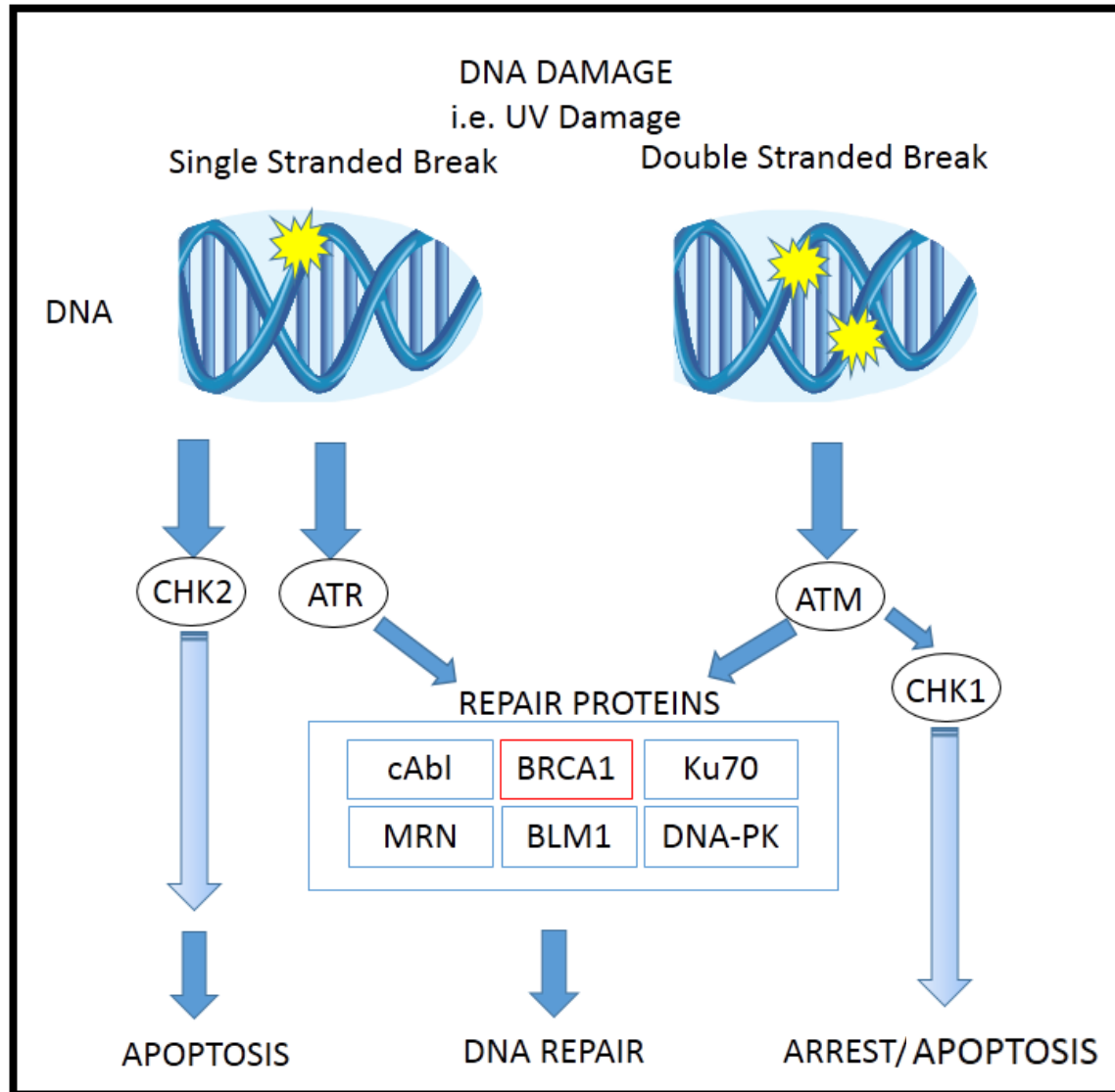


Typy mutací

a) bodová mutace, b) amplifikace genu, c) chromosomální translokace, d) lokální přestavby DNA, e) inzerční mutagenéze



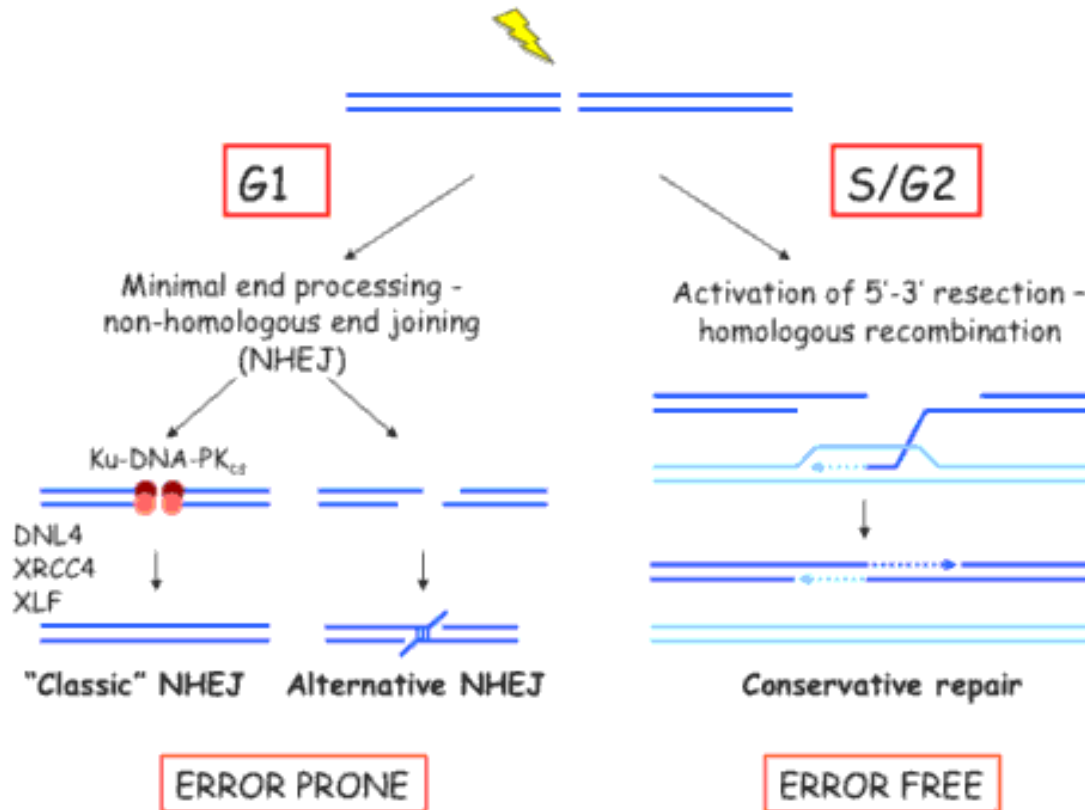
Oprava DNA



Oprava DNA

- **homologní rekombinace (HR)** je přesnější než **nehomologní spojování konců (NHEJ)**, vyžaduje však přítomnost templátové DNA (řetězec sesterské chromatidy se objeví až v S/G2 fázi; méně často slouží jako templát druhý chromozom v G1 - nesesterská chromatida)

Two mechanisms to repair DSBs



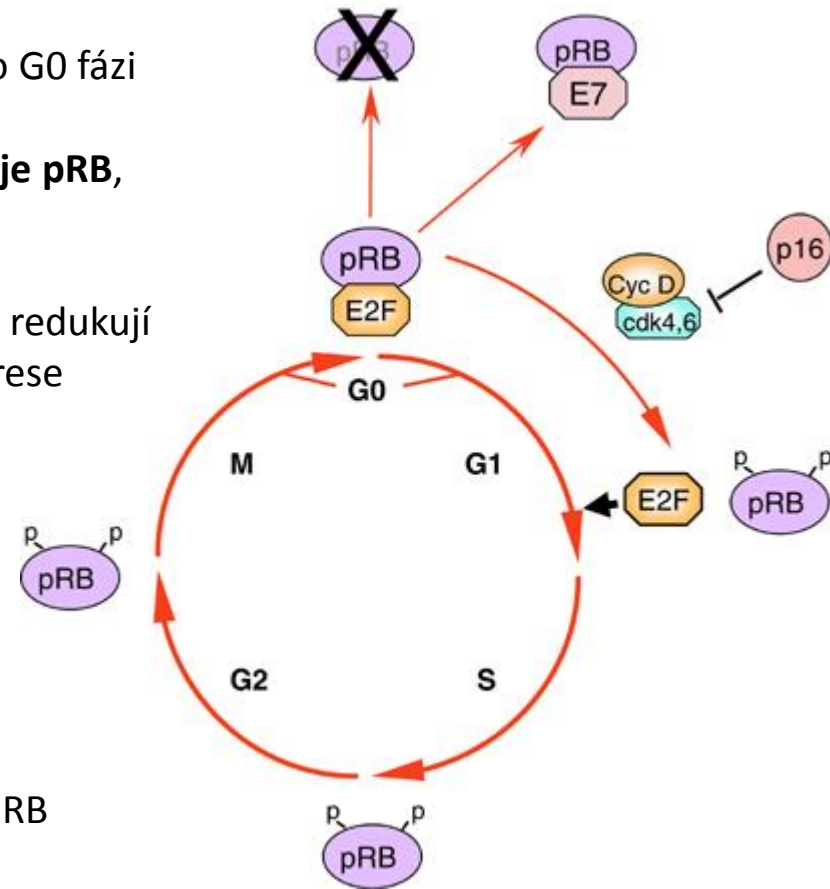
Tumor-supresor RB

Retinoblastoma protein (pRB) inhibuje přílišné dělení buněk (proliferaci) zastavením buněčného cyklu

- zabraňuje přechodu do S-fáze buněčného cyklu tím, že váže a inhibuje transkripční faktory E2F rodiny
- dokud je **Rb vázán na E2F**, buňka zůstává v časně G1 nebo G0 fázi
- v proliferujících buňkách komplex **CycD+CDK4,6 fosforyluje pRB**, čímž uvolňuje E2F → vstup do S-fáze
- komplex Rb-E2F také **přitahuje HDAC** k chromatinu, které redukuje transkripci faktorů podporujících přechod do S-fáze → suprese syntézy DNA

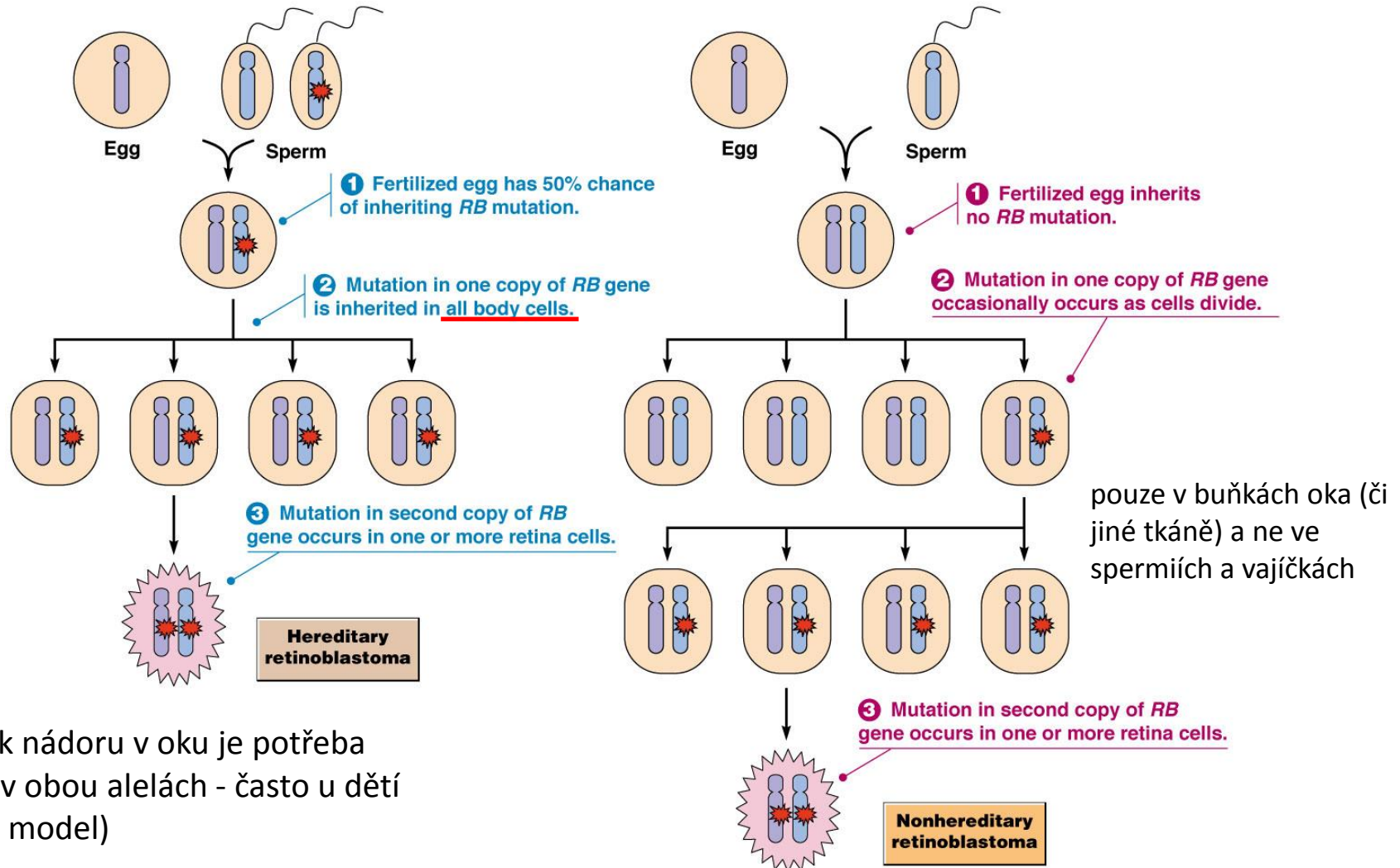
V nádorových buňkách pRB často nefunguje a E2F je stále volný → neregulovaná proliferace

- mutace v RB** genu - neváže se na E2F
- virový protein E7** vyvazuje pRB
- overexprese cyklinu D** nebo CDK 4,6 nebo **ztráta** inhibičního **p16** → nadměrná fosforylace RB



Dědičné typy rakoviny - mutace RB

- mutace v jedné alele se nachází již v pohlavní buňce → ve všech somatických buňkách potomka
- mutace v druhé alele může nastat během života
- nefunkční RB protein byl poprvé popsán v souvislosti s nádorem oka (retinoblastoma), roli hraje v různých typech nádorů



Pro vznik nádoru v oku je potřeba mutace v obou alelách - často u dětí (two-hit model)

Two-hit model

Pro vznik retinoblastomu je potřeba dvou genetických změn

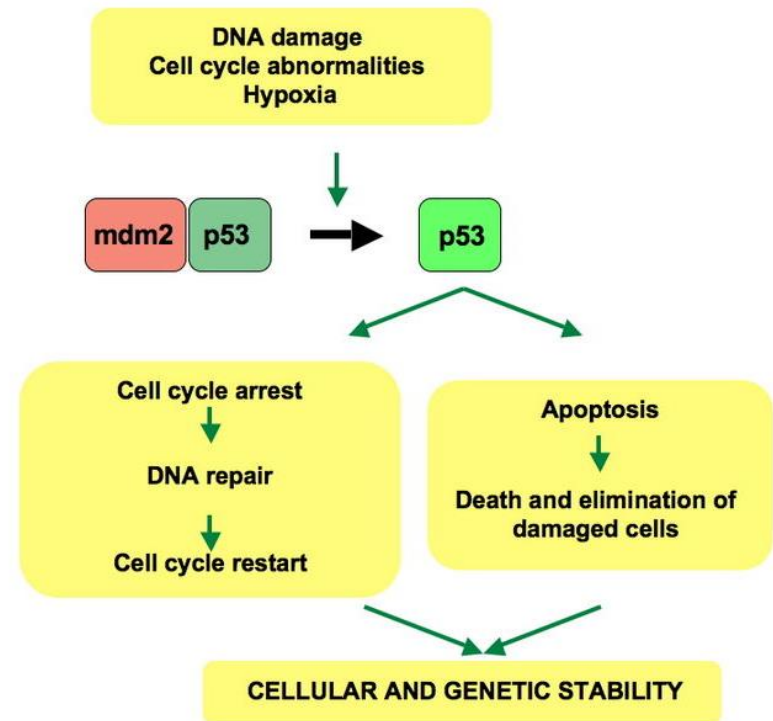
- Na základě srovnání dědičné a sporadické formy retinoblastomu definoval roku 1971 **Alfred Knudson** "two-hit" teorii
- výzkumníci v oboru rakoviny nejprve této teorii nevěnovali pozornost, jelikož dědičná rakovina je velmi vzácná
- tato teorie však stála za objevem tumor-supresorových genů ve všech typech rakoviny

"Very often we learn fundamental things from unusual cases." (A. Knudson)

Tumor-supresor p53

The guardian of the genome

- p53 indukuje transkripci p21, který se váže na CDK2 - inhibuje přechod do S fáze
- vazba s Mdm2 inhibuje jeho aktivitu
- HATs (např. p300/CBP, PCAF) mohou v odpovědi na stres acetylovat p53 → zvýšení aktivity
- HDAC1, 2 a 3 mohou snížit aktivitu p53 deacetylací
- 50% nádorů má mutaci nebo delecii p53
- mutace p53 znamená většinou negativnější prognózu u nádorového onemocnění



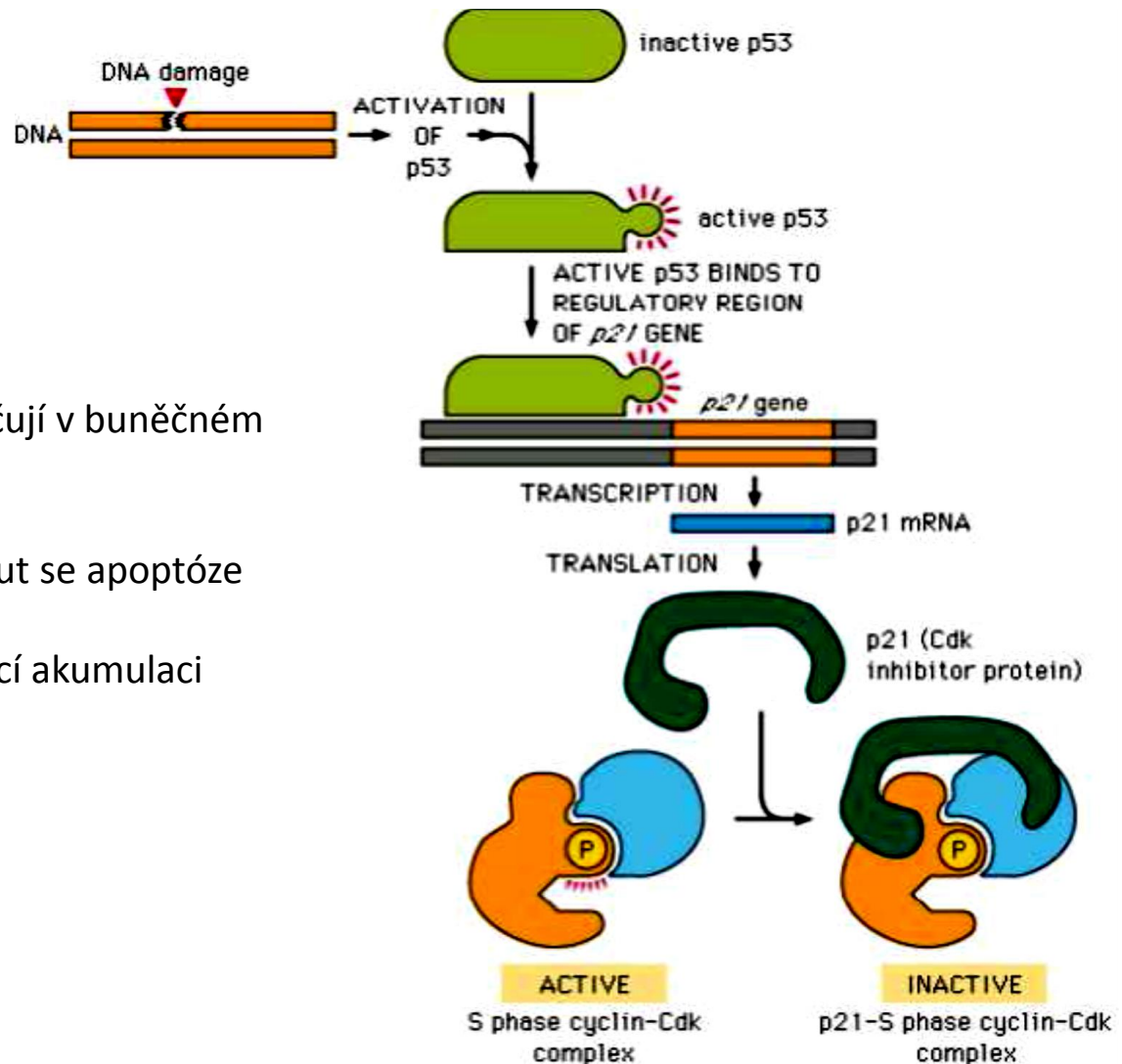
HDAC - Histon deacetylázy
HAT - Histon acetyl transferázy

potlačují expresi
aktivují expresi

HDAC1, HDAC2, HDAC3...
Gcn5, p300/CBP, PCAF, SRC-1, ACTR, ESA1, MOZ...

Tumor-supresor p53

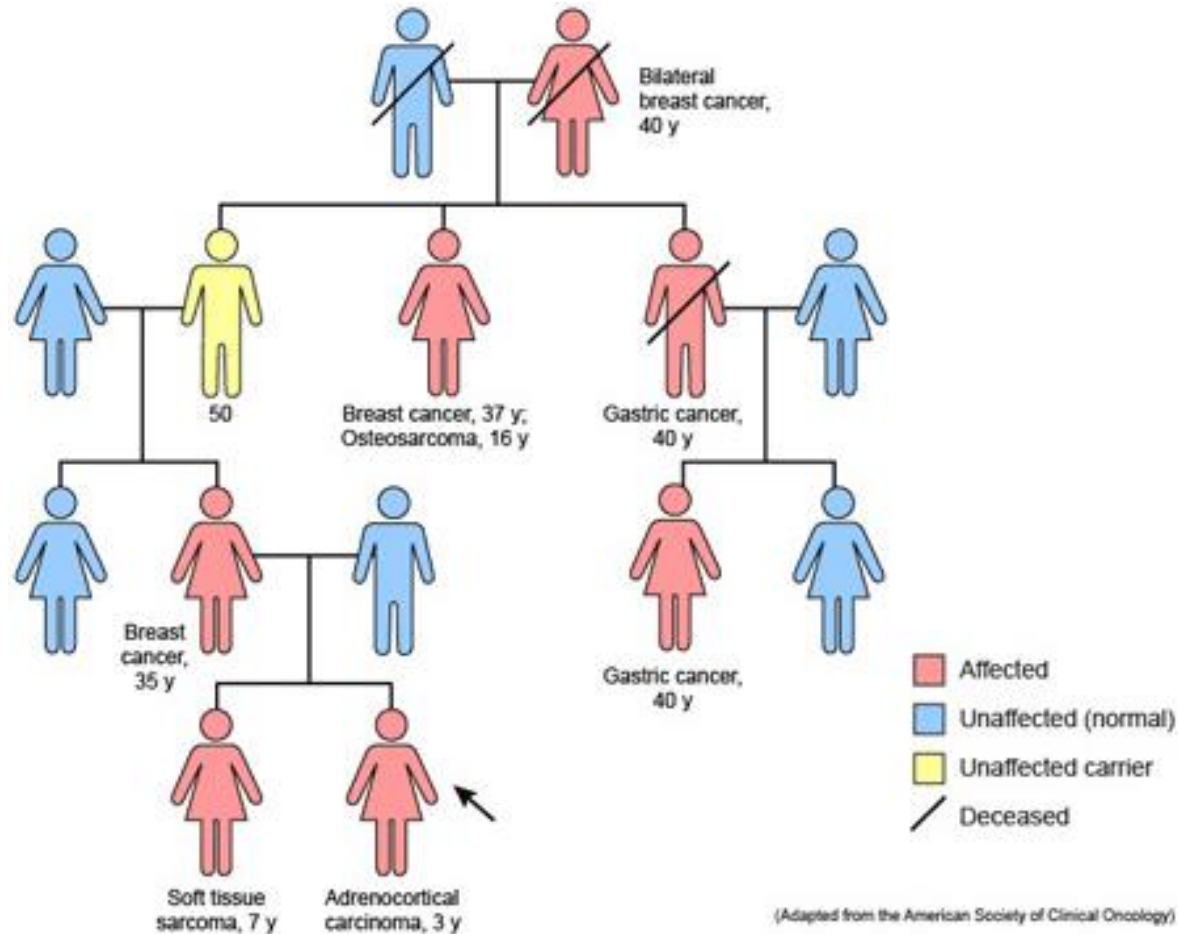
brzda vstupu do S-fáze zástava BC v G1 fázi umožňuje přestávku nutnou k opravám DNA



- 1) poškozené mutované buňky pokračují v buněčném cyklu
- 2) umožní poškozeným buňkám vyhnout se apoptóze
- 3) vznik genetické instability, umožňující akumulaci mutací

Li-Fraumeni syndrom

- Dědičné onemocnění
- Mutace nebo delece v 1 alele **genu pro p53** způsobuje dědičnou predispozici k rakovině
- V rodině zvýšený výskyt rakoviny různých tkání a v nízkém věku



Koordinace tumor-supresorů RB a p53

- dvě hlavní dráhy zajišťující buněčnou odpověď na potenciální onkogenní stimuly

- signály (např. poškození DNA, aktivace onkogenů):

1. dráha p53

Indukce ARF, které oddělí MDM2 od p53

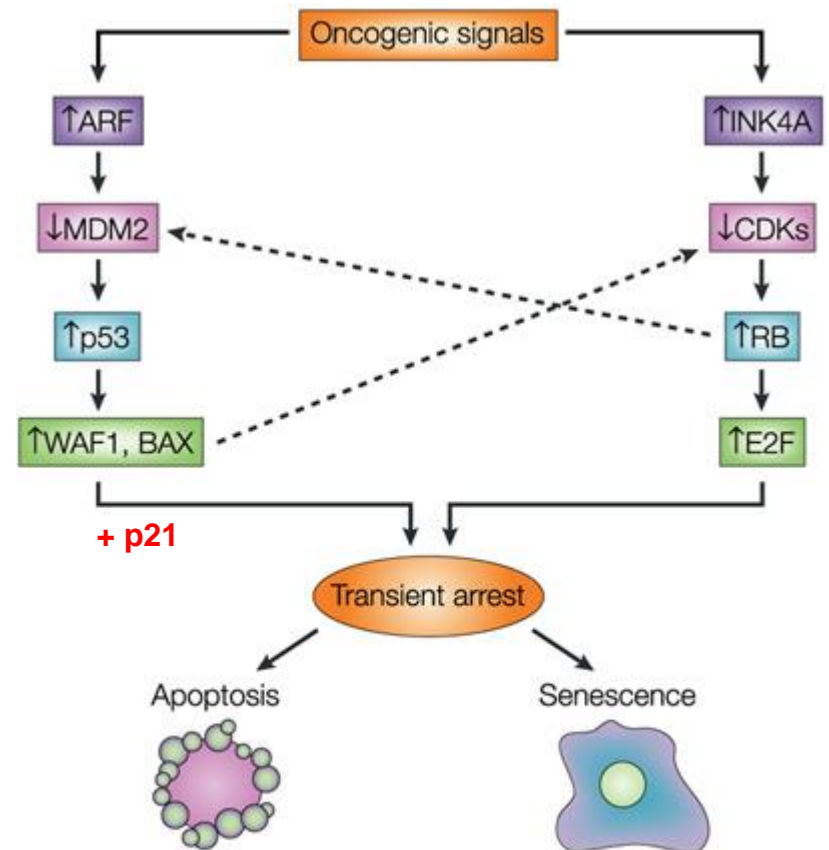
- aktivní p53 reguluje řadu genů, mj.:

- WAF1 → inhibice CDK → cell-cycle arrest
- BAX → indukce apoptozy
- p21 → inhibice CDK

2. dráha RB

Indukce INK4A → inhibice CDK (4,6) → inhibice fosforylace RB → komplex RB+E2F zastavuje cyklus

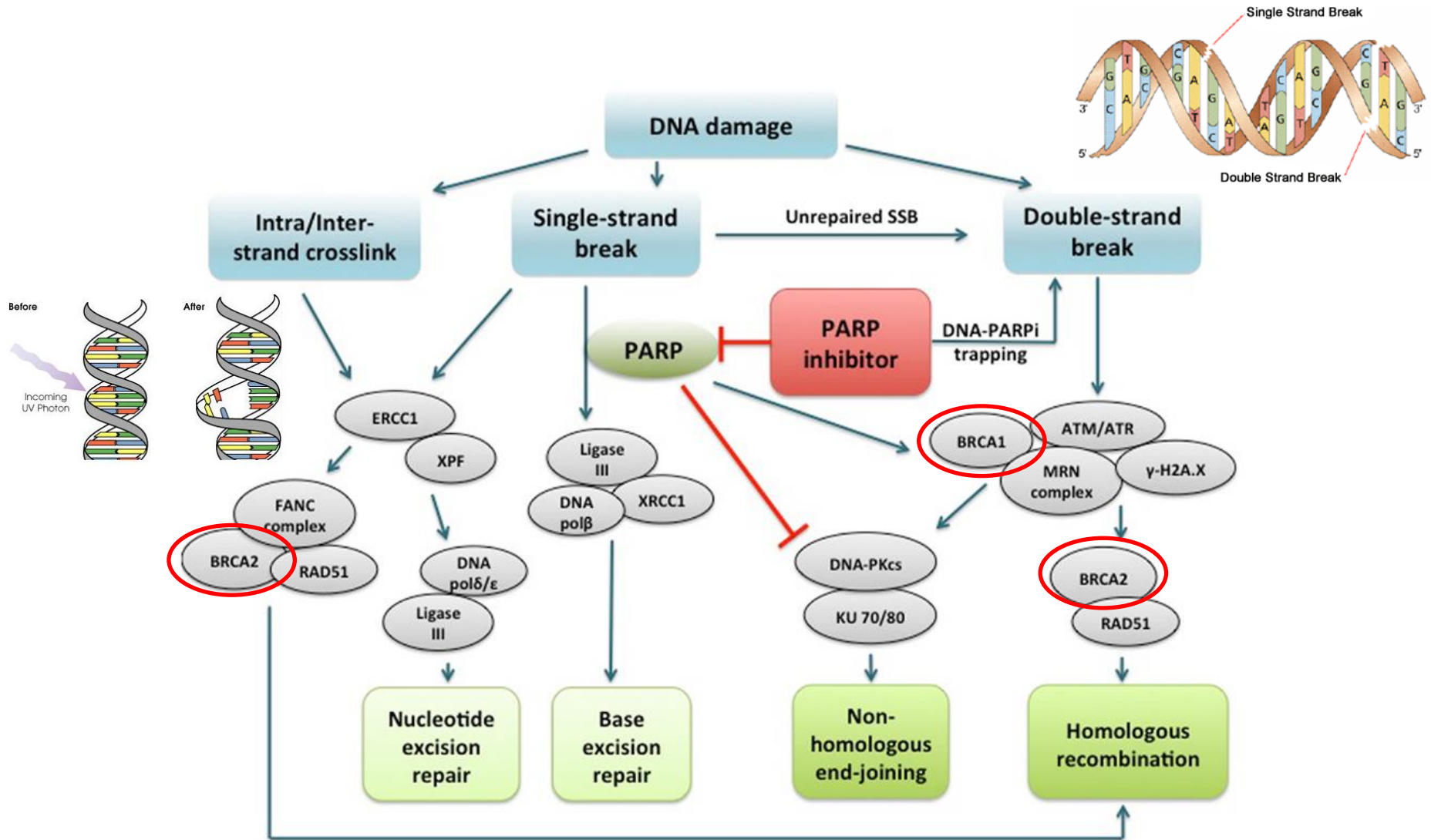
RB se též může vázat na MDM2-p53 a regulovat aktivitu p53



Tumor-supresory BRCA1 a BRCA2

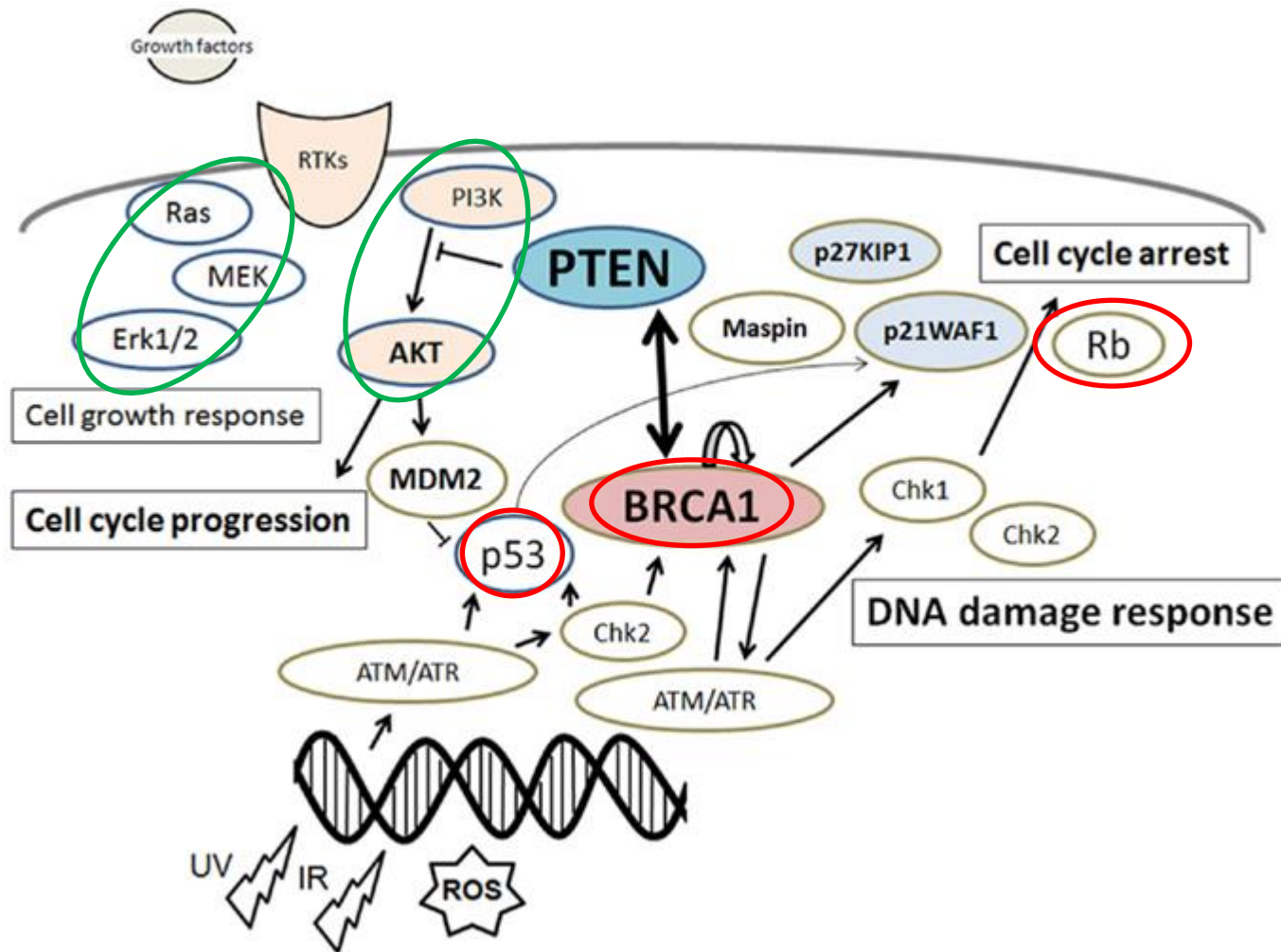
*BR*east *C*ANcer 1 a 2 geny

- pomáhá opravovat poškození DNA, zejména DSBs (dvojlzomy)



Tumor-supresory BRCA1 a BRCA2

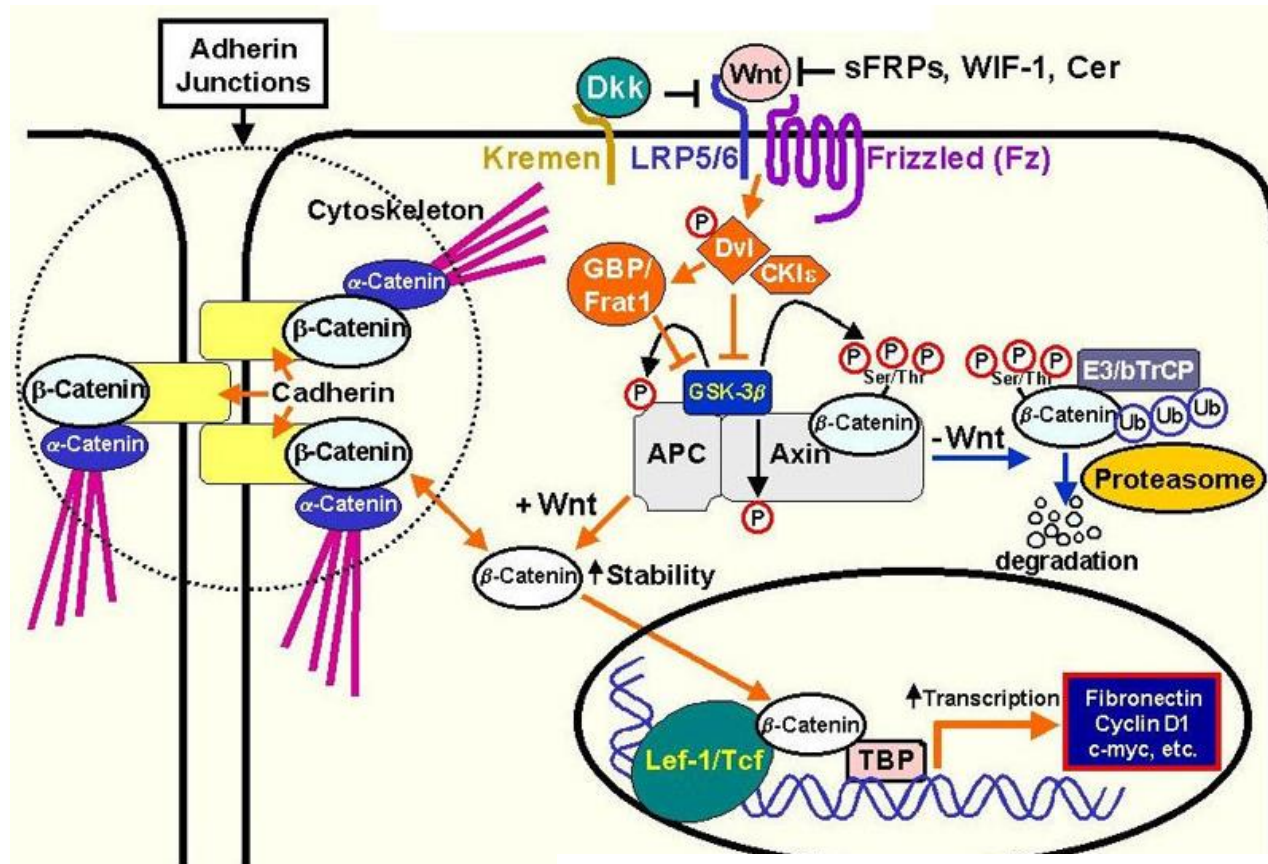
- nebezpečná mutace v BRCA zvyšuje vznik rakoviny prsu a vaječníku (ne všechny mutace jsou nebezpečné)
- Běžně existuje cca 12% šance na vznik rakoviny prsu u žen, při defektním BRCA genu (vybrané mutace) se šance zvyšuje na 60-90%
- Angelina Jolie podstoupila preventivně dvojistou mastektomii, kvůli mutaci v BRCA1 (šance na vznik rakoviny prsu odhadována na 87%). Po operaci redukce na 5% šanci.



Proto-onkogeny - signální dráha Wnt

postupná přeměna zdravé buňky tlustého střeva v nádorovou

1. Ztráta nádorového supresoru **APC** → stabilizace **β-kateninu** → **tvorba polypa**
 - a) změna transkripce (zvýšená transkripce genů podporujících proliferaci: cyclin D, c-myc...)
 - b) zvýšení adheze buněk (β-katenin spojuje E-kadherin a α-katenin)
2. "Gain-of-function" mutace **Ras** → **benigní adenom**
3. "Loss-of-function" mutace **p53** → **karcinom**



Nádory tlustého střeva:

p53 mutace v 70%

APC mutace v 70%

APC je negativní regulátor β-kateninu

Proto-onkogeny - receptory pro růstové faktory (GFR)

1. Konstitutivní aktivita

- vykazují kinázovou aktivitu i bez přítomnosti ligandu

2. Overexprese

- zmnožení počtu receptorů

EGFR

- karcinom prsu, žaludku, kolorekta

Her2

- karcinom prsu

c-Kit

- role v hematopoéze

- fyziologicky exprimován hl. na nezralých krevních progenitorech

- rakovina kůže

Léčba **protilátkami** nebo **tyrosin-kinázovými inhibitory** nebo **CAR-T**

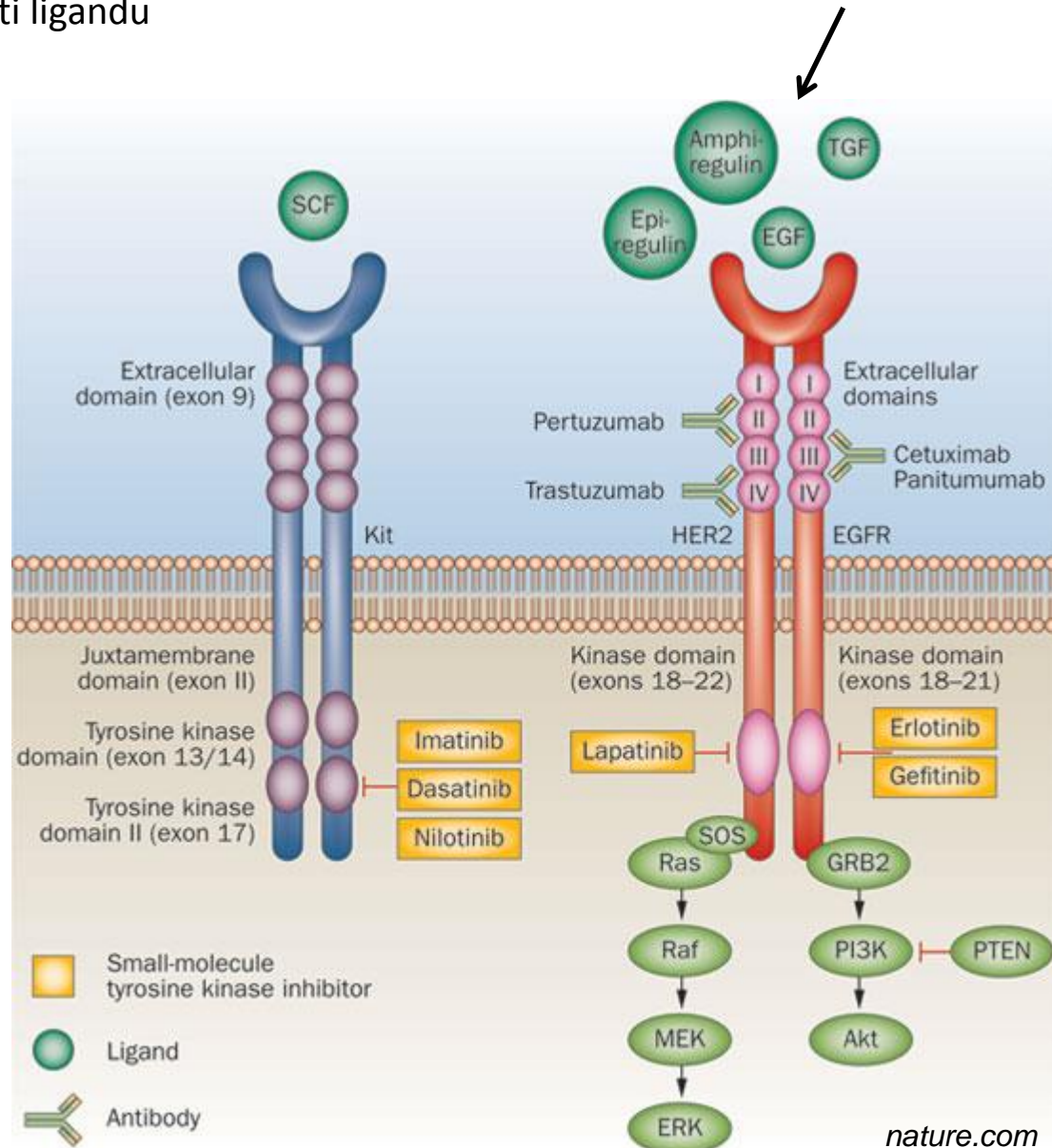
Diagnostika receptorů může predikovat léčebnou odpověď

- *SCF - stem cell factor; steel factor*

- *Trastuzumab = Herceptin*

- *Epidermal growth factor receptor (EGFR; ErbB-1; HER1)*

členové rodiny EGF proteinů



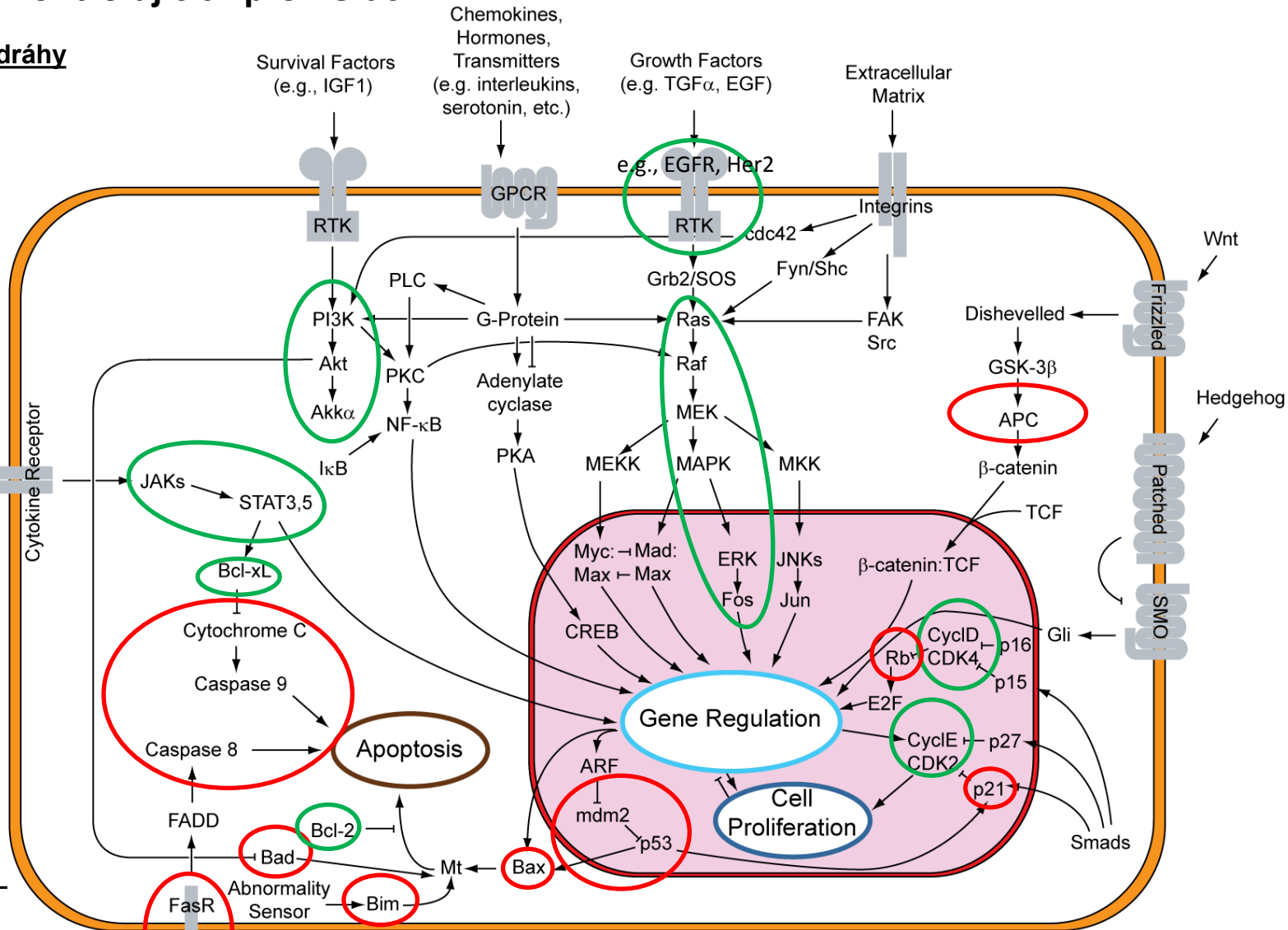
Přehled faktorů kontrolujících proliferaci

Hlavní pro-růstové dráhy

- Ras - MEK - ERK
- PI3K - AKT
- JAK - STAT
- CDK + cykliny

Hlavní proti-růstové mechanismy

- Fas ligand + receptor
- Kaspázy
- Cytochrom C
- p53 a p21
- Retinoblastoma
- APC



BCL2 proteinová rodina

reguluje propustnost vnější mitochondriální membrány a tím řídí apoptozu

- a) pro-apoptotické: Bax, Bim, Bad...
- b) anti-apoptotické: Bcl-2, Bcl-xL...

Karcinogeny

Faktory, které způsobují nebo napomáhají karcinogenezi

1. Fyzikální karcinogeny

Zvýšený výskyt karcinomů a leukemií u:

- přeživších po výbuchu atomové elektrárny v Černobylu
- přeživších po útocích atomovou bombou na Hirošimu a Nagasaki
- horníků uranových dolů



vliv UV záření na vznik nádorů kůže

- UV paprsky excitují pyrimidinové báze DNA, které pak reagují navzájem a vytváří pyrimidinové dimery
- faktor podporující vznik a vývoj nádorů - defekty genů jejichž produkty působí jako nádorové supresory, např nefunkční p53

2. Chemické karcinogeny

Anorganické karcinogeny:

azbest, chrom (6+)

Organické karcinogeny:

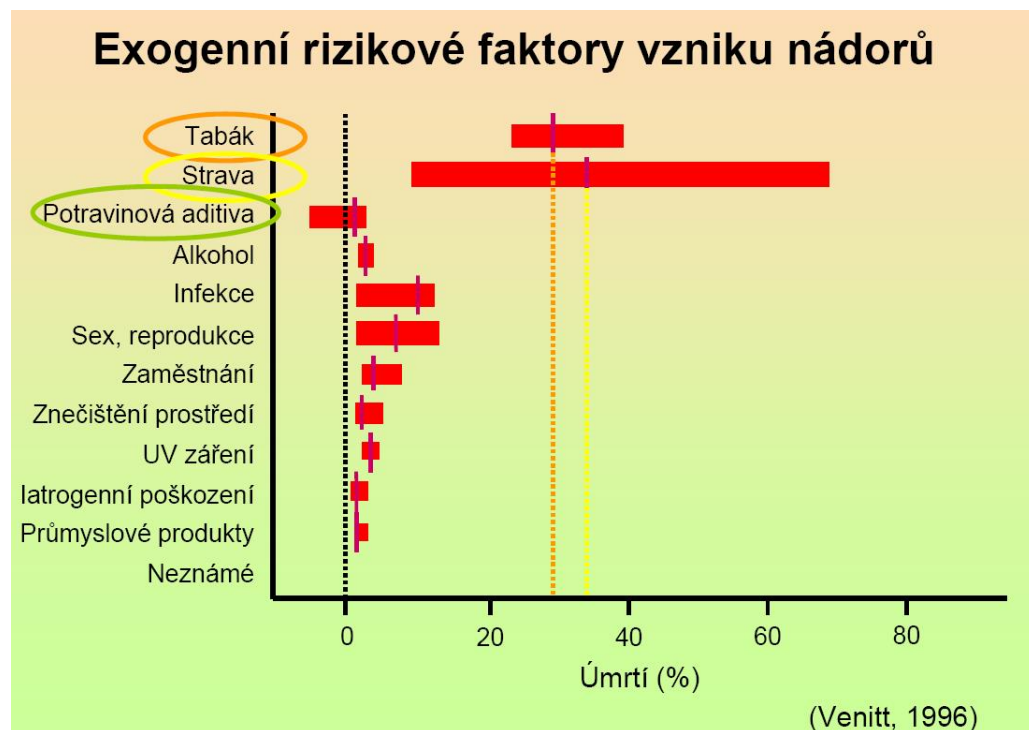
- Polychlorované bifenyly (barvy/laky)
- Dioxiny (produkty spalování organických látek)
- Benzen (rozpouštědla, motorové splodiny)

Léčiva:

- Chemoterapeutika
- Imunosupresiva
- Antibiotika (např. Chloramphenicol je potencionální karcinogen)

Strava:

- heterocyklické aminy
vznikají v potravinách nevhodnou úpravou
např. smažení
- nitrosaminy
vznikají v těle z dusičnanů přidávaných
např. do uzenin

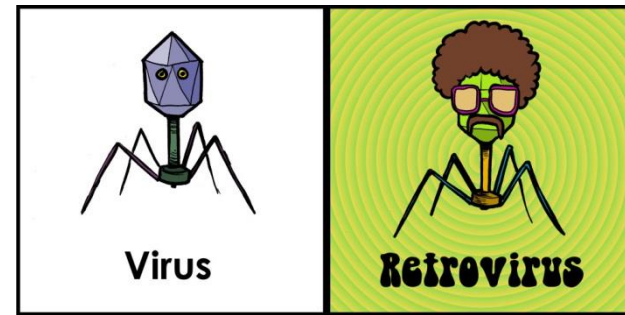


3. Biologické karcinogeny: onkogenní (nádorové) viry

a) Retroviry (RNA viry):

Jednořetězcová RNA – využívá reverzní transkripci

- obsahují ve svém genomu onkogen (akutně transformující viry)
- nebo aktivují protoonkogen, vedle kterého se integrovaly (pomalu transformující)



Oncoviry

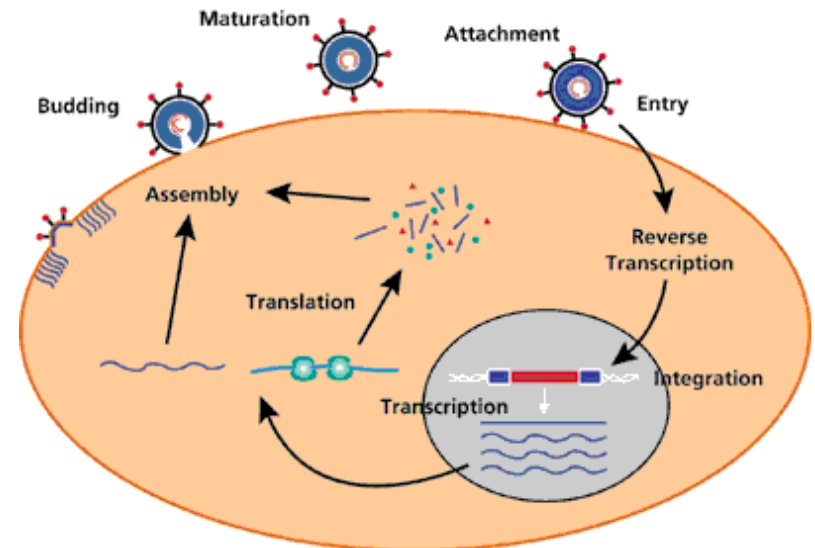
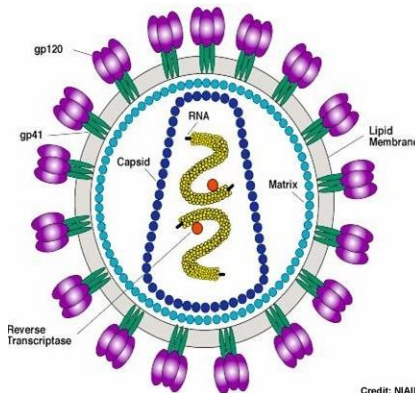
lidský lymfotropní virus typu I (HTLV-1)

- T-leukemie (lymfom) dospělých (ATLL), doba latence asi 30 let
- vysoká proliferační aktivita napadených buněk, větší pravděpodobnost mutací

Lentiviry

viry HIV-1 a HIV-2

nádory spojené s jejich infekcí - lymfomy a sarkomy



3. Biologické karcinogeny: onkogenní (nádorové) viry

b) DNA nádorové viry

- neobsahují onkogeny, ale kódují proteiny, které interagují s tumor-supresory hostitelské buňky
- tlačí hostitelskou buňku do S fáze → zrychlení buněčného cyklu

Inaktivace p53 patří ke klíčovým událostem při transformaci buňky DNA viry

Virus hepatitidy B (HBV)

- chronická infekce - integrace do chromozomu
- hepatocelulární karcinom (HCC) – až 20-30 let po infekci

Herpes viry - EB (Epstein Barrové virus)

- v jádře buňky v epizomálním stavu (extrachromosomální)
- Lymfomy a karcinomy

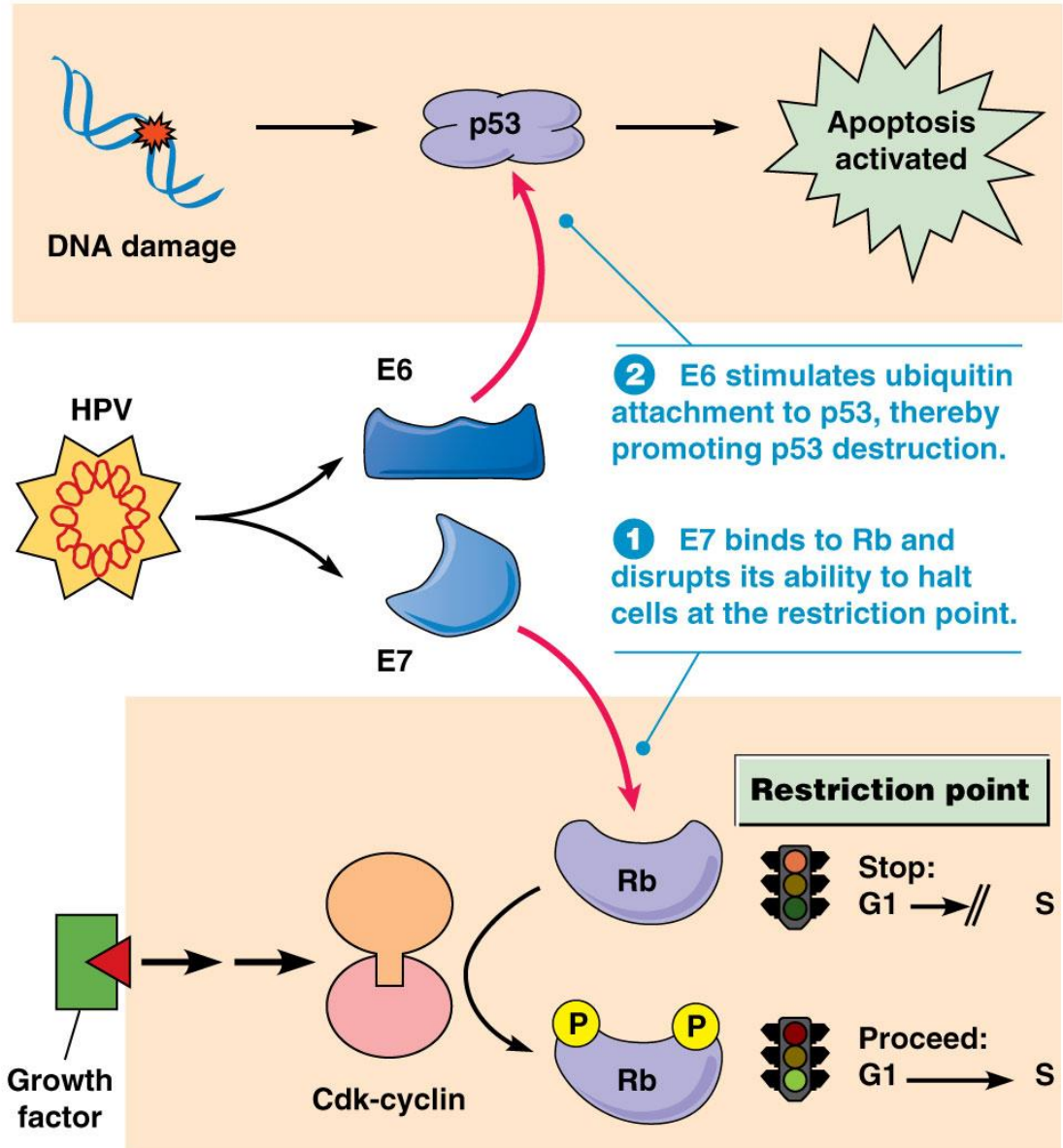
Papilomaviry (HPV xx)

- způsobuje rakovinu děložního čípku
- v benigních nádorech – ve formě episomů, v maligních integrace do genomu
- popsáno asi 100 odlišných typů papilomavirů - dělí se na „high-risk“ a „low-risk“ typy podle prognózy

Lidský papiloma virus ovlivňuje RB a p53

- virus produkuje **proteiny**,
které inhibují tumorsupresory:

- E6 → p53
- E7 → RB



Amesův test

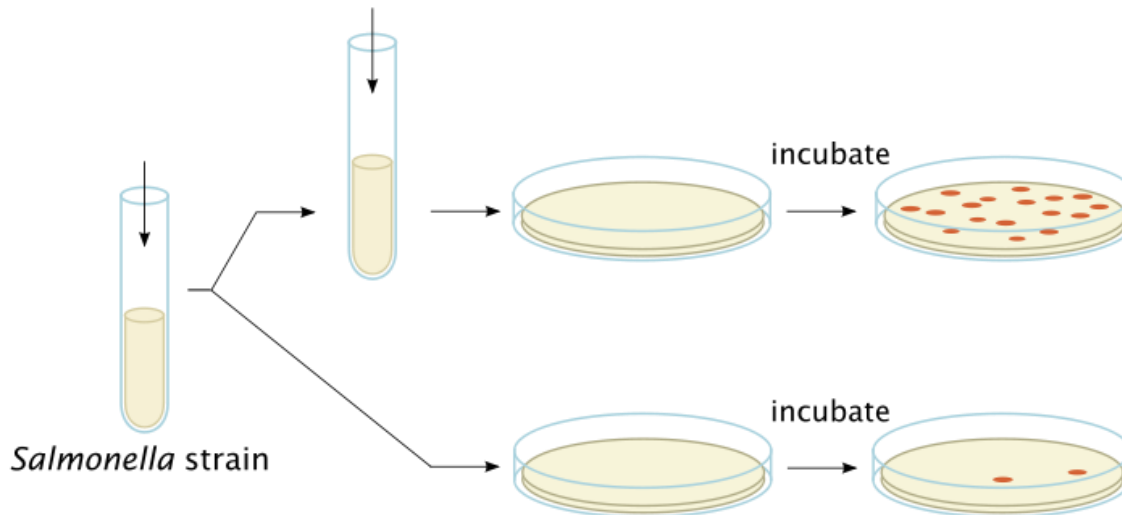
Základní test na stanovení mutagenního potenciálu chemických sloučenin

- rakovina bývá spjata s mutacemi, proto látky způsobující mutace jsou pravděpodobně též karcinogenní
- testování na myších je časově náročné (2-3 roky) a nákladné
- roku 1970 vynalezl **Bruce Ames** jednoduchý test na určení mutagenicity



Bruce Ames

Princip Amesova testu ???



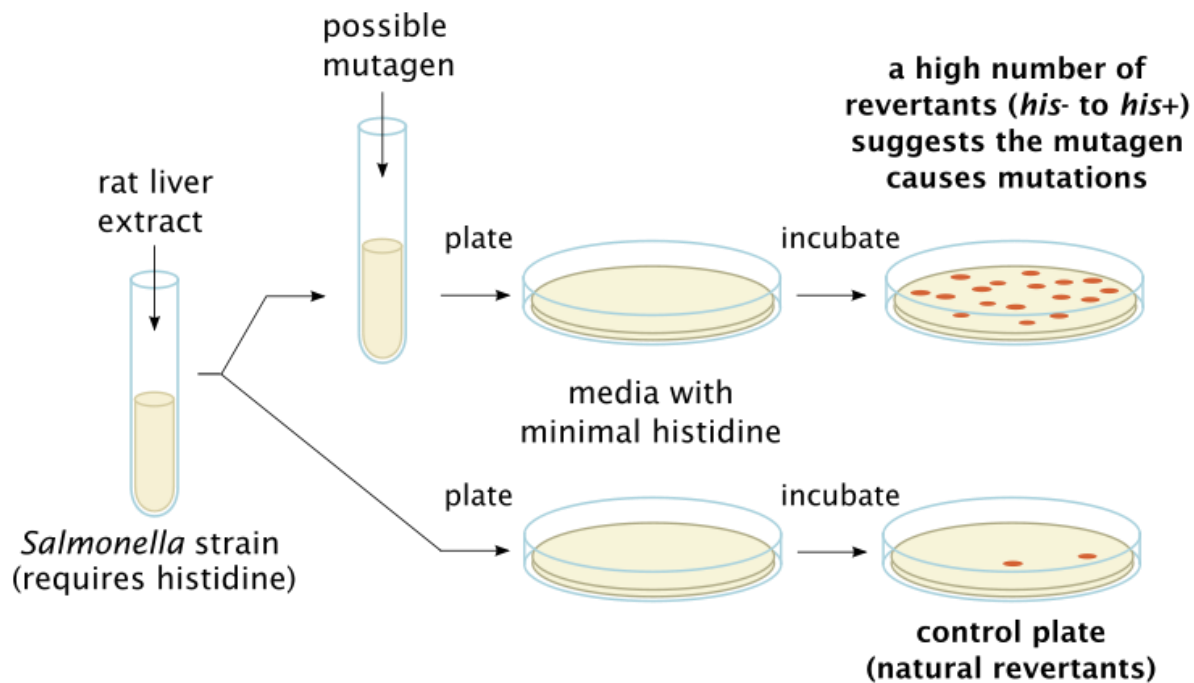
Amesův test

Základní test na stanovení mutagenního potenciálu chemických sloučenin

- rakovina bývá spjata s mutacemi, proto látky způsobující mutace jsou pravděpodobně též karcinogenní
- testování na myších je časově náročné (2-3 roky) a nákladné
- roku 1970 vynalezl **Bruce Ames** jednoduchý test na určení mutagenicity



Bruce Ames



- bakterie *Salmonella typhimurium*
- auxotrofní mutant

- vyžadují histidin pro růst, ale neumí jej syntetizovat kvůli mutaci v genu pro jeho syntézu

- přirozeně se vyskytnou mutace a vyskočí kolonie s funkčním genem pro histidin

- čím karcinogennější látka - tím více mutací - více kolonií

- extrakt z jater se přidává pro zachycení mutagenicity metabolitů testované látky

- např. benzo[a]pyren, není sám o sobě mutagení ale metabolity ano

Léčba rakoviny

1. Konvenční chemoterapeutika

cíl proliferující buňky, nespecifická, vždy stejné % proliferujících buněk

Cíle:

- poškodit DNA nádoru
- zástava proliferace
- apoptóza indukci p53 nebo masivní damage (p53 nezávislé)

nádor více náchylný na obecné pro-apoptotické stimuly (genotox. látky, mitot. jedy, antimetabolity)

Nevýhody: ohromné vedlejší účinky (likvidace zdravých tkání - může vést až ke vzniku sekundární rakoviny)

2. Cílená terapie

selektivní pro nádorové buňky (specifické pro určitý buněčný proces), nízká toxicita k zdravým b.

Nevýhody:

- není 100% specifická pro danou molekulu
- cílová molekula větš. plní i fyziologickou funkci (část. výjimka fúzní gen)
- nutná identifikace molekulární podstaty - individualizovaná medicína (tailored medicine)

V onkologii cytostatická chemoterapie = podávání léků s cytotoxickým účinkem (syntetické či z rostlin/plísní)

cytostatikum: látka tlumící růst a rozmnožování buněk zejm. nádorových tkání

Mechanismy působení konvenčních cytostatik

1. Alkylační látky

- atakují negativní náboj DNA a způsobují zlomy v DNA - zabraňují replikaci
- mohou indukovat vznik sekundárních leukemií

- *Chlorambucil (lymfomy, CLL)*
- *Cyklofosfamid - nejpoužívanější*
- *Busulfan - předtransplantační myeloablace, CML*
- *Cisplatina - DNA damage, interkalace, aktivní intracelulárně, nefrotoxicita*

2. Antimetabolity

- zasahují do syntézy nukleových kyselin
- cílí hlavně na proliferující buňky

- *Metotrexát - blok syntézy purinu inhibicí dihydrofolátreduktázy (osteosarkom)*
- *Fludarabin - blok purinů - substituce adenosinu - fragmentace DNA, (AML, CLL)*
- *5-fluoruracil - integrace do RNA*
- *Hydroxyurea - blok ribonukleotidreduktázy, inhibice pyrimidinu, CML*

Mechanismy působení konvenčních cytostatik

3. Protinádorová antibiotika*

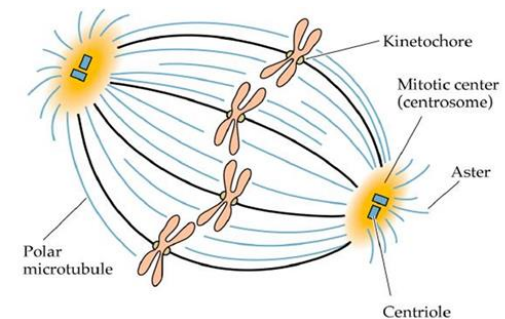
- *Doxorubicin*
 - *interkaluje mezi řetězce DNA*
 - *indukuje vznik volných radikálů*
 - *blokuje topoizomerázu II*



4. Rostlinné alkaloidy

blokují tvorbu vřeténka vazbou na mikrotubuly

- *Vinca alkaloidy (z Vinca rosea; barvínek růžový) - depolymerizace mikrotubulů - rozpad vřeténka,*
Kamptotecin - blok topoizomerázy I
- *Taxány - (jehličí tisu - Taxus), Paklitaxel - blok depolymerizace mikrotubulů (karcinom prsu,*
vaječníku)



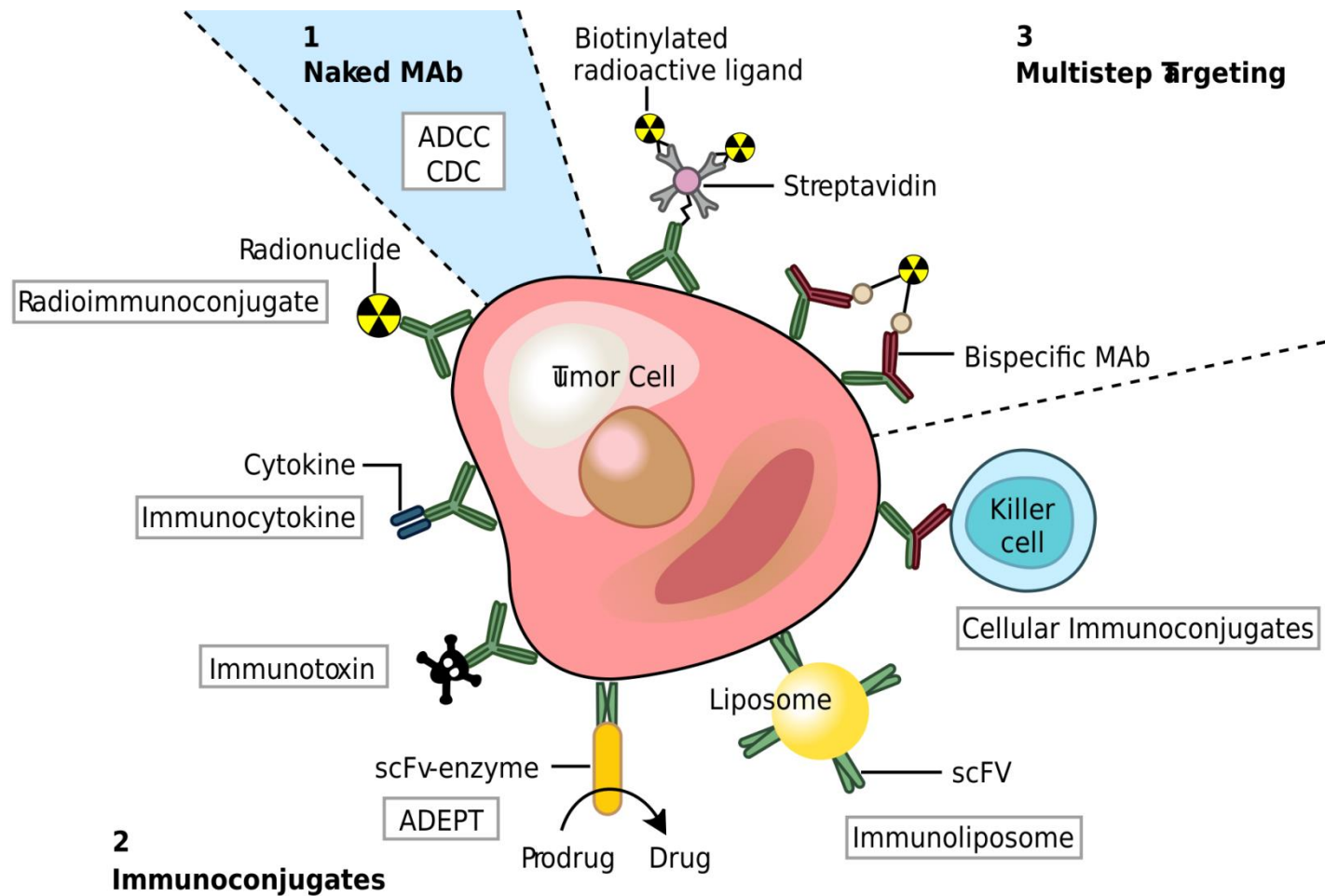
**protinádorová antibiotika v tomto kontextu neoznačují antibaktriální látky
topoizomeráza: rozmotává DNA při replikaci*

Cílená terapie - příklady

Monoklonální protilátky

- specifické protilátky (Ab) proti vybraným antigenům na povrchu buněk

- a) **Naked:** po navázání mohou blokovat daný receptor, nebo aktivovat buňky imunitního systému
- b) **Konjugované:** s toxinem, radioizotopem, cytokinem

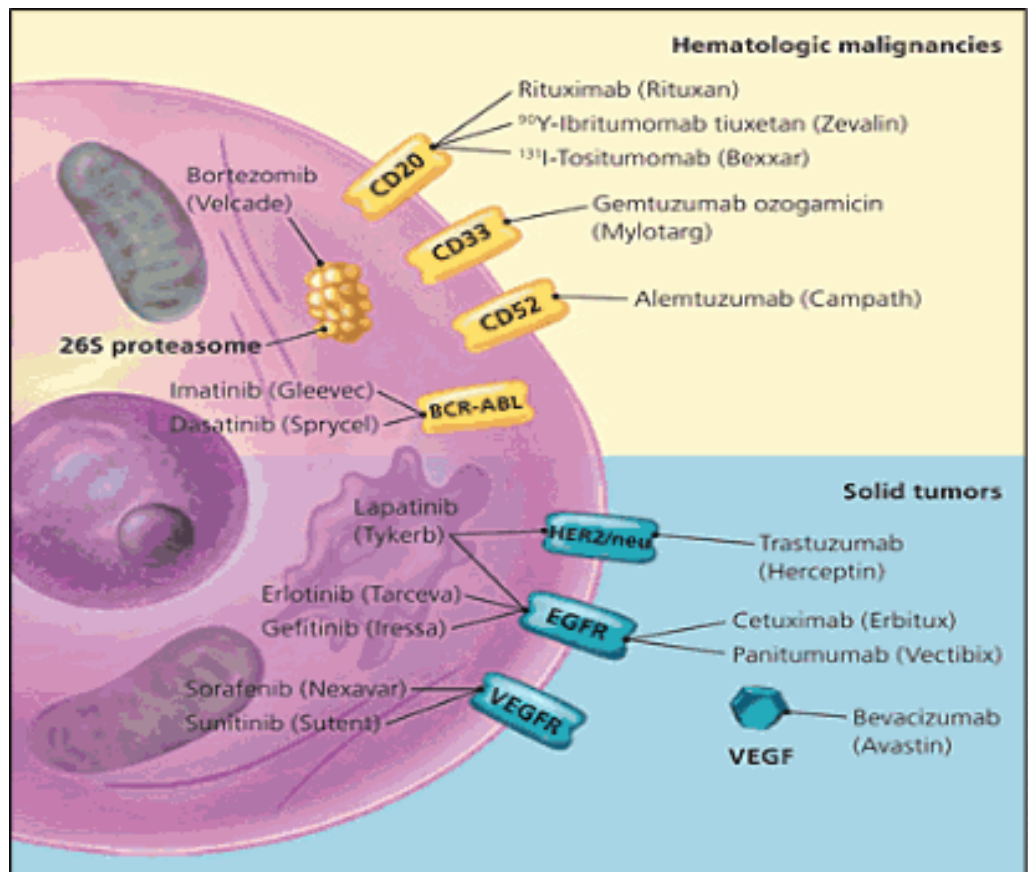


MAB - monoclonal antibody
ADCC - antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity
CDC - complement-dependent cytotoxicity

Cílená terapie - příklady

Monoklonální protilátky

- *Herceptin - anti-HER-2 (rak prsu 30% amplifikace genu pro receptor HER-2)*
- *Rituximab - anti-CD20, maligní B-lymfomy, B-lymf. CLL, folikulární lymfom*
- *Gemtuzimab - anti-CD33 (na větš. leuk. b.), AML, konjugace s ATB colcheamicinem*
- *Cetuximab - anti-EGFR, konjugace s toxinem, internalizace do buňky, kolorektální karc.*



Dalším příkladem cílené terapie je terapie pomocí CART (viz. lekce 11). Monoklonální protilátky nejsou volné ale na povrchu CAR T-lymfocytů.

Cílená terapie - příklady

Tyrozín kinázové inhibitory (TKIs)

- obsazení ATP vazebného místa
- vysoká strukturní variabilita umožňuje specifickou vazbu
- nevedou k úplnému vyléčení :(
 - *Gefitinib* - karc. plic, ledvin, solidní tumory
 - *Erlotinib* - karc. vaječníku
 - *Imatinib, Dasatinib, Nilotinib* - léčba CML

Farnezyltransferázové inhibitory (FTIs)

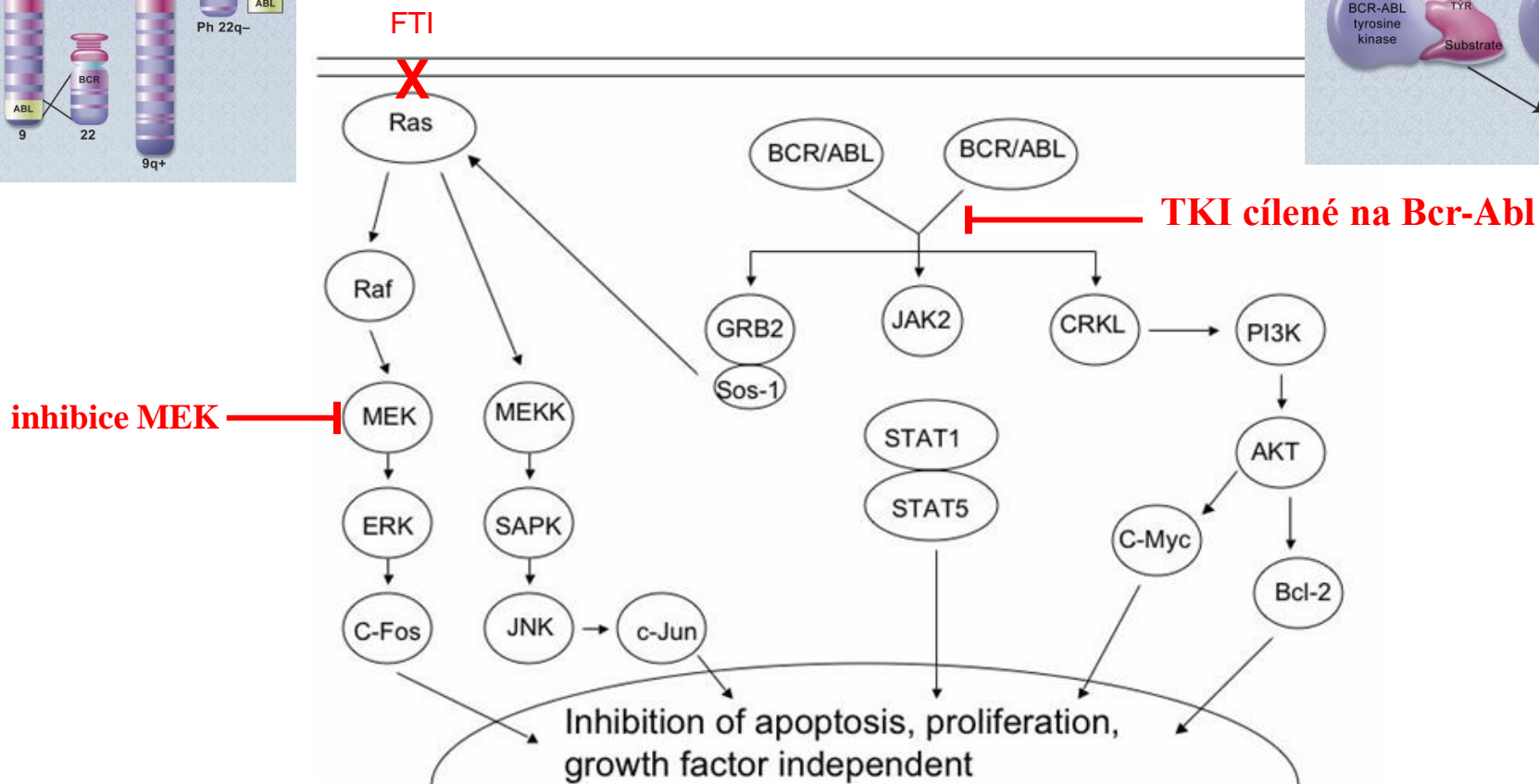
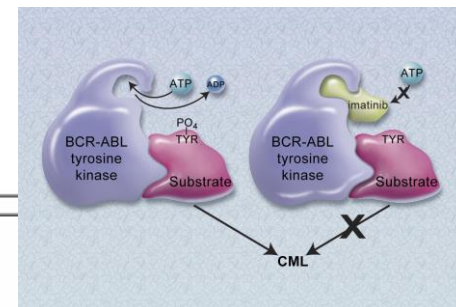
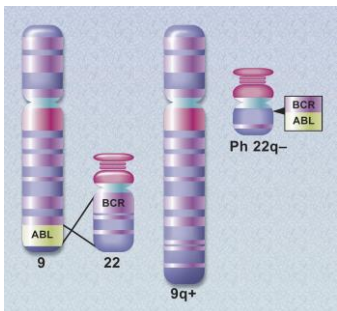
inhibice funkce Ras (trvale zapnutý v nádorech)

- *Lonafarnib, Tipifarnib, BMS-214662*

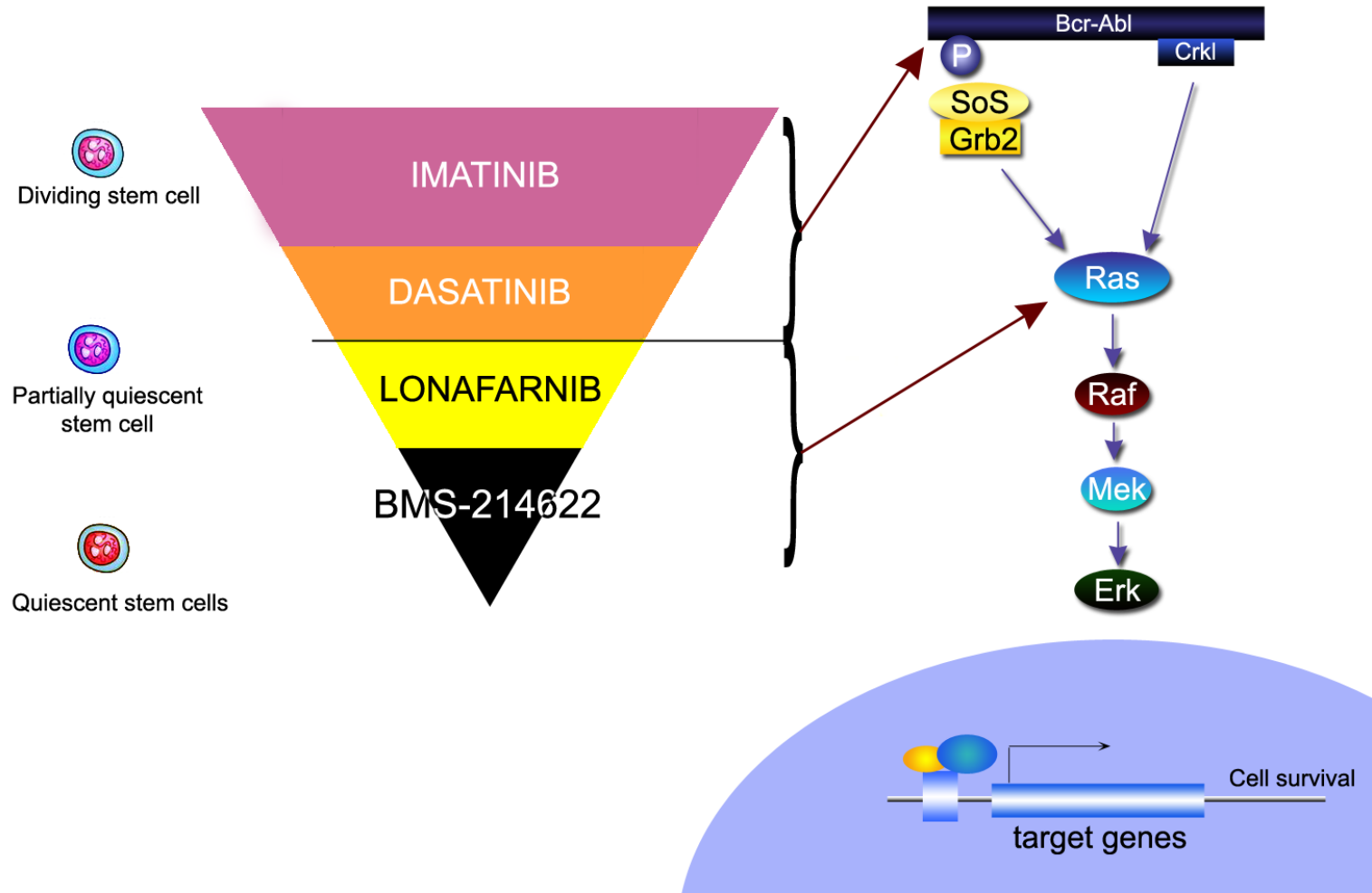
Cílená terapie Chronické Myeloidní Leukemie (CML)

Over-exprese tyrozinkinázy Bcr-Abl v CML způsobuje:

- cytokin-independentní přežití a růst buňky, prokázána onkogenní adikce
- chrání buňku před apoptózou v odpovědi na růstové faktory nebo poškození DNA *



Cílená terapie CML



Quiescentní kmenová buňka zodpovědná za relaps

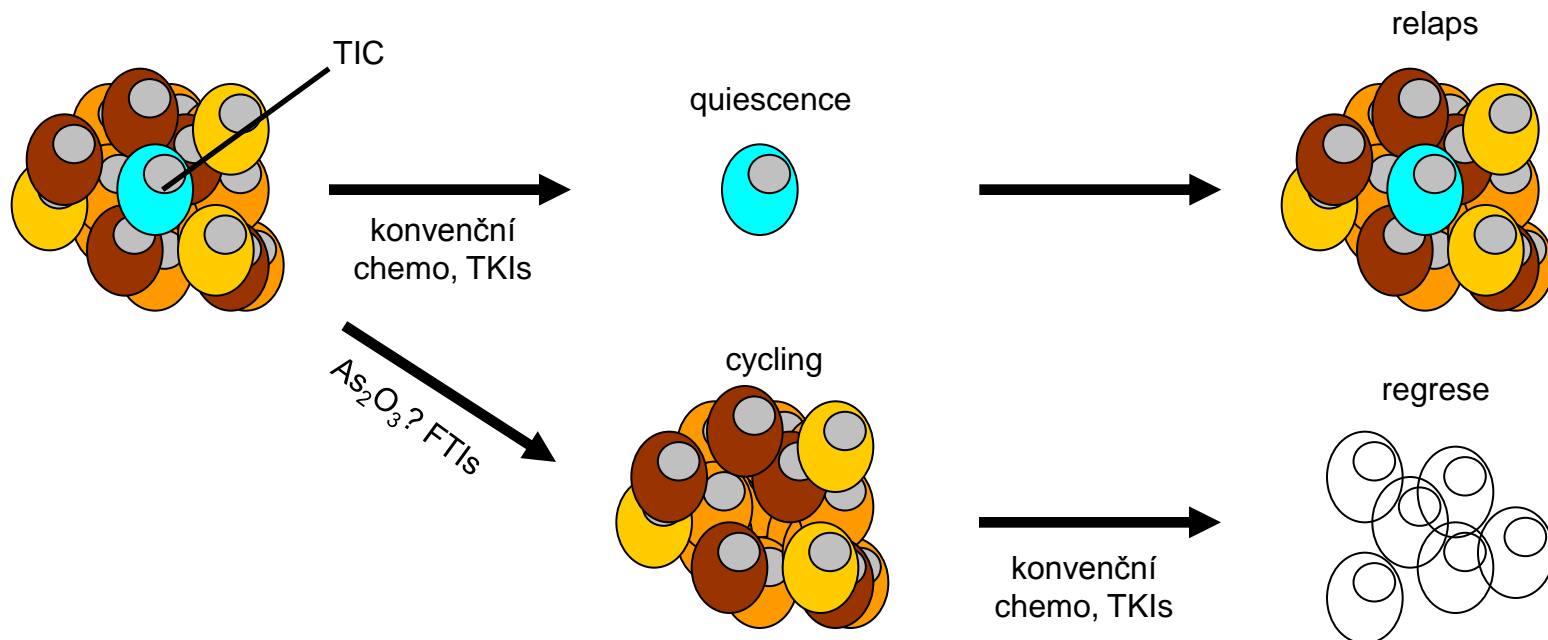
Indukce vstupu quiescentní kmenové buňky do b. cyklu

V kombinaci s konvenční chemoterapií

Oxid arsenitý (As_2O_3 , arsenic trioxide, 1865 Fowler solution)

- reversibilně snižuje expresi PML proteinu (growth arrest skrze represi mTOR) → indukuje LIC buňky ke vstupu do cell cycle, bez vyvolání apoptózy
- léčba PML a CML

cílení na quiescentní leukemické buňky může být užitečnější než na proliferující b.



Vybrané mutace v nádorových onemocněních:

Ras	- 25% všech nádorů
aktiv telomeráza	- 90% nádorů
K-Ras	- 80% karcinom pankreatu
p53	- nejčastěji inaktivovaný v nádorech - různé nádory, Li-Fraumeni
p16	- melanom
Rb	- retinoblastom
t(8;14) aktiv Myc	- B-cell CLL, ALL, Burkittův lymfom
N-Myc amplif.	- 30% neuroblastom
β-katenin (WNT)	- kolorektální karcinom (mutovaný katenin necitlivý k APC, transkripce genů cc)
TGF-β, SMAD4	- rezistence k antiprolif signálům
Fas receptor	- nádor
Bax	- nádory trávicího traktu a leukemie
Bcl-2 translokace	- folikulární lymfom
loss chr10, inakt PTEN	- glioblastom
zisk chr7, dupl MET	- karcinom ledvin
t(9;22) Bcr-Abl	- CML, ALL (30%), vzácně AML
transl. RAR	- akutní PML
autocrinní TGF	- sarkom
autocrinní PDGF	- glioblastom
overexpr EGFR/ERBB	- karcinom prsu, žaludku, kolorekta
overexpr HER2	- karcinom prsu (predikce - herceptin Ab proti receptoru HER2)
PML/RARA	- váže histondeacetylázy, které znemožní transkripci ATRA cílových genů

Markery: CD19, CD20, CD30, CD33, CD52, CD90