

# Molekulární biologie

## 12. 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 Univerzita 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

*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

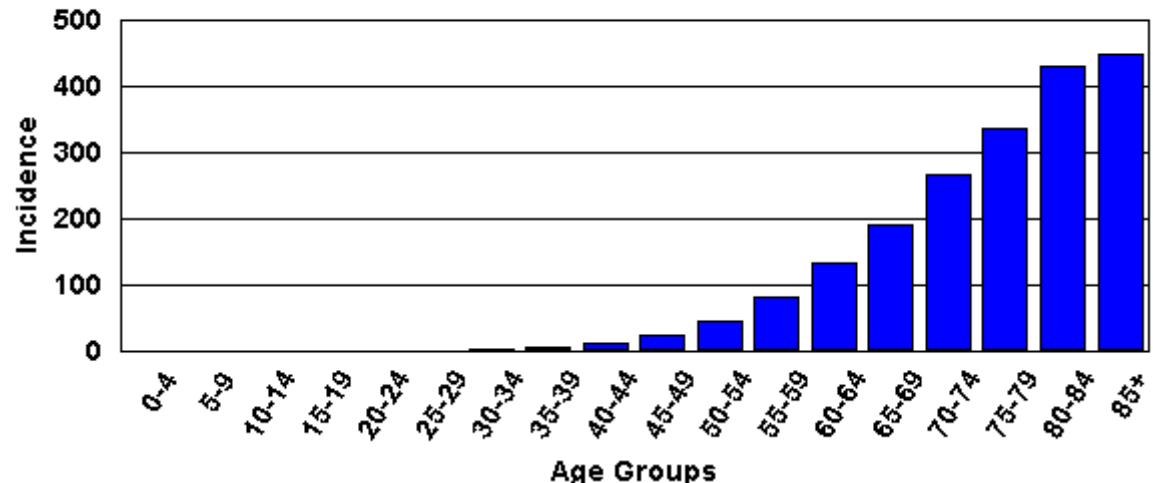
## **Nádor** (tumor, neoplazma, novotvar)

- 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

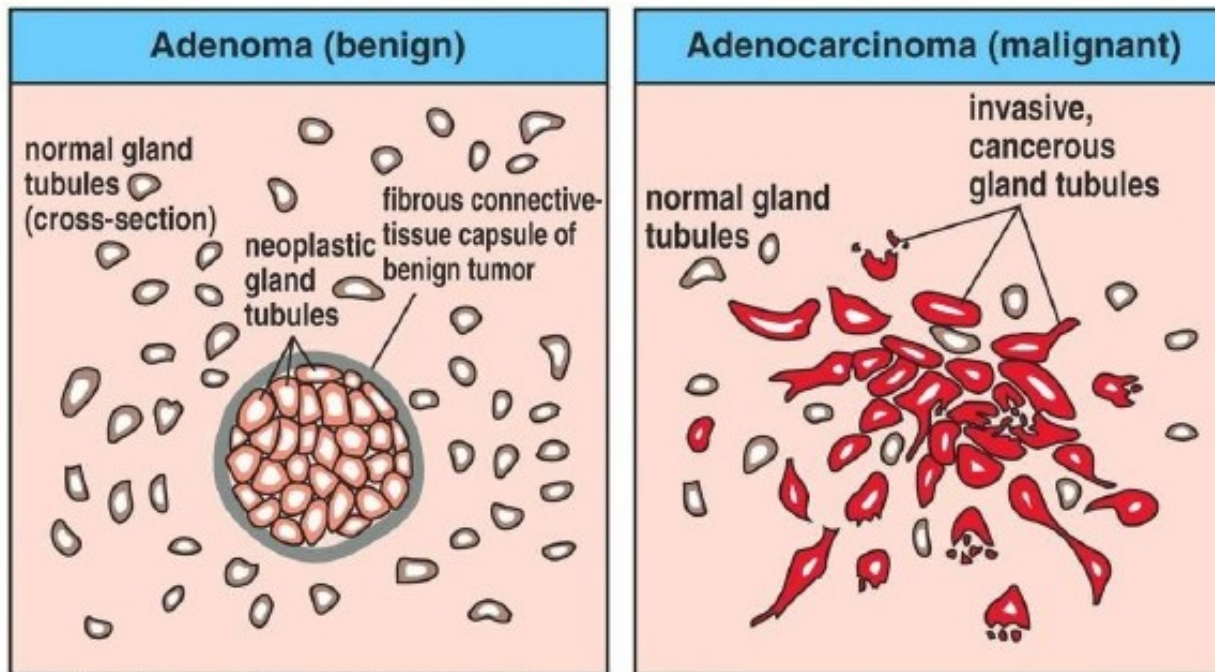


Figure 12-35 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

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

# Rakovina

## Typy

### 1. (Adeno) Karcinomy

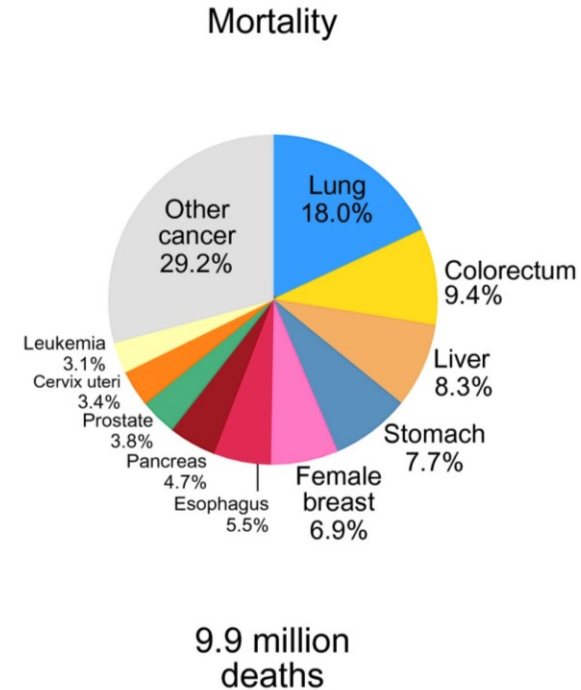
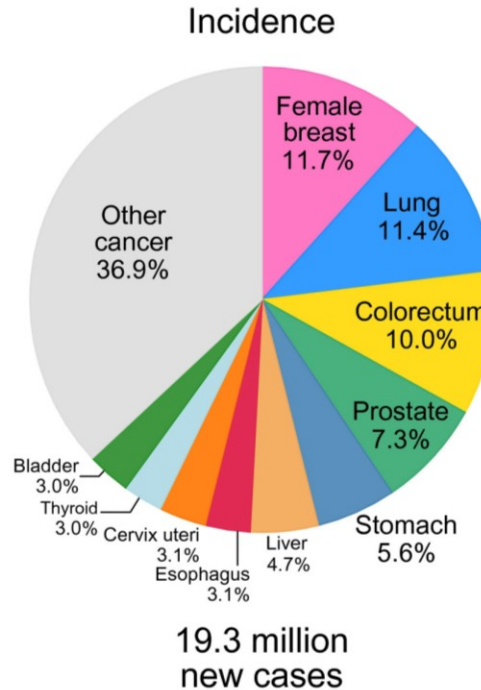
- z epiteliálních buněk
- 90 % všech rakovin
- např. kůže, játra, slinivka, štítná žláza, plíce, prsa, prostata, tlusté střevo, vaječníky, ledviny...

### 2. Sarkomy

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

### 3. Krevní a lymfatické

- nevyskytují se jako pevné útvary
- lymfomy a leukémie

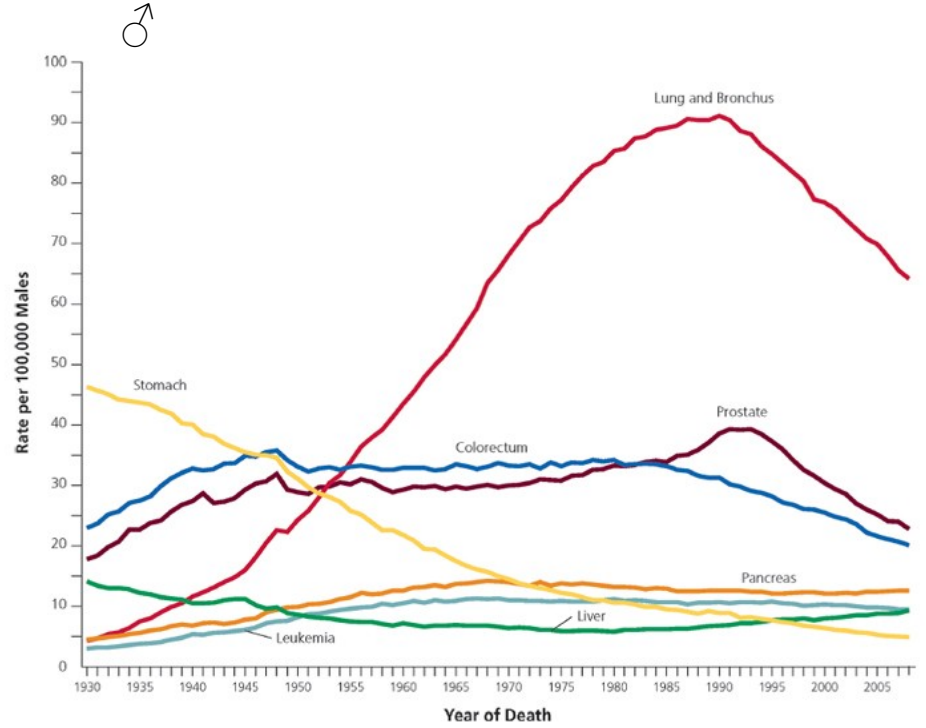
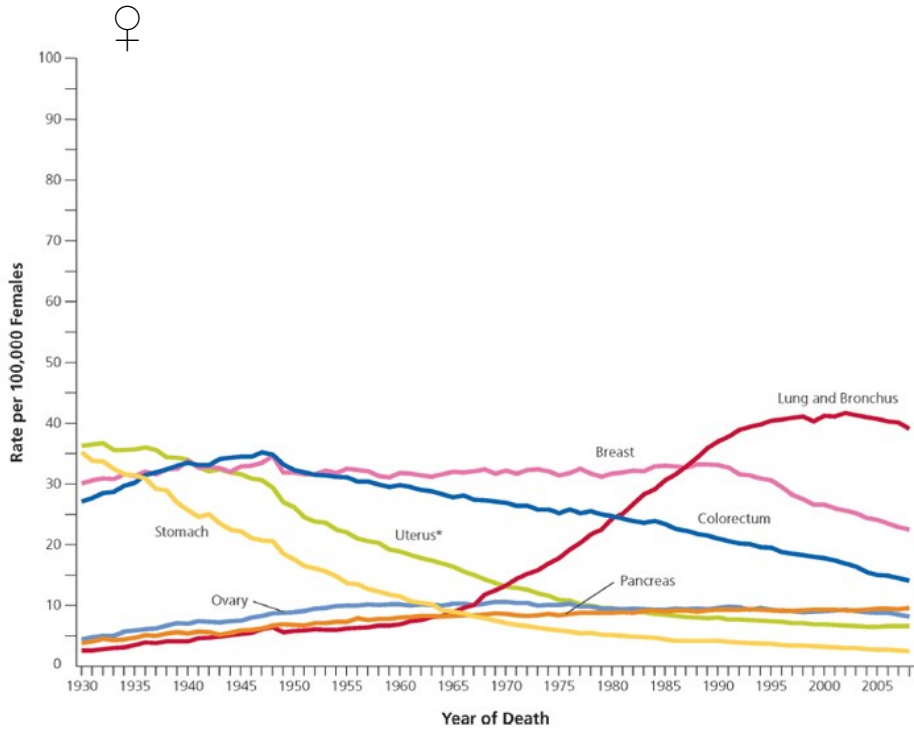


Distribution of Cases and Deaths for the Top 10 Most Common Cancers in 2020, GLOBOCAN 2020.

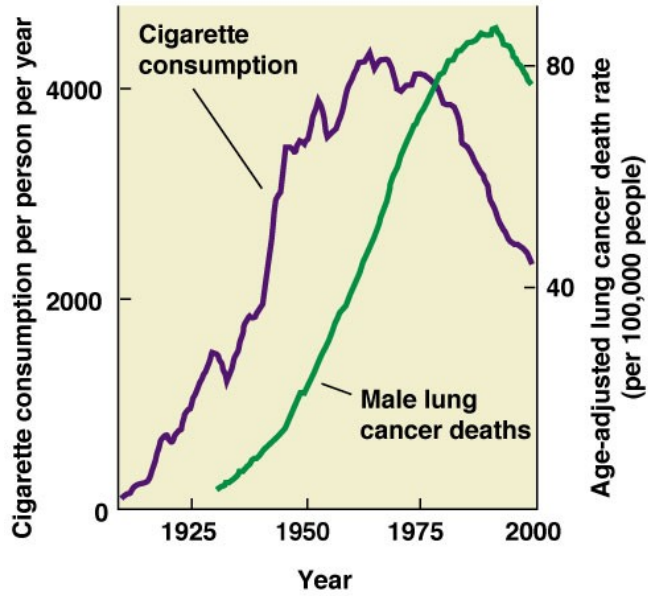
**Epitel** kryje vnější nebo vnitřní povrchy organismu a má žláзовou funkci. Fylogeneticky nejstarší typ tkáně. Vzniká ze všech 3 zárodečných listů.

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

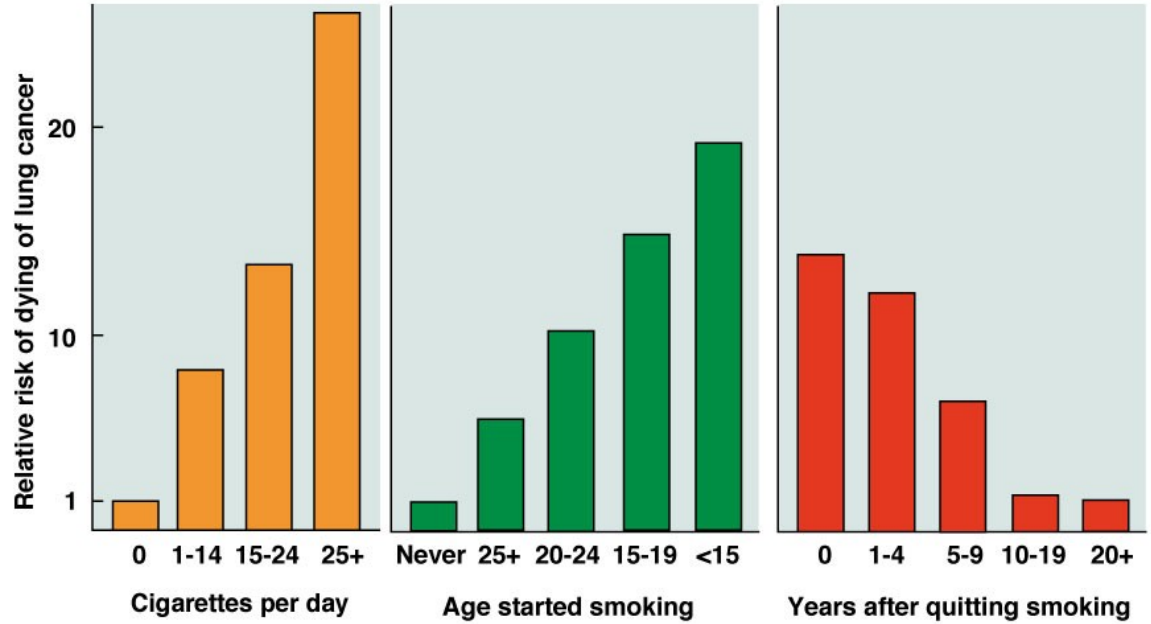
# Roční úmrtnost na vybrané typy rakoviny



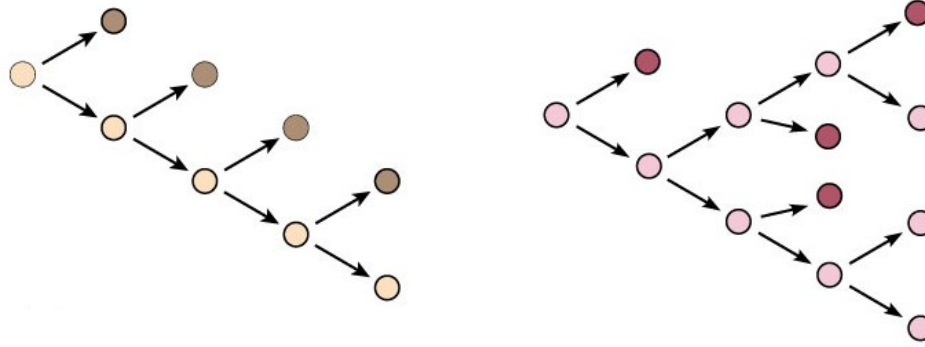
# Cigarety a rakovina



© 2012 Pearson Education, Inc.

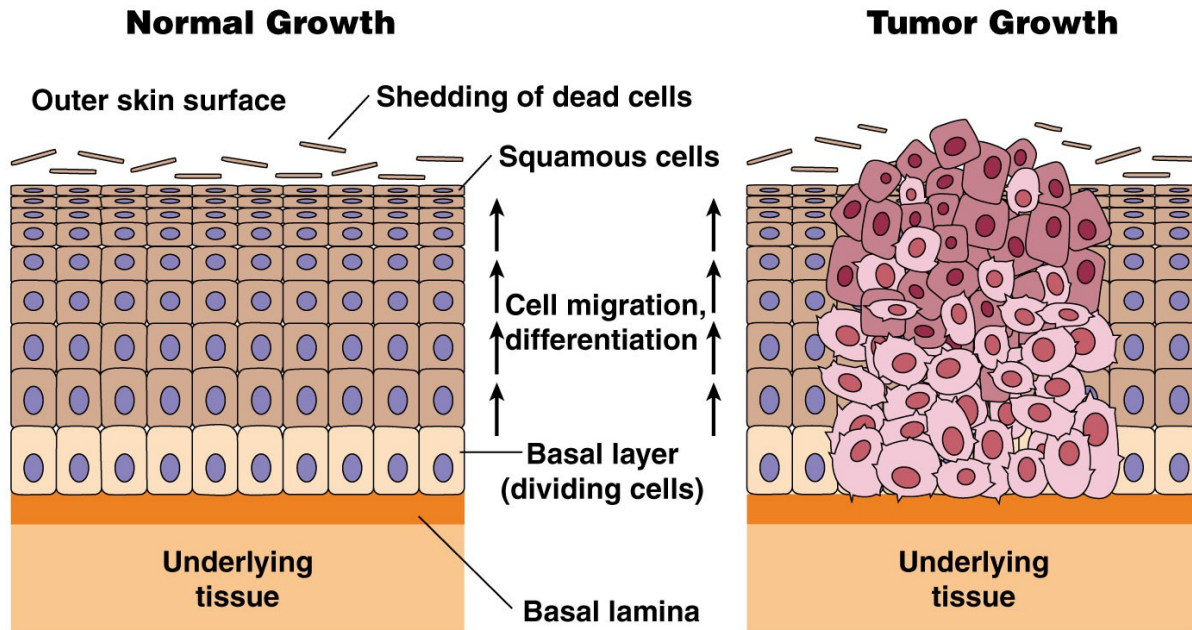


Tumory vznikají nekontrolovaným dělením při ztrátě rovnováhy mezi **proliferací** a **diferenciací**



## Rakovina kůže

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





# Stádia rakoviny

## 1 Initiation

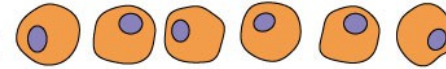


Mutation



## 2 Promotion

Cell proliferation

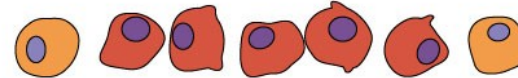


Mutation or epigenetic change



Proliferation and selection

## 3 Tumor progression



Mutation or epigenetic change



Proliferation and selection





## **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**

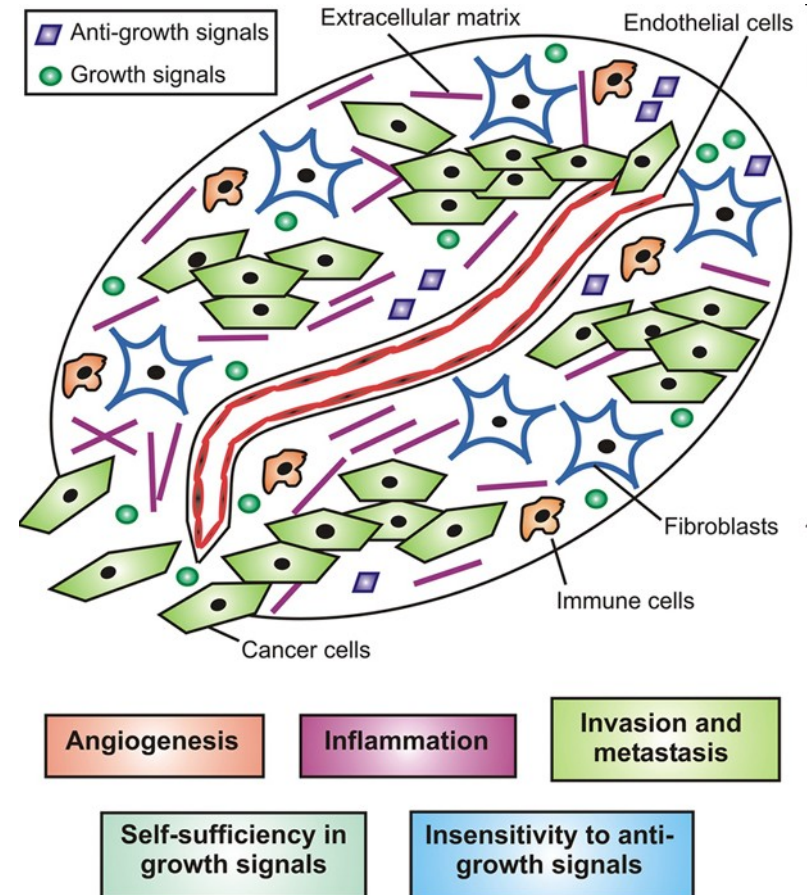
# Nádor je komplexní tkáň

## 1. Nádorové stroma:

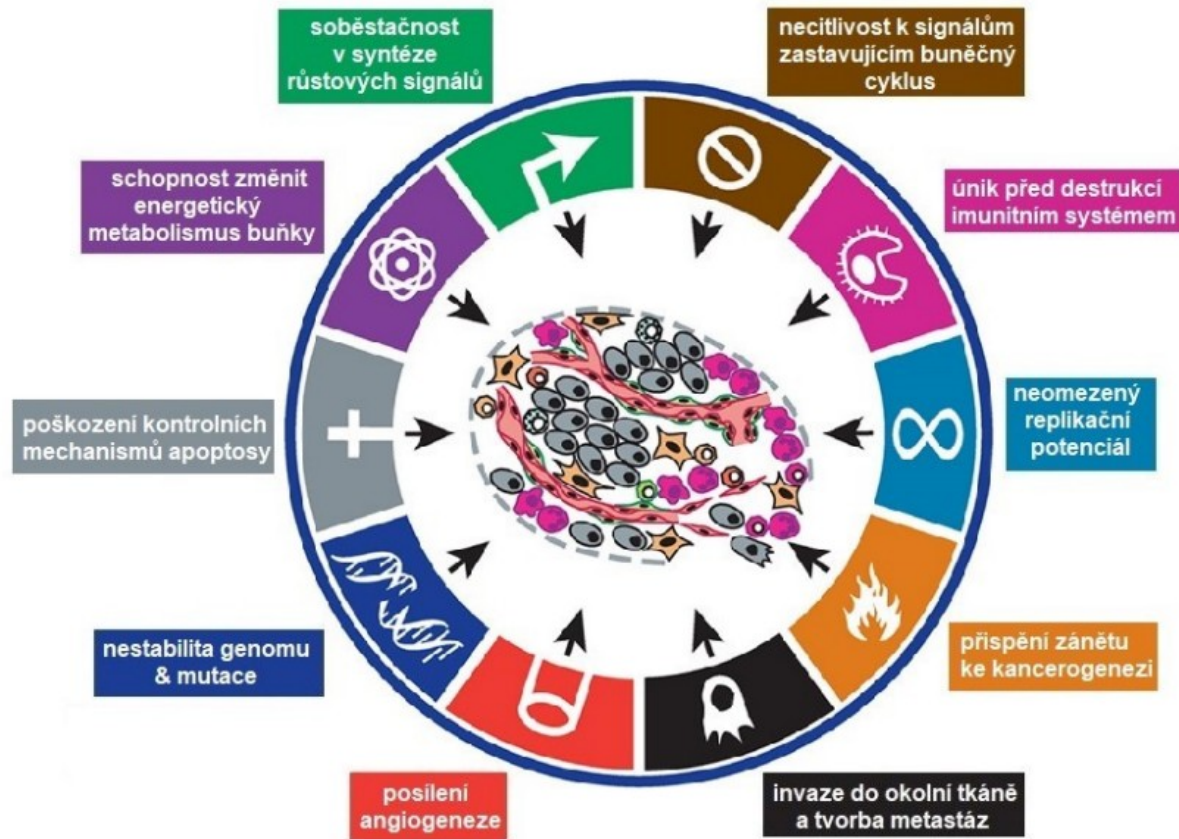
- **Podpůrné buňky** – zejm. **fibroblasty** - udržují tvar, produkují extracelulární matrix.
- Nové **cévní zásobení (endoteliální buňky)** - transport živin a kyslíku, možnost invaze a metastází.
- Buňky **imunitního systému** - indukce zánětu.

## 2. Nádorový parenchym:

- vlastní nádorové buňky
- heterogenní, k mutacím dochází i během jeho růstu



# Obecné vlastnosti nádorové buňky



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

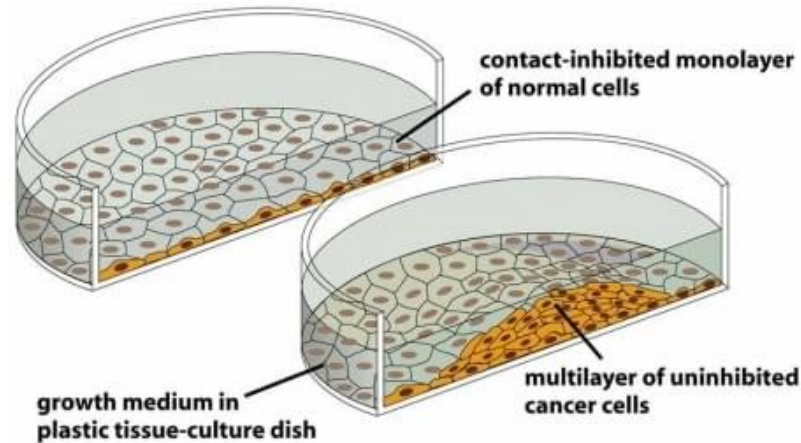
# Speciální vlastnosti nádorové buňky při *in vitro* kultivaci

## 1. Nepotřebují ukotvení

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

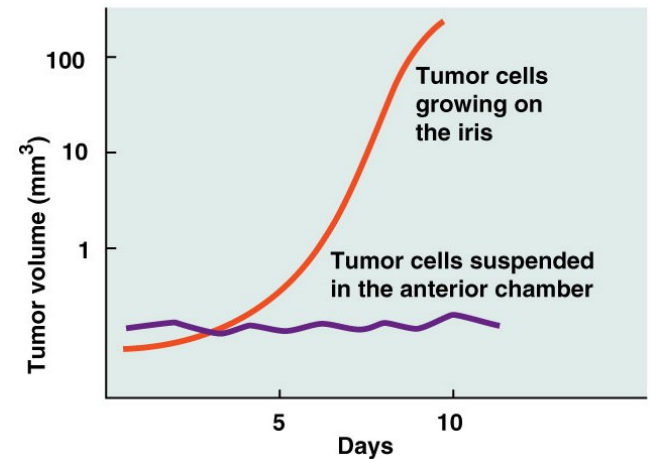
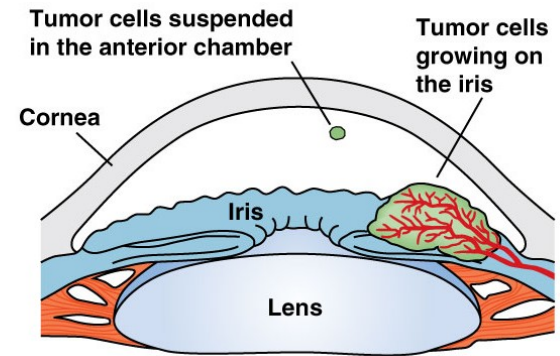
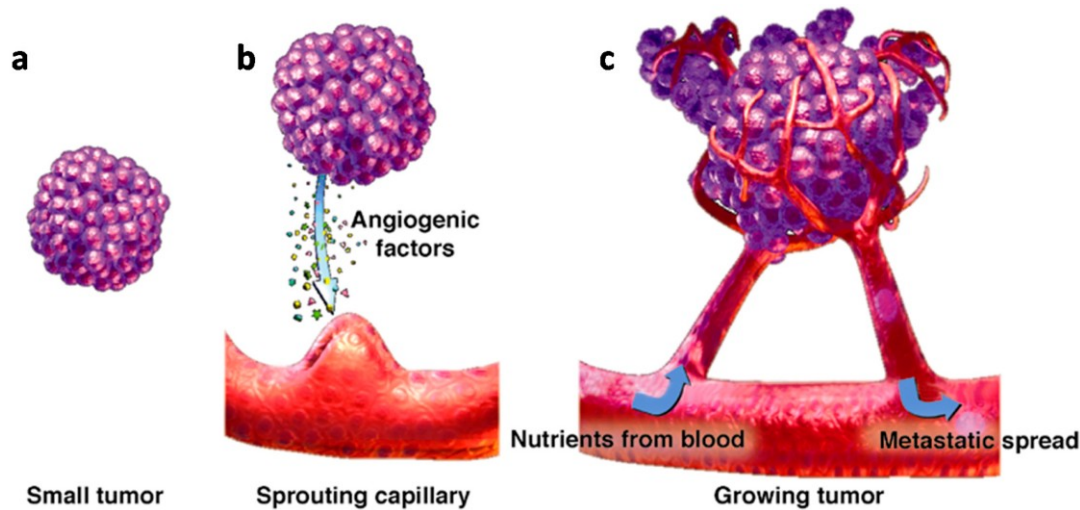
## 2. Snížená citlivost ke kontaktním signálům (kontaktní inhibice)

- zdravá buňka se přestane dělit, pokud není místo (v kultuře tvoří pouze jednu vrstvu)
- 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
- rakovinné buňky produkují směsi angiogenních faktorů (např. VEGF a FGF)



*Duhovka (iris) je dobře prokrvená*  
**Cornea - rohovka**



# Metastáze a invaze

- primární nádory lze odstranit chirurgicky

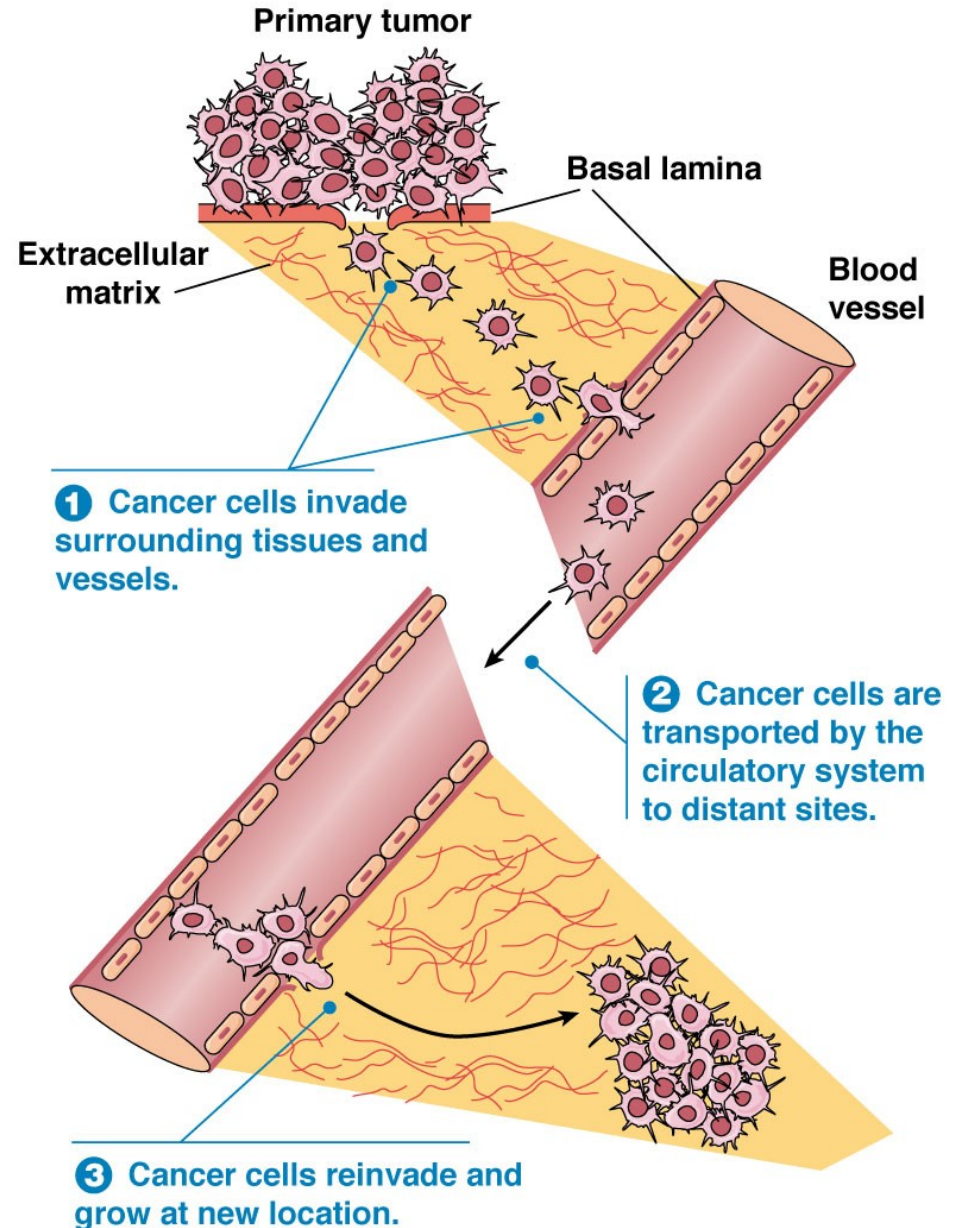
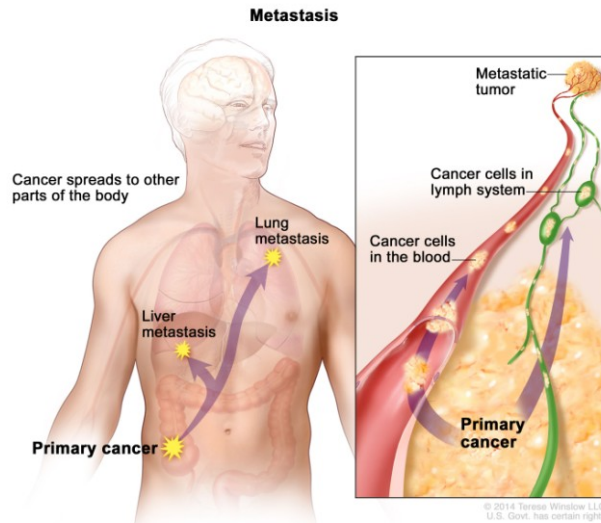
## Invaze

migrace a penetrace rakovinných buněk do sousední tkáně

## Metastáze

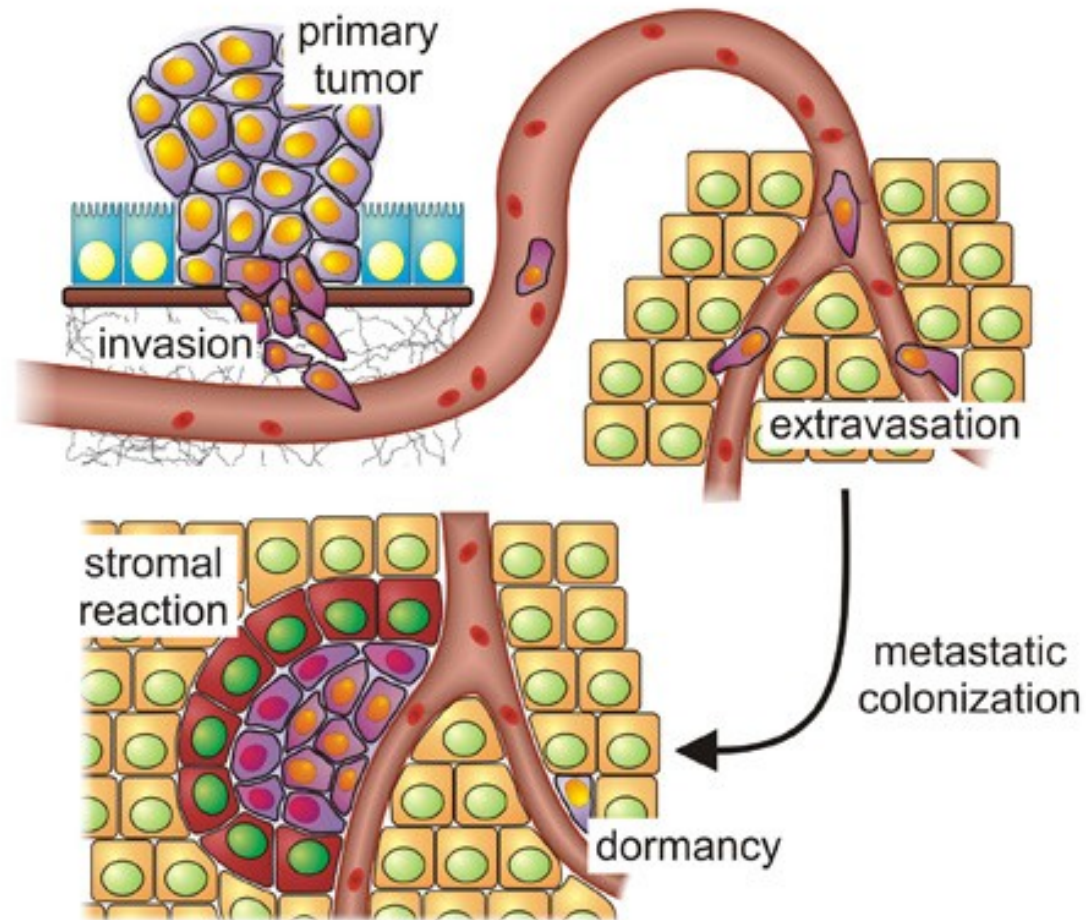
migrace rakovinných buněk krevním oběhem do vzdálených tkání a tvorba sekundárních ložisek

- změny adheze a produkce proteáz, které degradují 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.

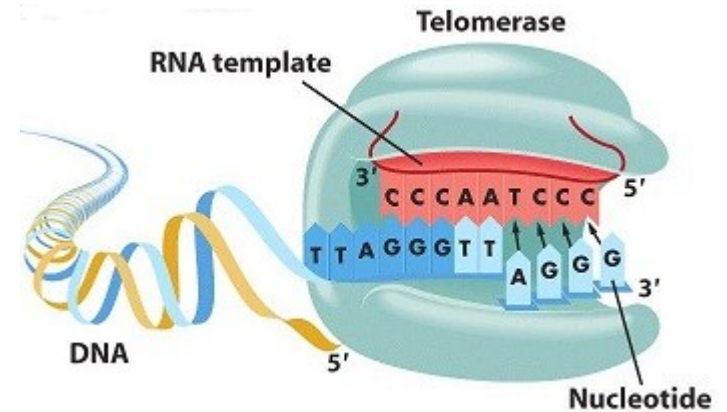
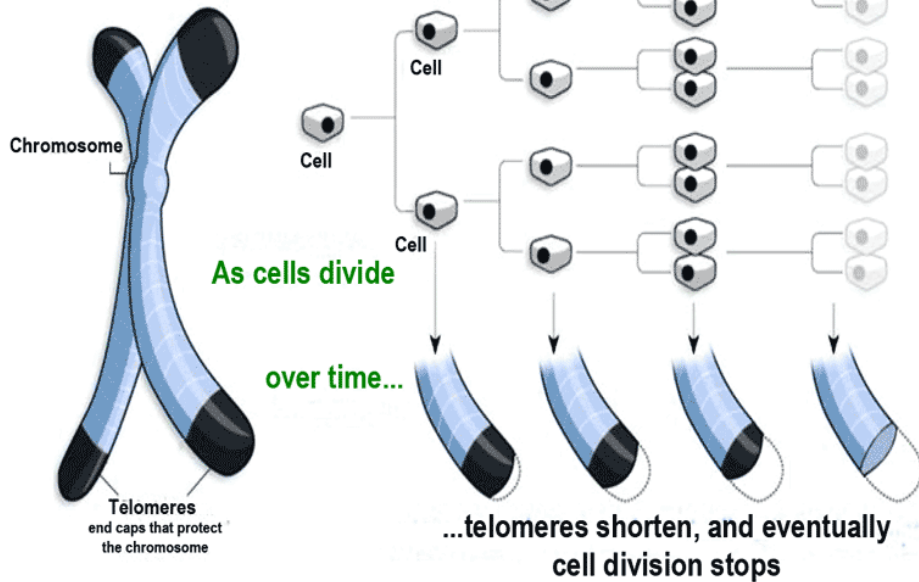
Pro obratlovce: sekvence TTAGGG (opakuje se asi 2500 u lidí).

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



Telomeráza je enzym pracující jako reverzní transkriptáza, který je schopen prodlužovat konce eukaryotických chromozomů (tzv. telomery).

# 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 abnormálně zvýšenou funkci



## 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 vyřazení z provozu



# Proto-onkogeny a nádorové 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

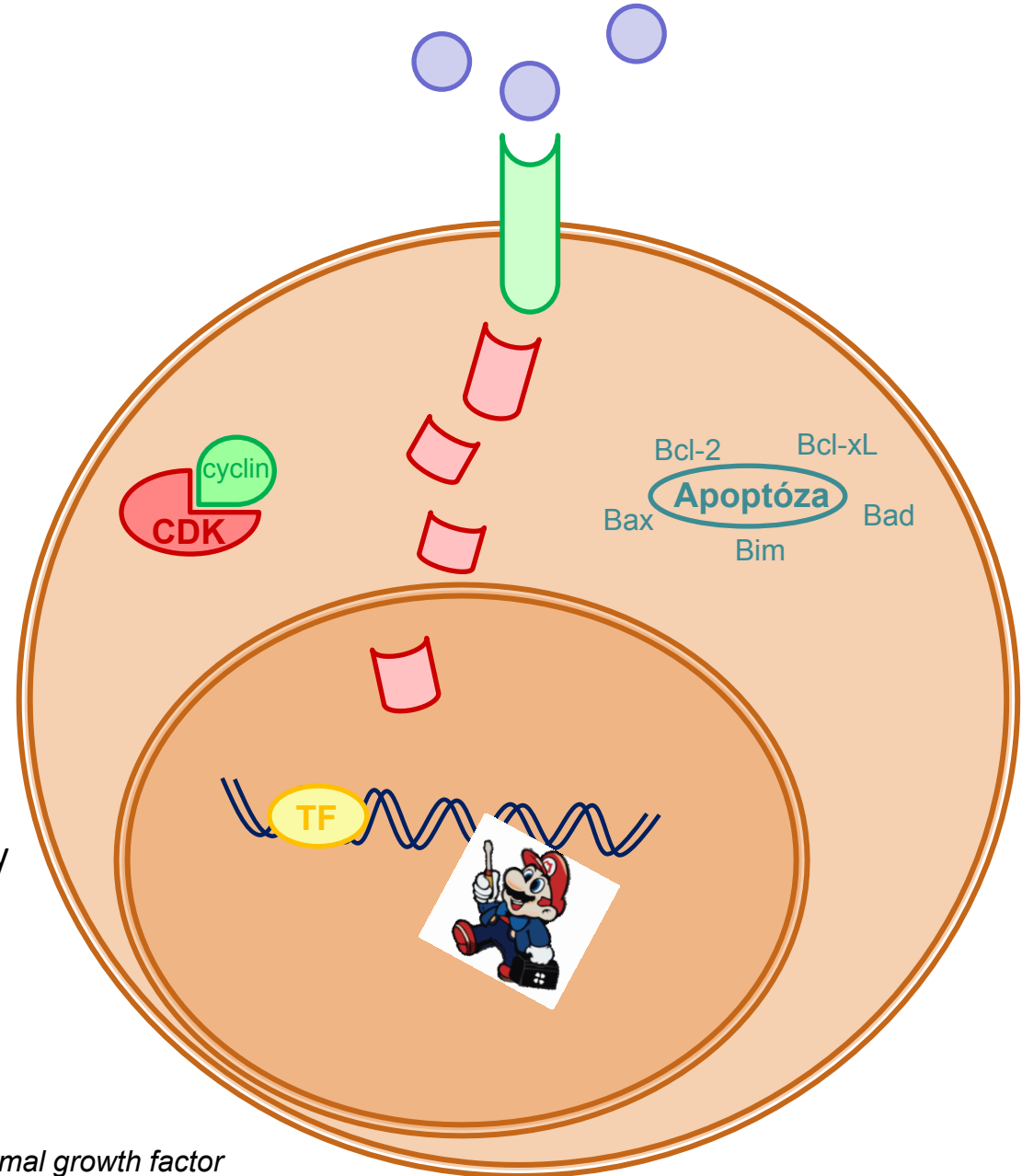
- např. proteinové rodina Bcl2

## 6. Proteiny řídící buněčný cyklus

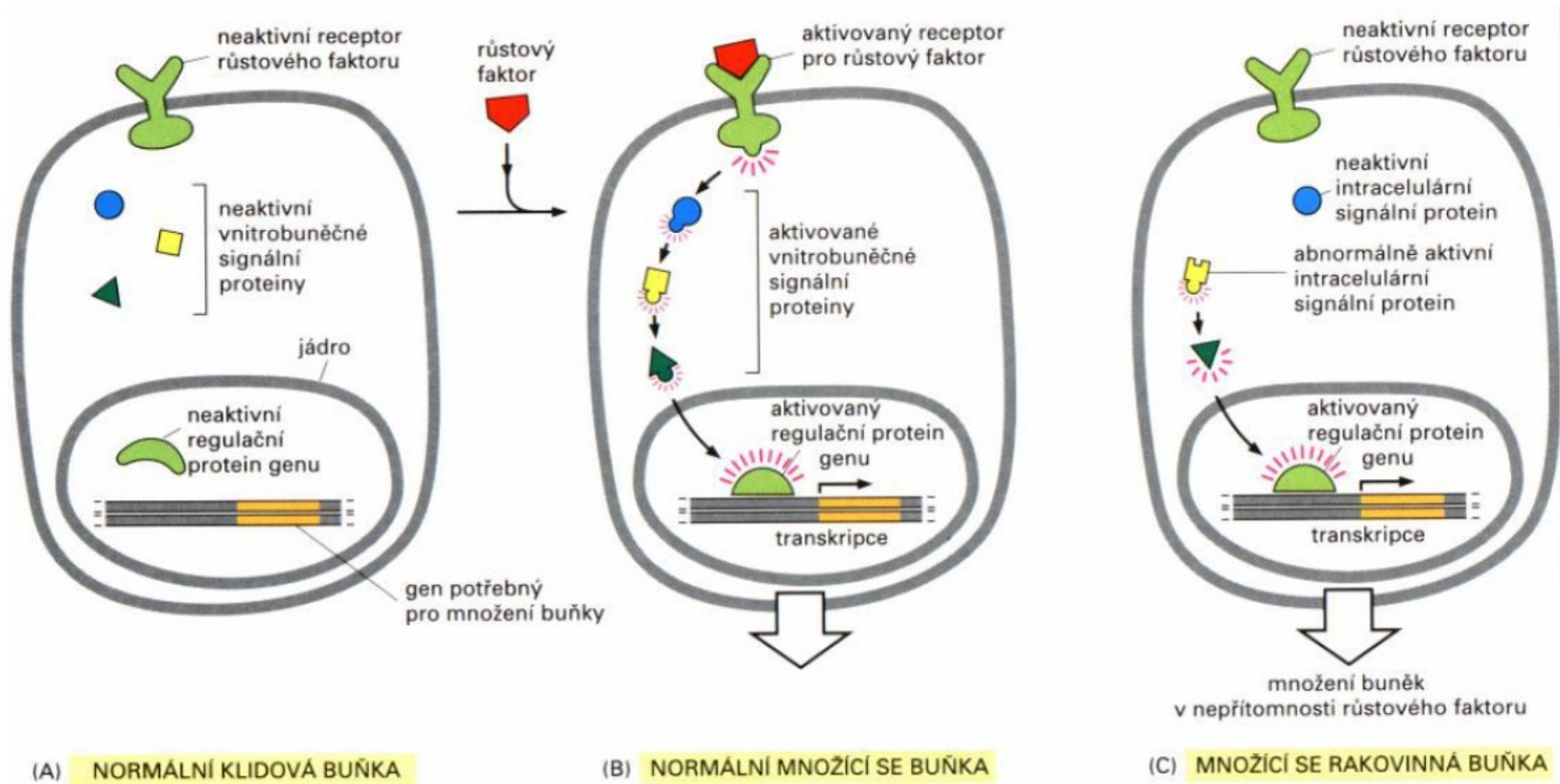
- např. cykliny a cyklin-dependentní kinázy

## 7. Proteiny zapojené do oprav DNA

- např. BRCA, ATM, ATR,  $\gamma$ H2AX...



# Patologická aktivace proto-onkogenů



# 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

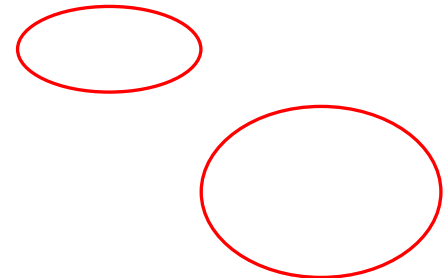
**G2 fáze** – růst buňky, příprava na mitózu

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 během cyklu pravidelně kolísají
- ve specifických fázích cyklu podléhají degradaci proteolýzou

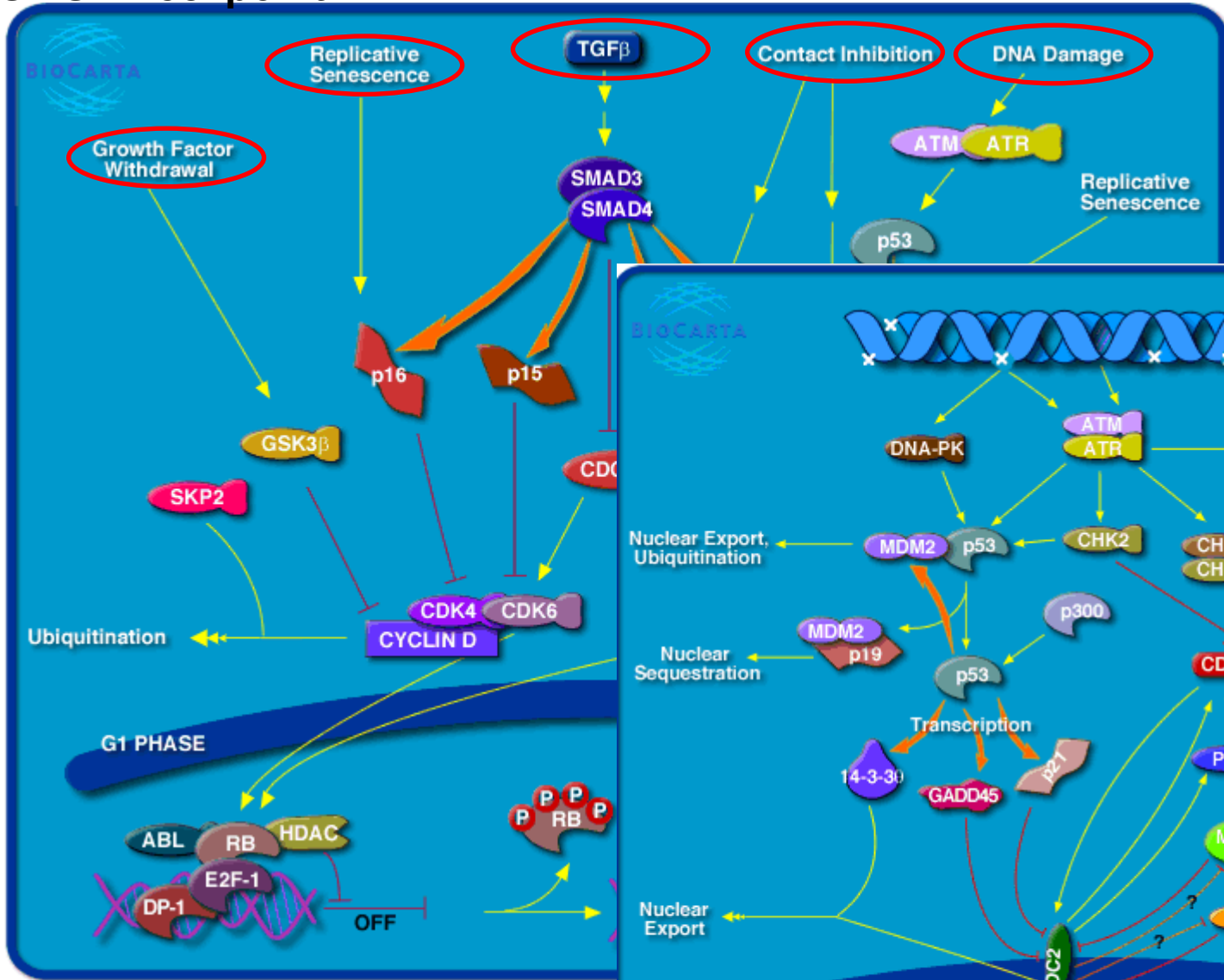
## CDK (Cyklin dependentní kinázy)

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

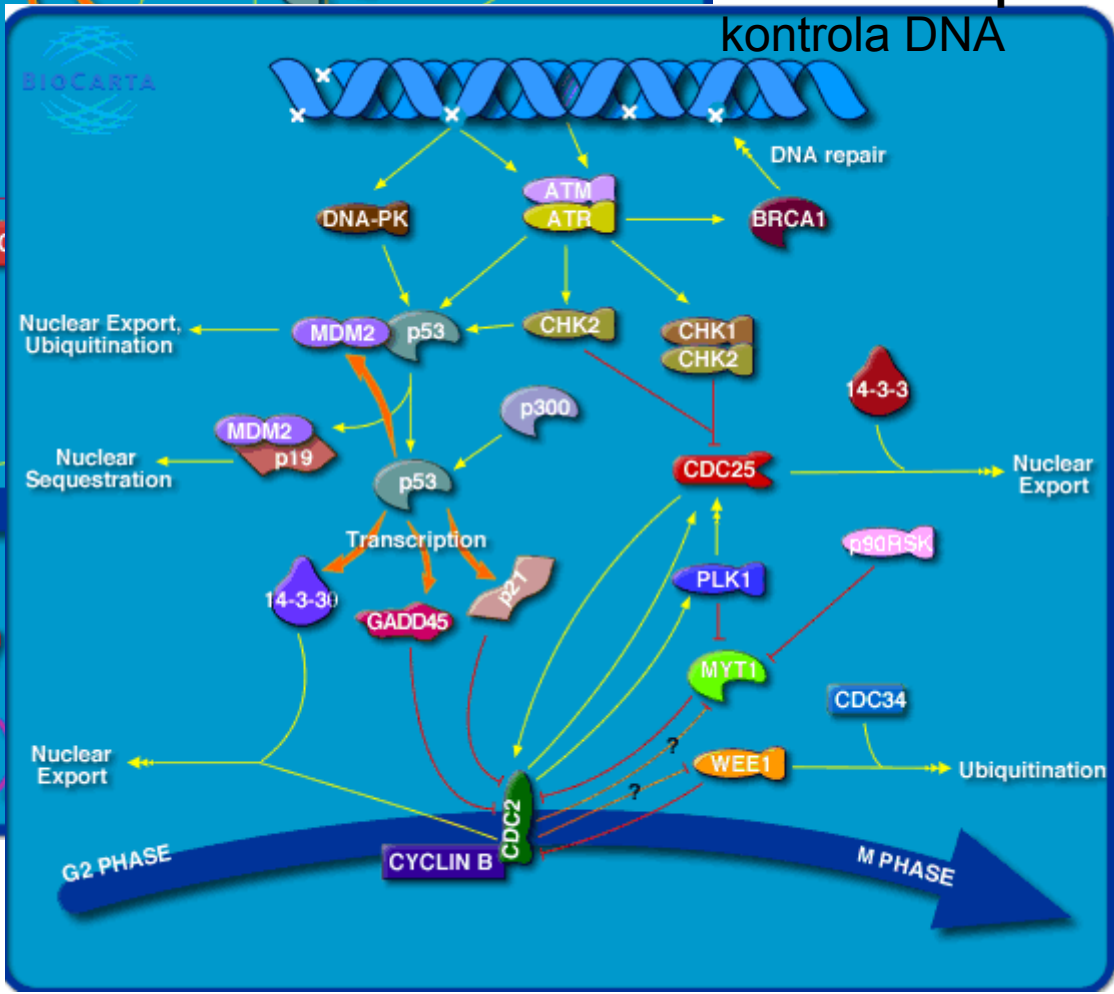
## Inhibitory CDK

**Antiproliferační signalizace** (RB inhibuje cyklus v G1 vazbou na E2F)

**G1/S Checkpoint**



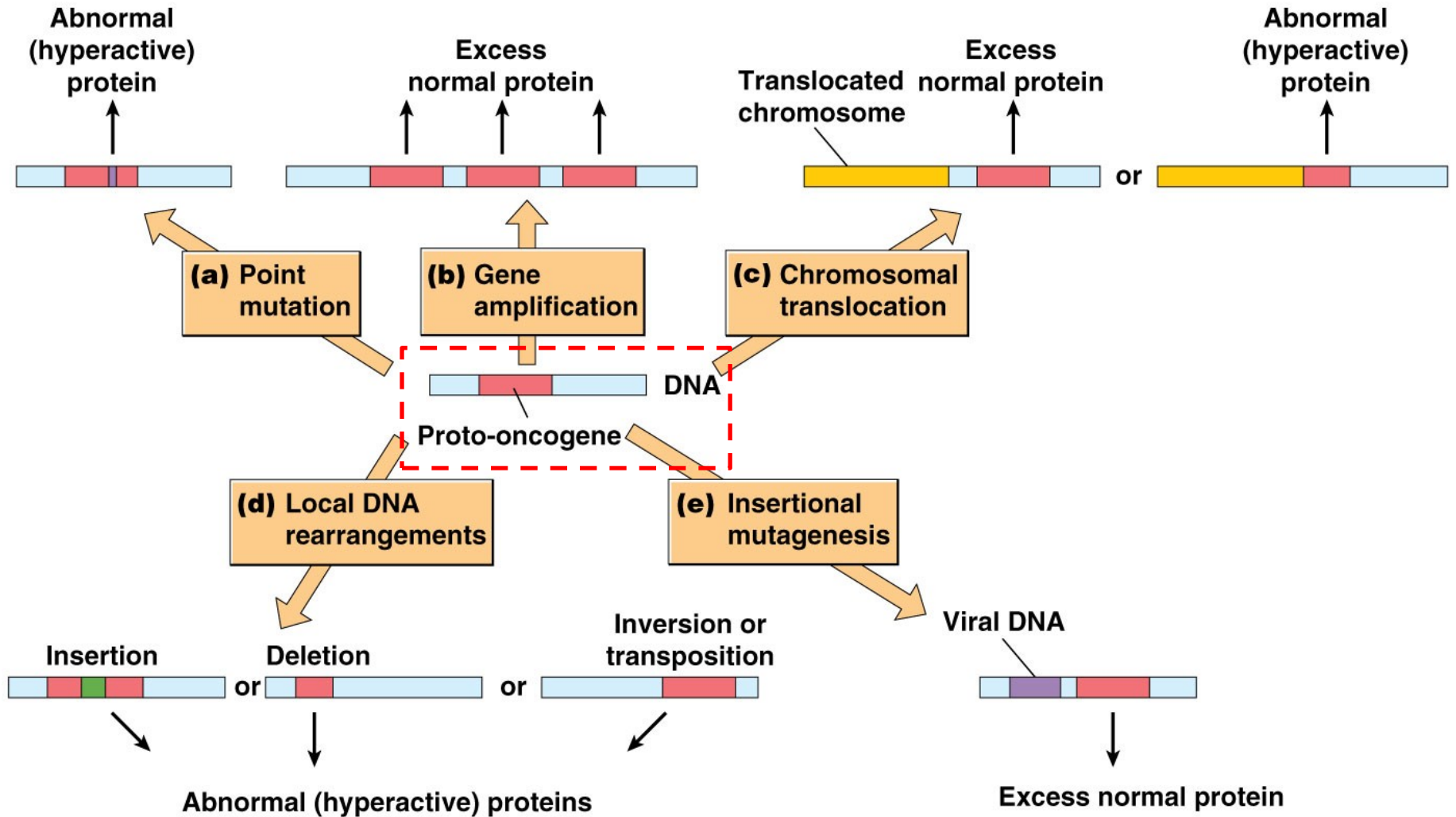
**G2/M Checkpoint kontrola DNA**



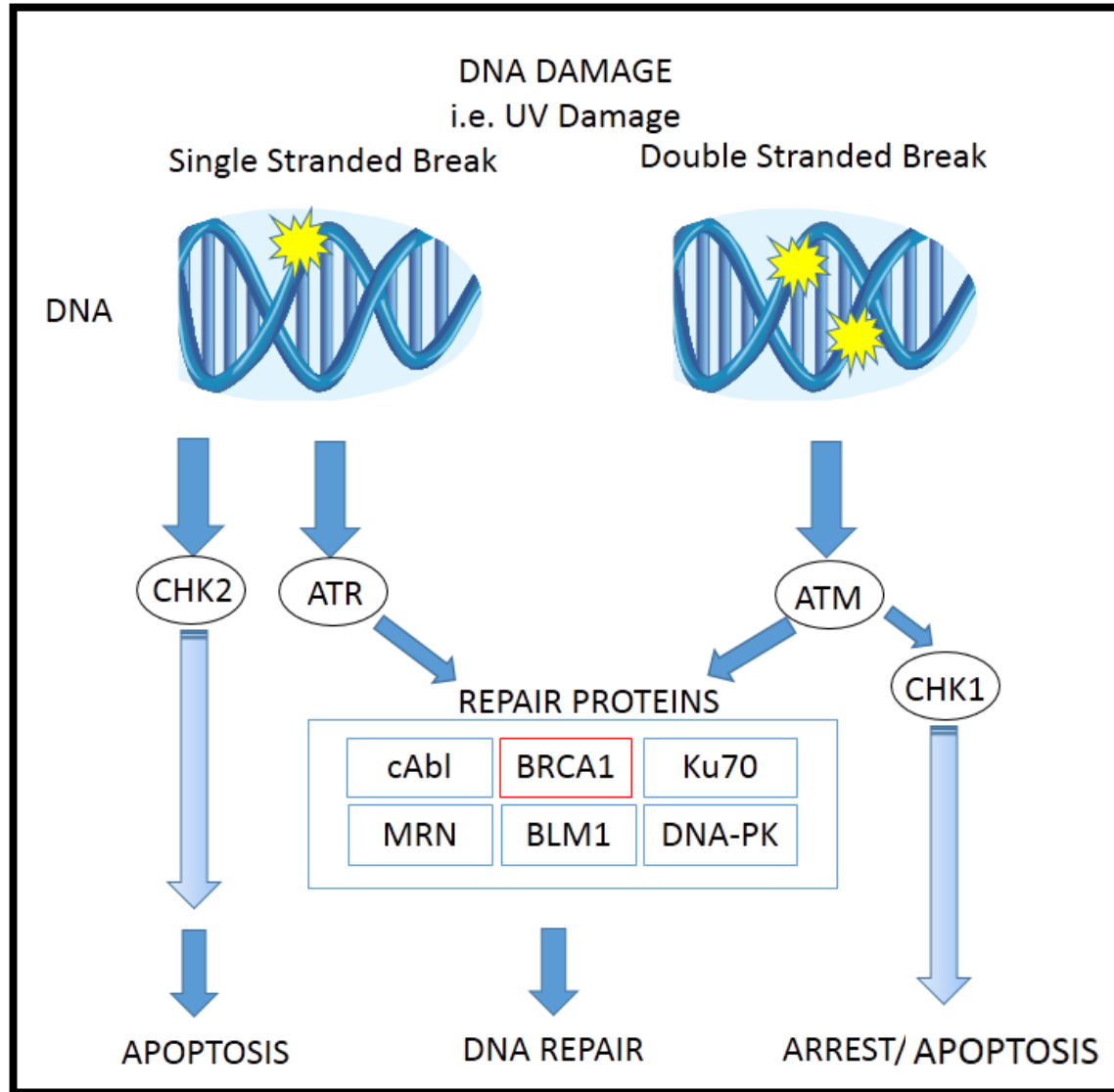


# Typy mutací v proto-onkogenu

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



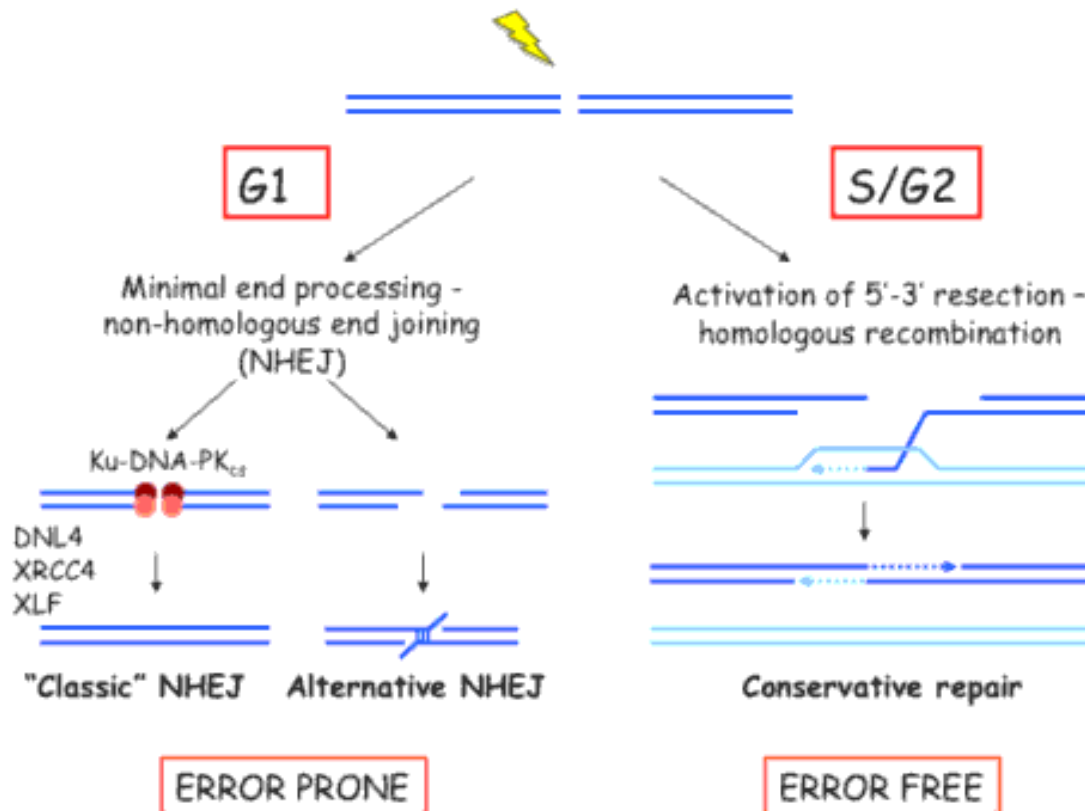
# Oprava DNA



# 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*

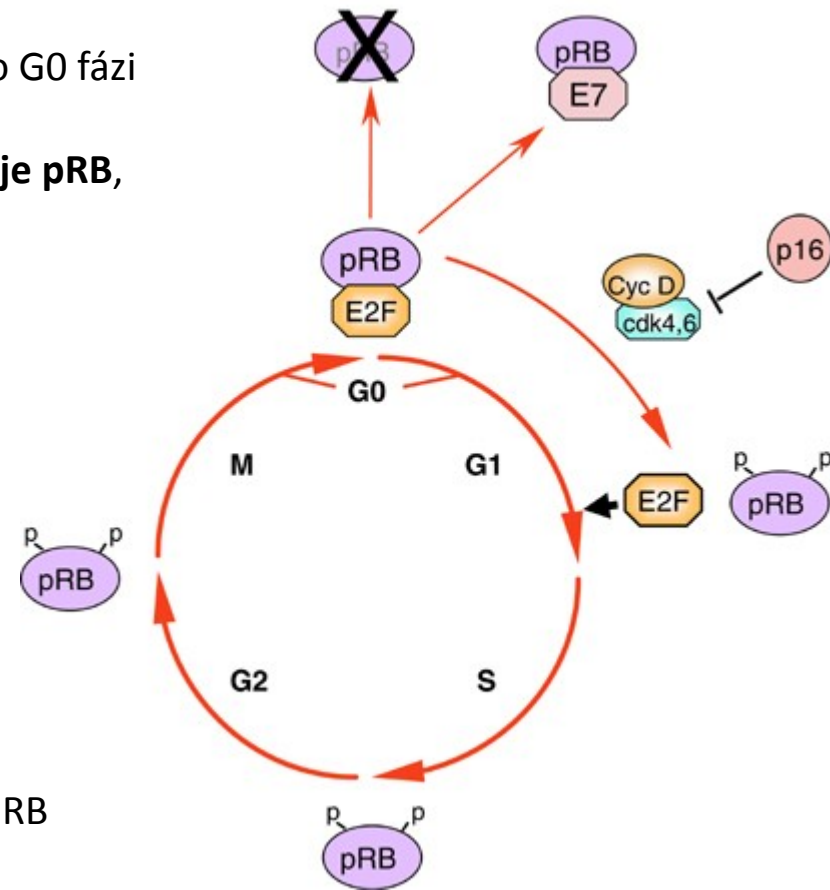
- zabraňuje přechodu do S-fáze buněčného cyklu tím, že váže a inhibuje transkripční faktory E2F rodiny (**E2F podporuje proliferaci**)

- 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

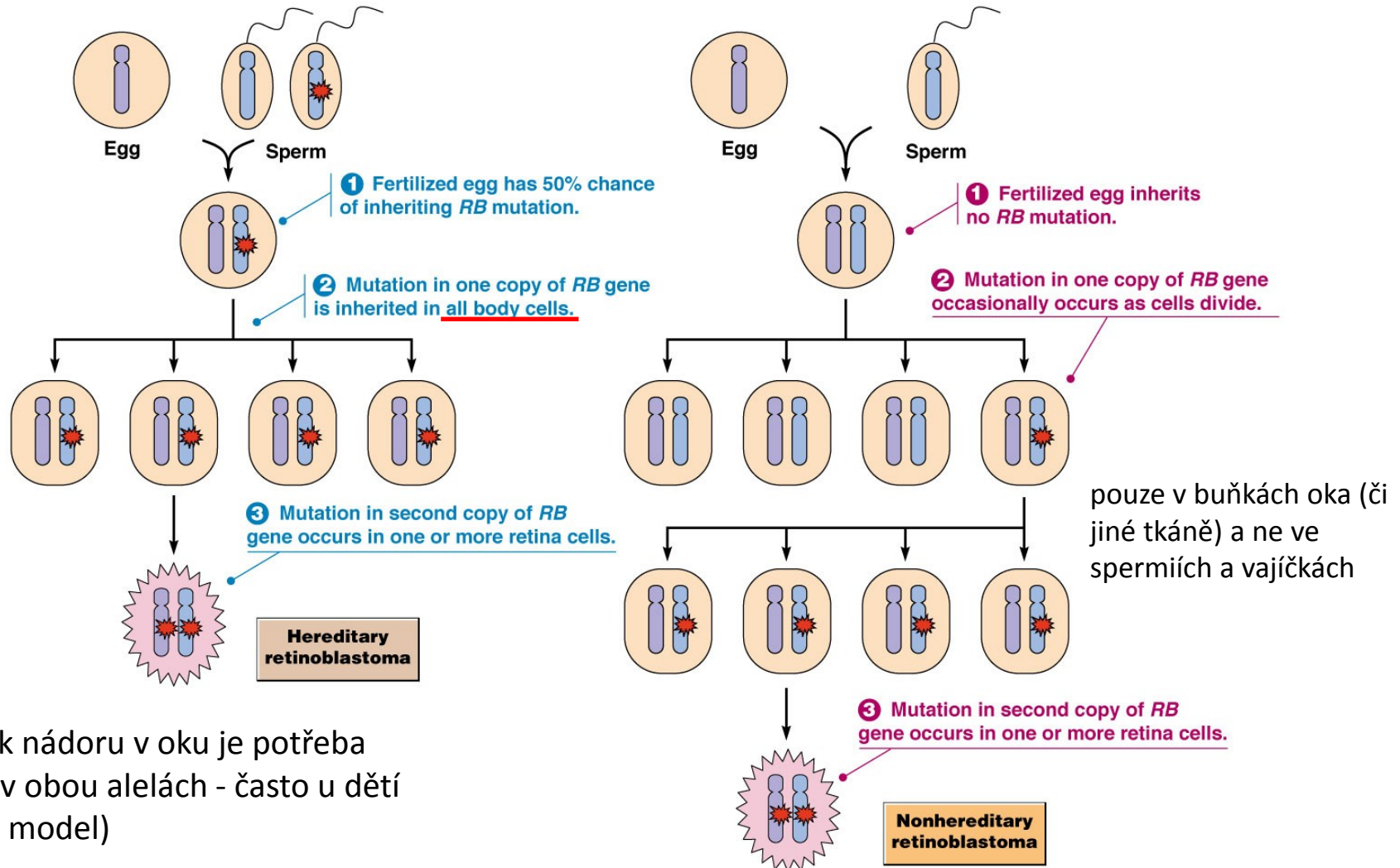
**V nádorových buňkách** pRB často nefunguje a E2F je stále volný → neregulovaná proliferace

- 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

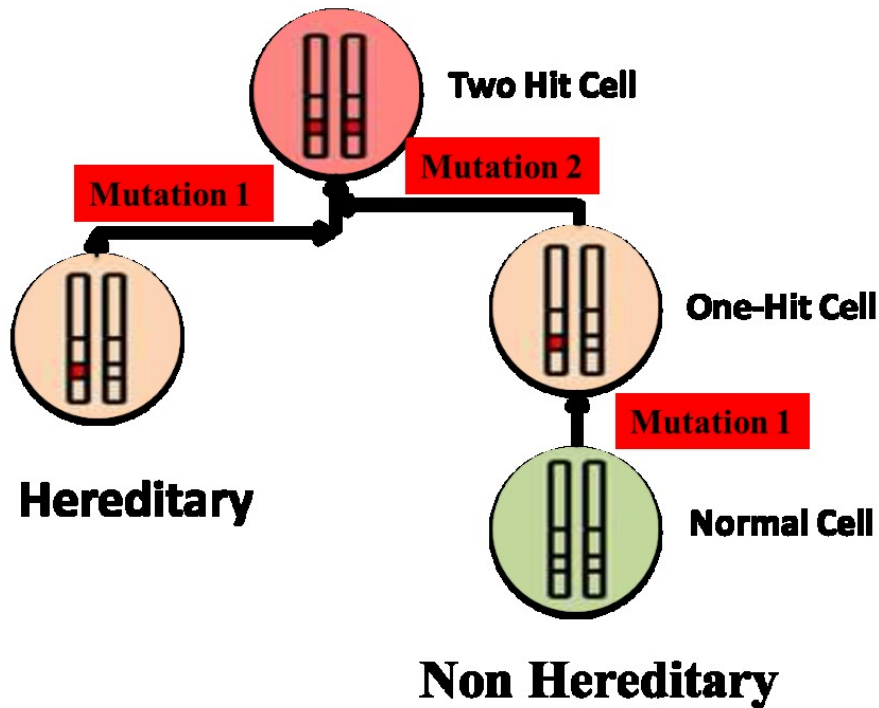


Pro vznik nádoru v oku je potřeba mutace v obou alelách - často u dětí (two-hit model)

## 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

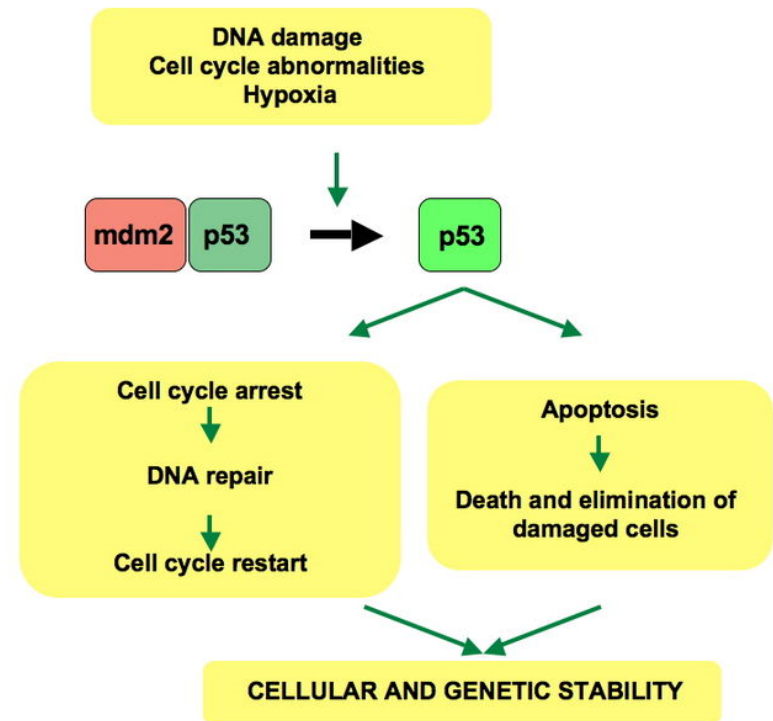


Naproti tomu u proto-onkogenů stačí mutace pouze v jedné alele (one-hit)

# 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*

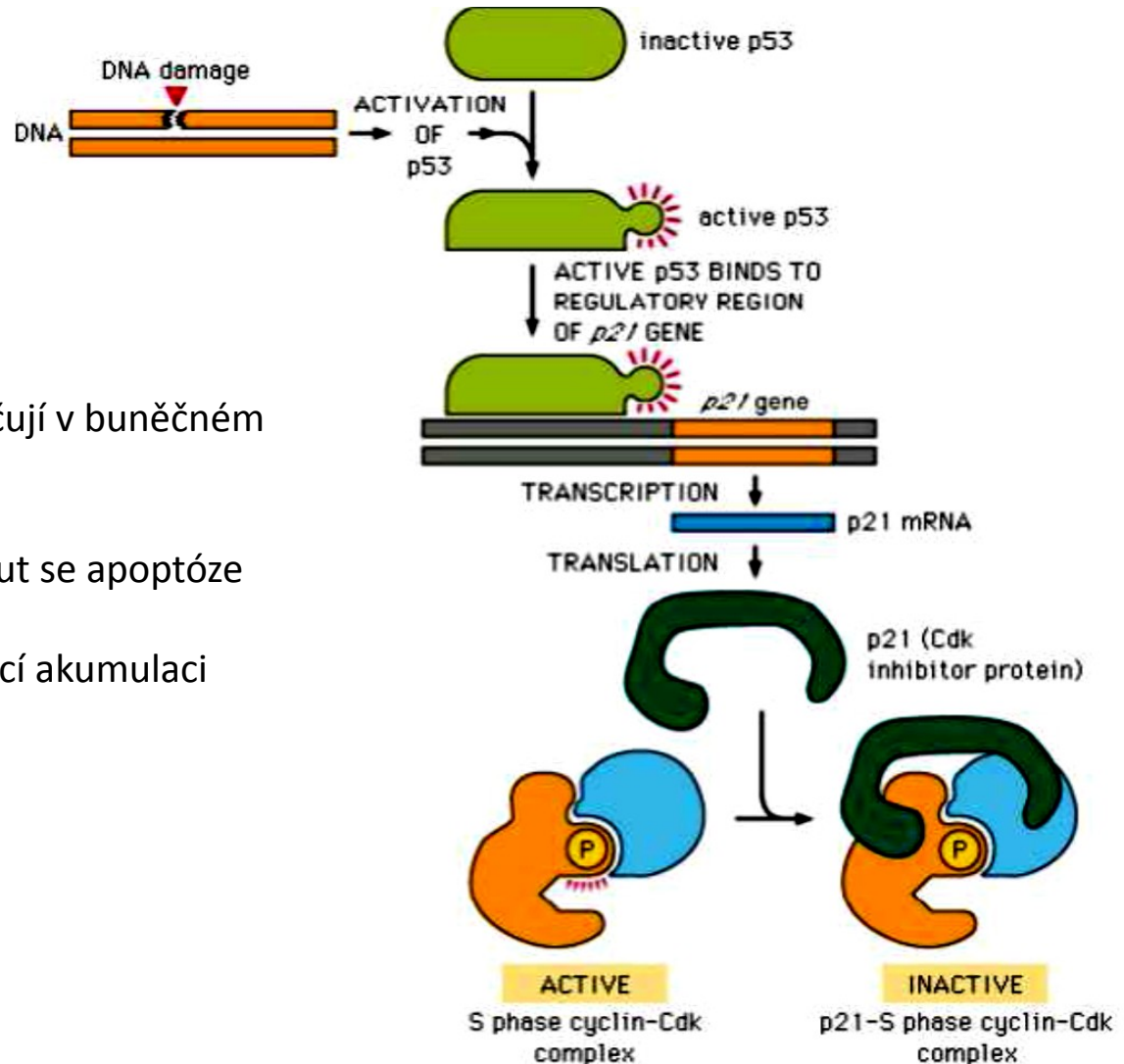
*potlačují expresi*  
*aktivují expresi*

*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

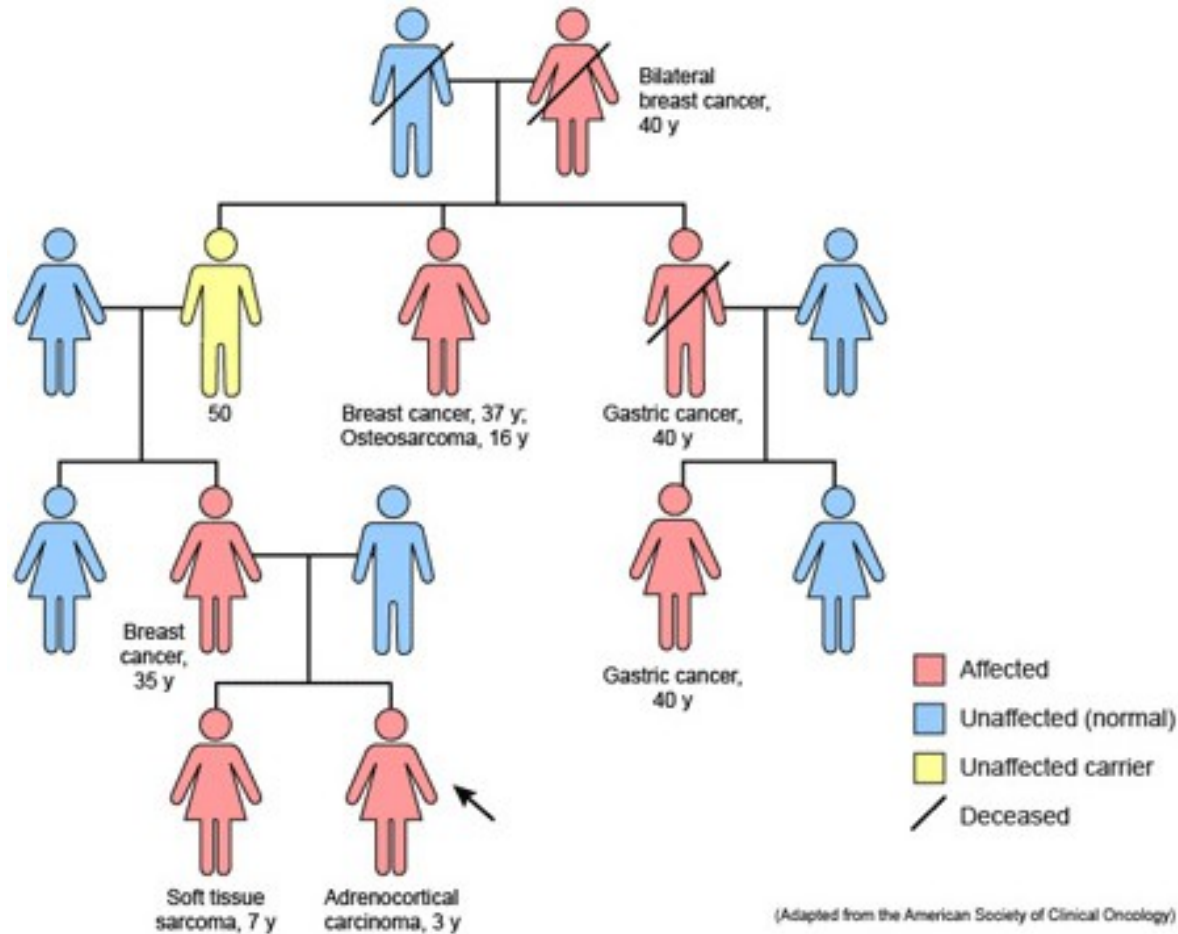


## Mutace p53

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



(Adapted from the American Society of Clinical Oncology)

# 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.:

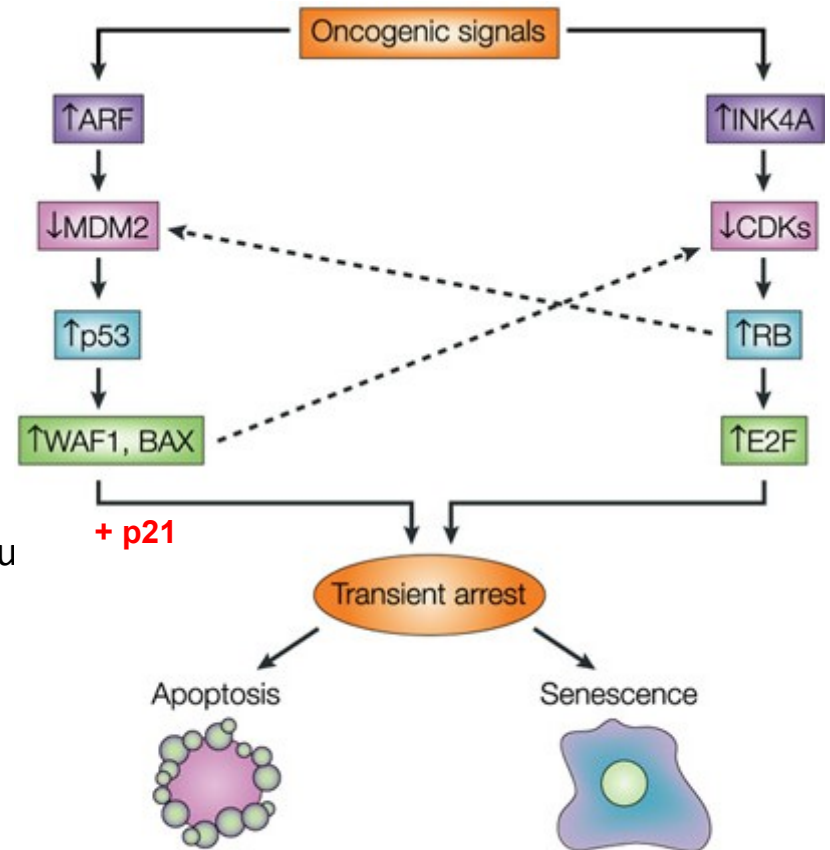
- WAF1 → inhibice CDK → cell-cycle arrest
- BAX → indukce apoptózy
- p21 → inhibice CDK

## 2. dráha RB

Indukce INK4A → inhibice CDK (4,6) →

inhibice fosforylace RB → komplex RB+E2F zastavuje cyklu

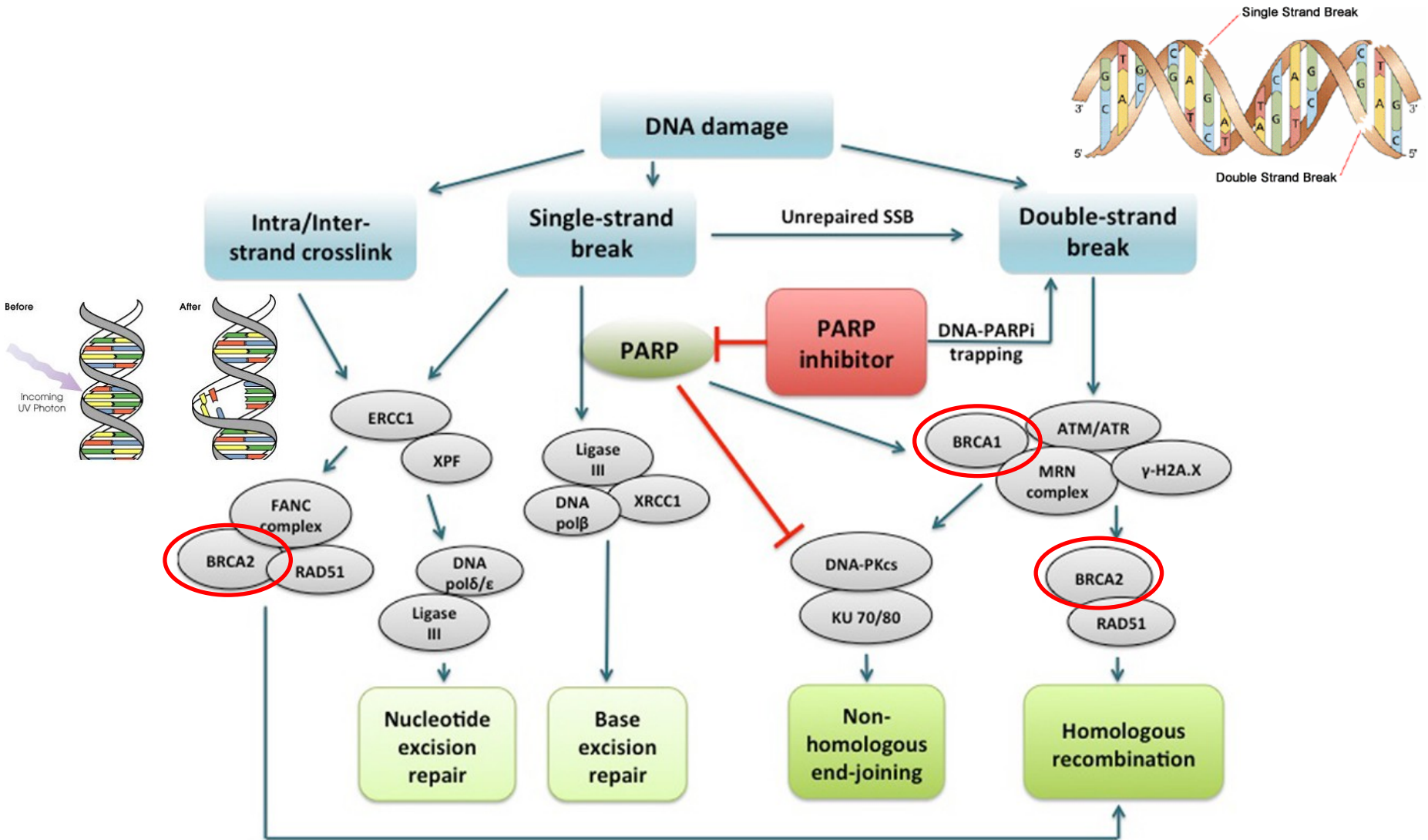
RB se též může vázat na MDM2-p53 a regulovat aktivitu p53



# Tumor-supresory BRCA1 a BRCA2

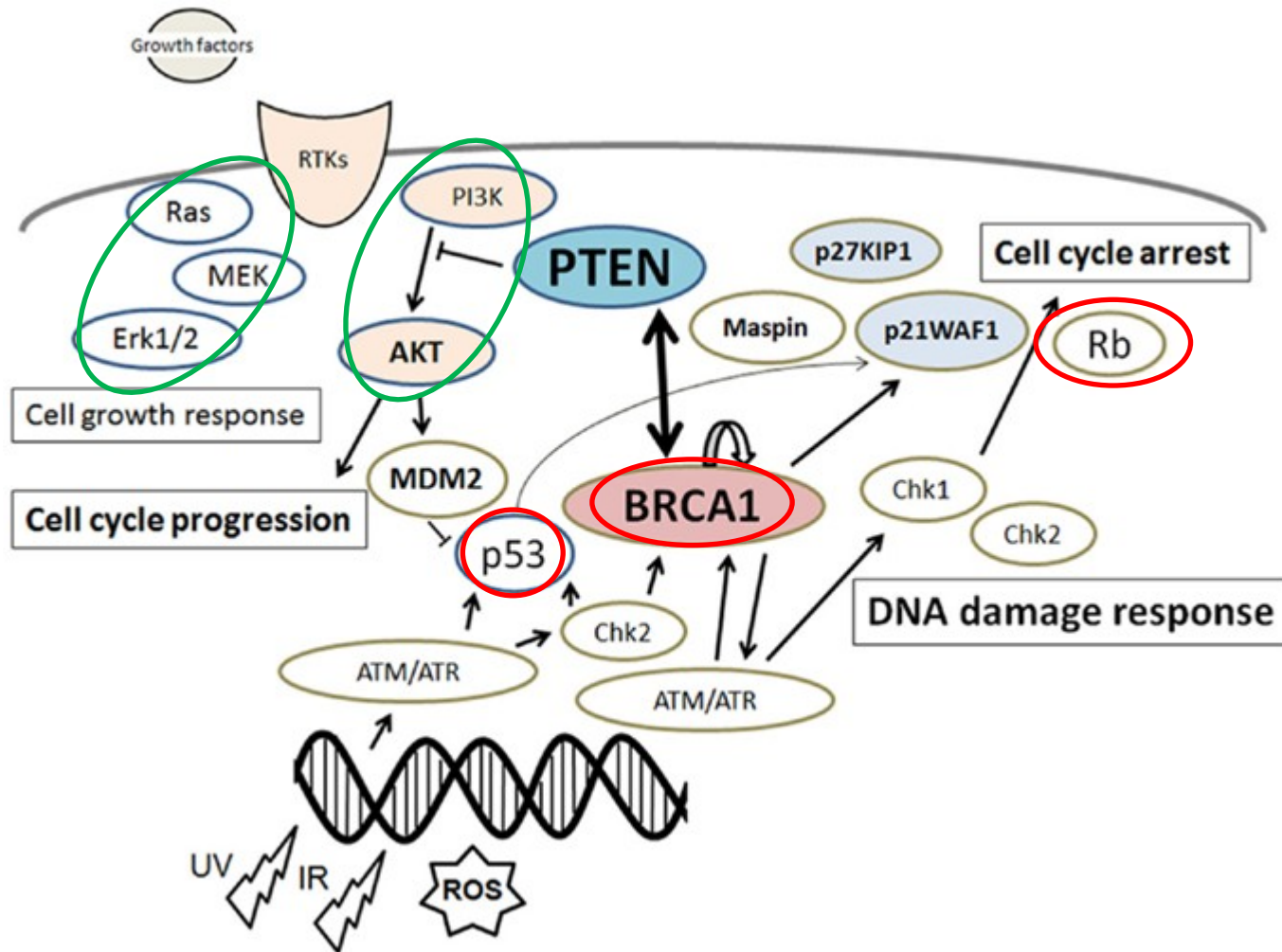
*BR*east *C*ANcer 1 a 2 geny

- pomáhají opravovat poškození DNA, zejména DSBs (dvouřetězcové zlomy)



## 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 %.

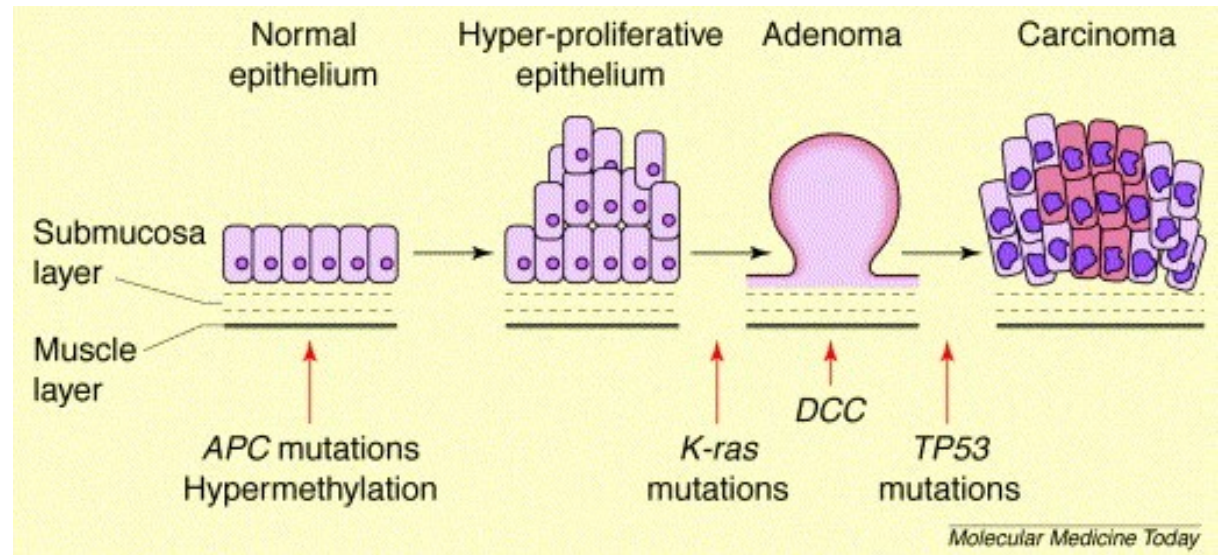




# Proto-onkogeny a tumor-supresory

postupná přeměna zdravé buňky tlustého střeva v nádorovou

1. Ztráta nádorového supresoru **APC** → stabilizace  **$\beta$ -kateninu** → tvorba polypu
  - a) změna transkripce (zvýšená transkripce genů podporujících proliferaci: cyclin D, c-myc...)
  - b) zvýšení adheze buněk ( $\beta$ -katenin spojuje E-kadherin a  $\alpha$ -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 (Adenomatous polyposis coli) je negativní regulátor  $\beta$ -kateninu, je součástí Wnt signální dráhy

# 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**.

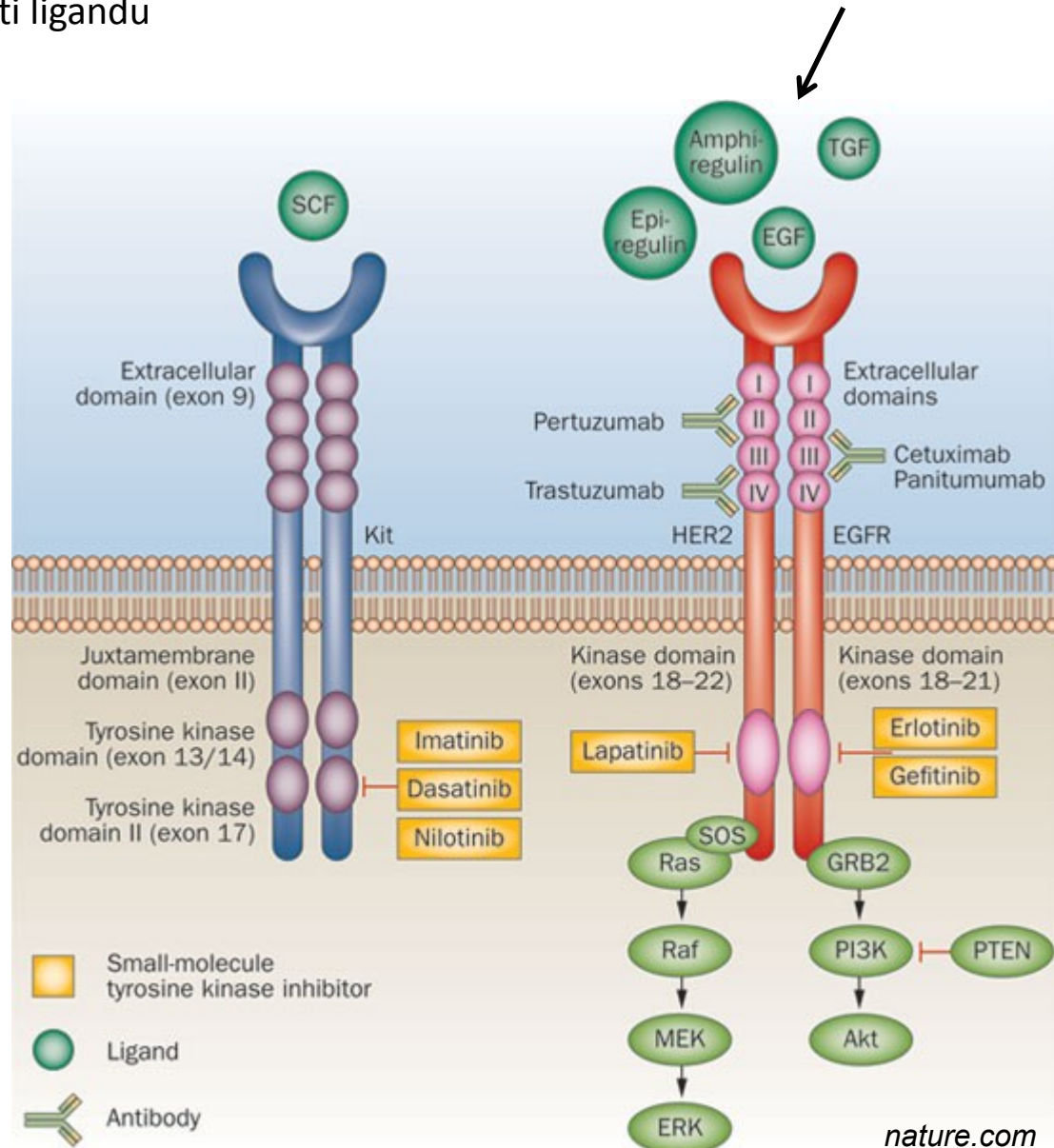
Diagnostika receptorů může predikovat léčebnou odpověď.

- *SCF - stem cell factor; steel factor*

- *Trastuzumab = Herceptin*

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

## členové rodiny EGF proteinů

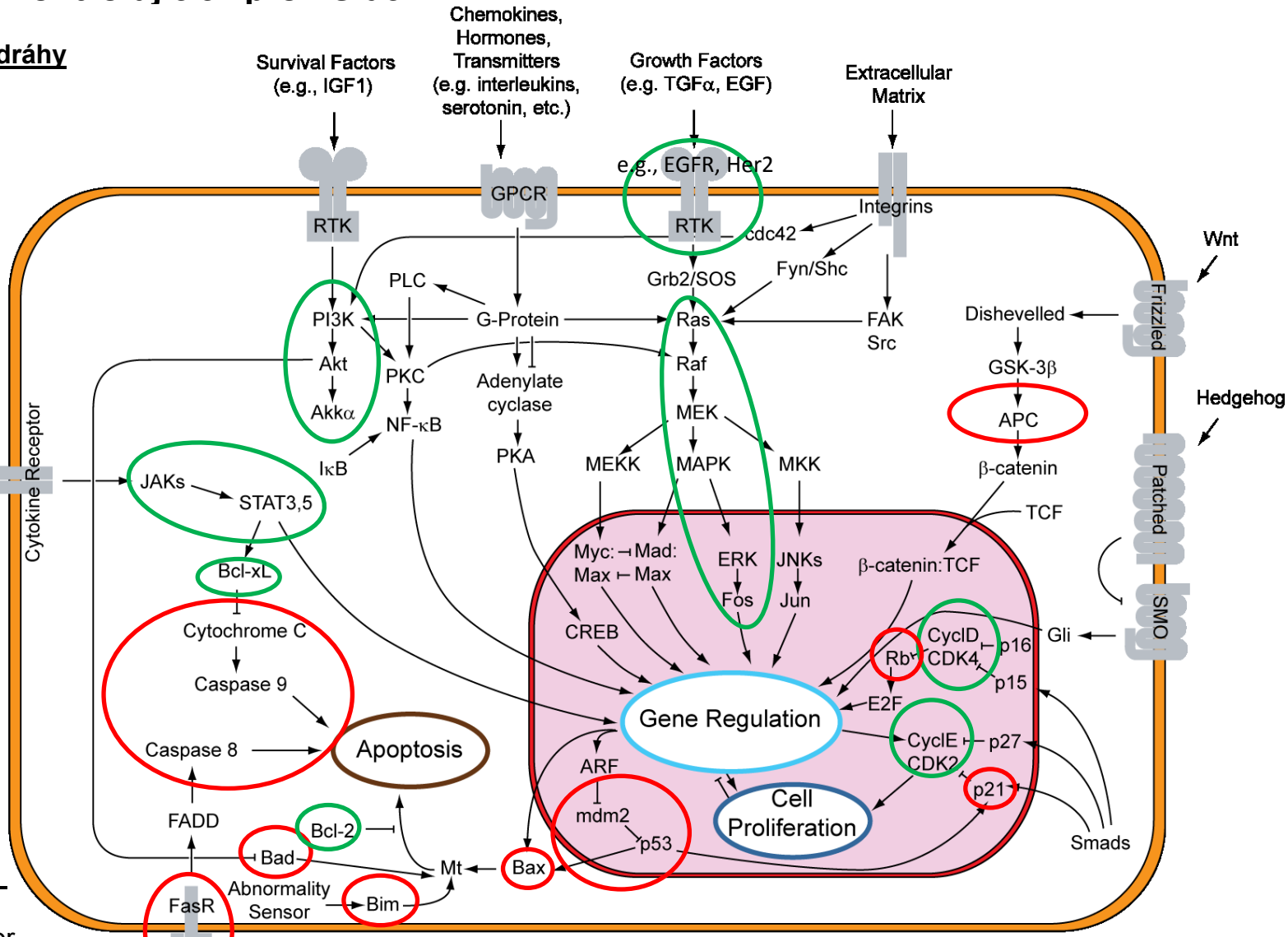




# Přehled faktorů kontrolujících proliferaci

## Hlavní pro-růstové dráhy

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



## 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 apoptózu

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

# Karcinogeny

Faktory, které způsobují nebo napomáhají karcinogenezi

International Agency for Research on Cancer (IARC) založena WHO následující klasifikace kancerogenů:

Group	What does it mean?	What does it include?
<b>GROUP 1</b>	<b>Carcinogenic to humans</b>	 Smoking, alcoholic beverages, processed meats such as sausages, bacon or salami and high exposure to the sun
<b>GROUP 2A</b>	<b>Probably carcinogenic to humans</b>	 Red meat consumption, working night shifts, drinking very hot drinks and emissions from frying food at high temperature
<b>GROUP 2B</b>	<b>Possibly carcinogenic to humans</b>	 Radiofrequency electromagnetic fields (from cell towers, radio or TV), aloe vera whole leaf extract, working in dry cleaning and pickled vegetables
<b>GROUP 3</b>	<b>Not classifiable</b>	 Drinking coffee, drinking tea, cholesterol and paracetamol

## Group 1 carcinogens

Carcinogenic to humans. 126 agents, including:

- alcoholic drinks
- asbestos
- diesel engine exhaust emissions
- indoor tanning
- tobacco
- x-rays

## Group 2A

Probably carcinogenic to humans 94 agents, including:

- red meat
- indoor emissions from wood-burning stoves
- glyphosate
- shiftwork that involves circadian disruption
- petroleum refining (occupational exposures in)
- frying - emissions from high temperature

## Group 2B

Possibly carcinogenic to humans. 322 agents, including:

- dry cleaning (occupational exposures in)
- firefighting (occupational exposures in)
- aloe vera
- bracken fern
- ginkgo biloba extract
- lead

# Karcinogeny

## 1. Fyzikální karcinogeny

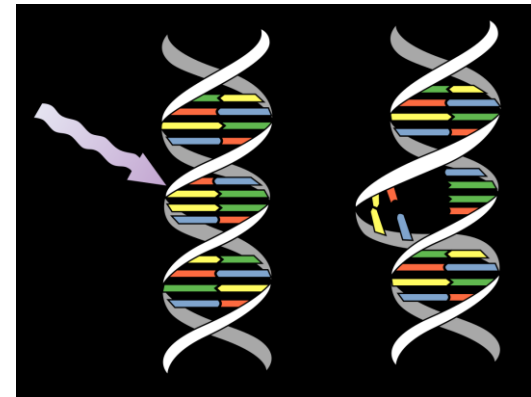
### Zvýšený výskyt karcinomů a leukemií u:

- 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,...

### Organické karcinogeny:

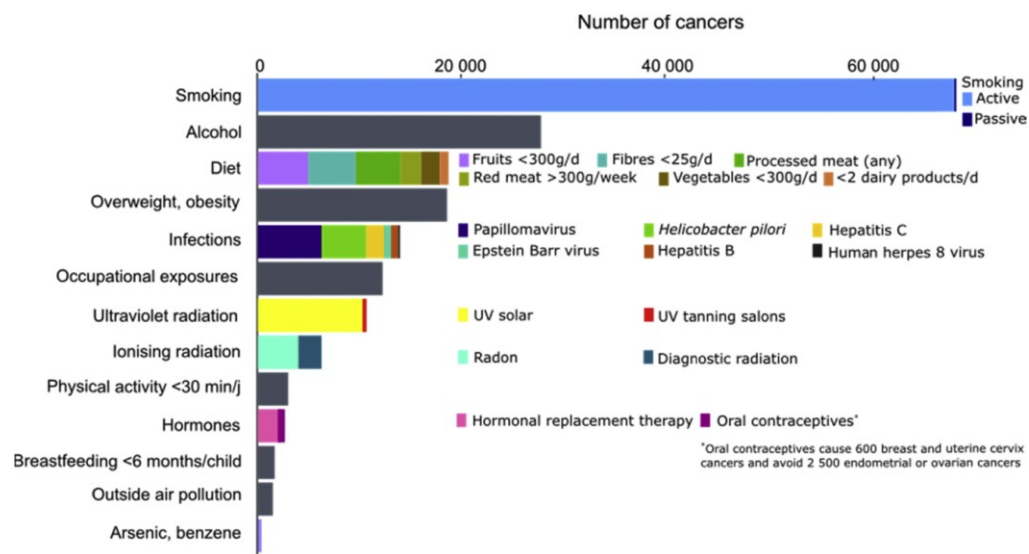
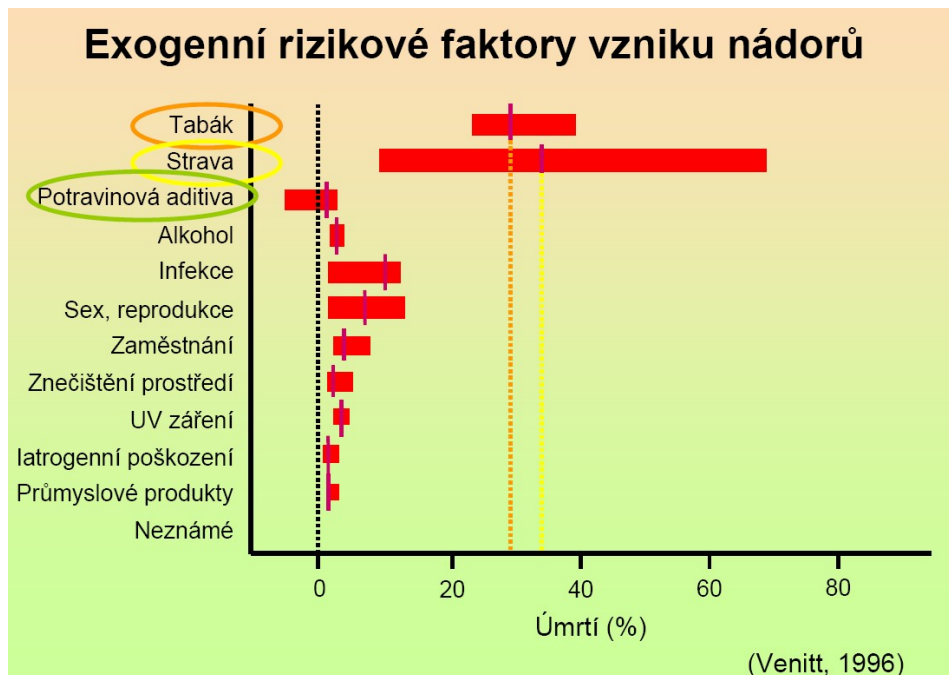
- Polychlorované bifenyly (barvy/laky)
- Dioxiny (produkty spalování organických látek)
- Benzen (rozpuštědla, motorové splodiny)

### 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



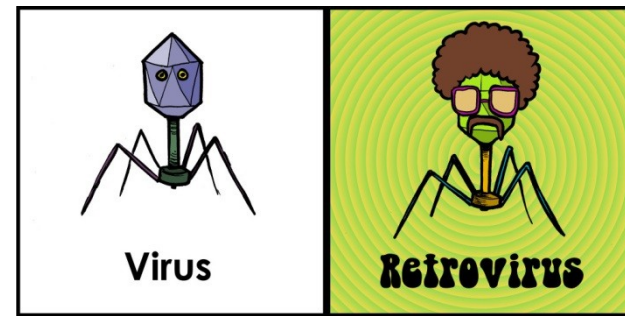
Cancers related to lifestyle and environmental factors in France in 2015

### 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)



#### Onkoviry

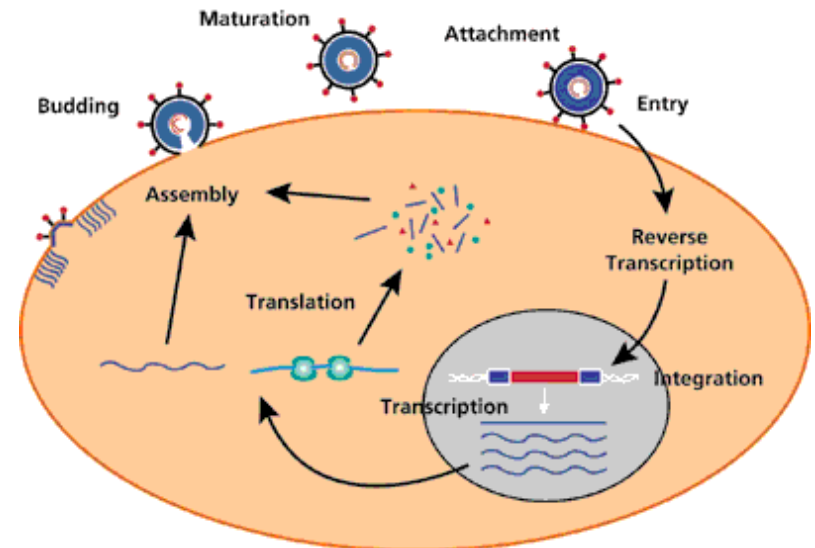
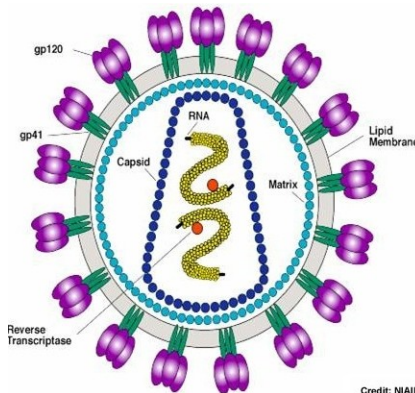
##### lidský lymfotropní virus typu I (HTLV-1)

- 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)**

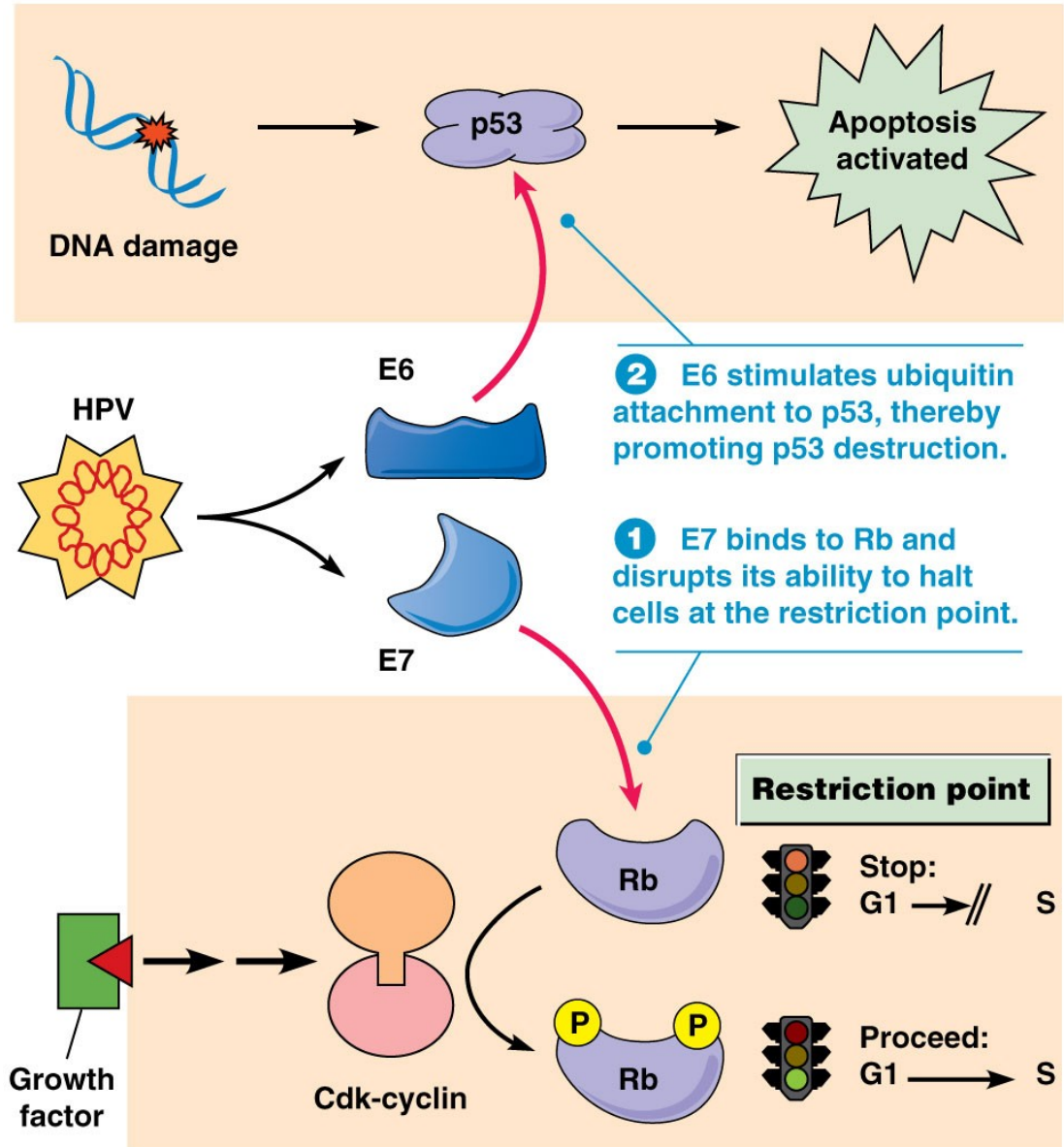
- způsobuje rakovinu děložního čípku
- v benigních nádorech – ve formě episomů, v maligních integrace do genomu
- popsáno asi 100 odlišných typů papilomavirů - dělí se na „high-risk“ a „low-risk“ typy podle prognózy



# Lidský papilomavirus ovlivňuje RB a p53

- virus produkuje **proteiny**,  
které inhibují tumor-supresory:

- E6 → p53
- E7 → RB





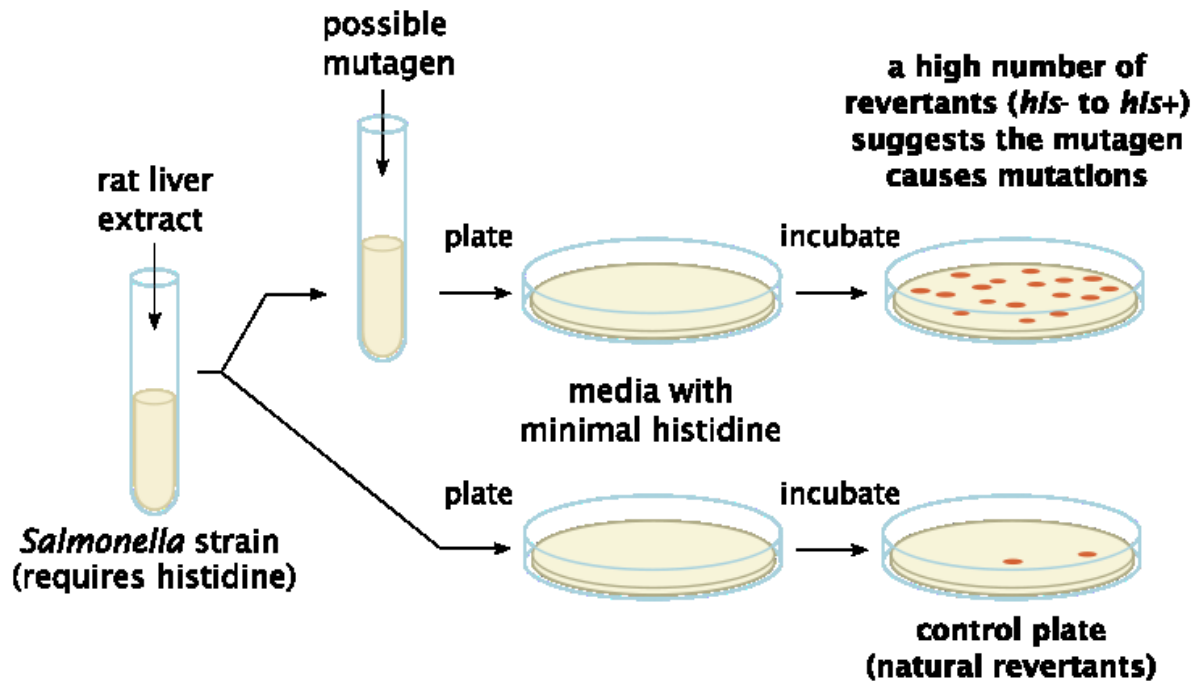
# Amesův test

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



- 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 objeví se kolonie s funkčním genem pro histidin

- čím více karcinogenní látka - tím více mutací - více kolonií

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

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

# **Pět pilířů léčby rakoviny**

**1. Chirurgie**

**2. Chemoterapie**

**3. Ozařování**

**4. Cílená terapie**

**5. Imunoterapie**

# Léčba rakoviny

## Konvenční chemoterapeutika

cílem jsou 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 (genotoxické látky, mitotické jedy, antimetabolity)

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

## Cílená terapie

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

### Nevýhody:

- není 100% specifická pro danou molekulu
- cílová molekula většinou plní i fyziologickou funkci (částečná 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, zejména 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\*

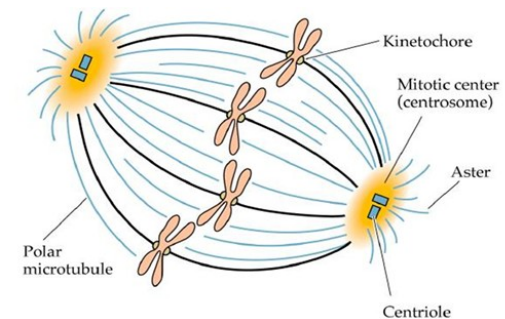
- *Doxorubicin*
  - *interkaluje mezi řetězce DNA*
  - *indukuje vznik volných radikálů*
  - *blokuje topoisomerasu II*



## 4. Rostlinné alkaloidy

blokují tvorbu vřeténka vazbou na mikrotubuly

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



*\*protinádorová antibiotika v tomto kontextu neoznačují antibakteriální látky topoisomerasa: rozmotává DNA při replikaci*

# Cílená terapie - příklady

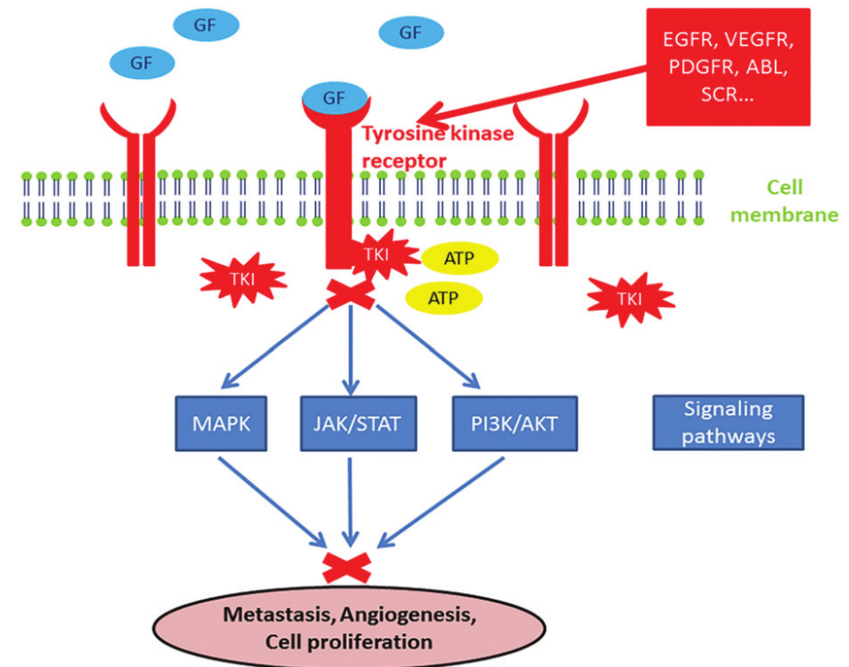
## Tyrosin kinázové inhibitory (TKIs)

- 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*

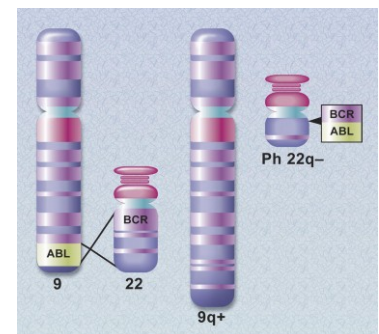
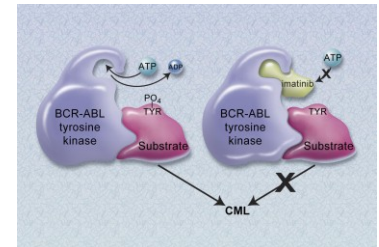
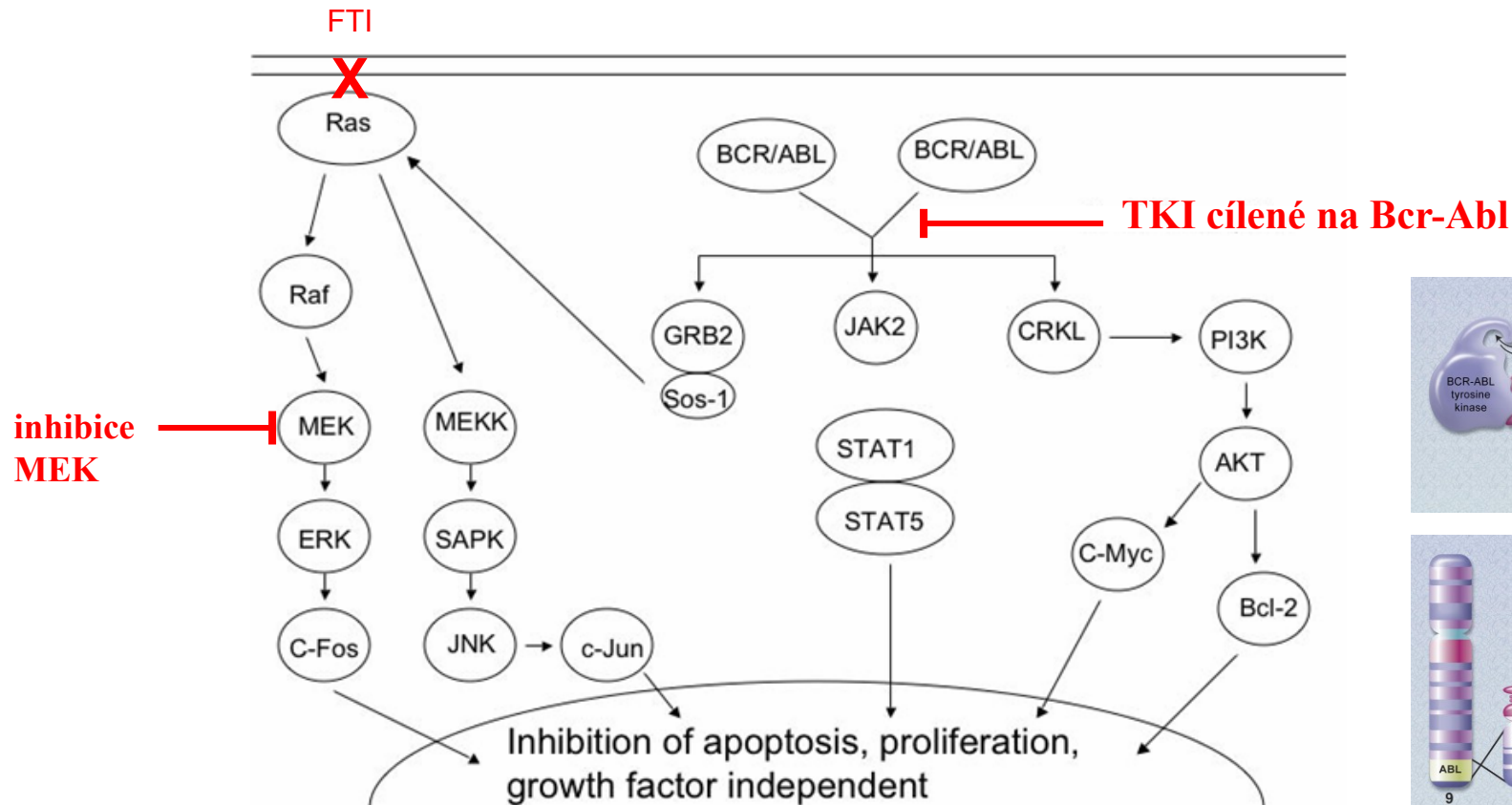


# Cílená terapie Chronické Myeloidní Leukemie (CML)

Fúzí protoonkogenu ABL a BCR vzniká abnormální gen, jehož translačním produktem je konstitutivně aktivní cytoplazmatická bcr-abl tyrozinová kináza, která narušuje řadu signálních drah a způsobuje leukemický fenotyp buňky.

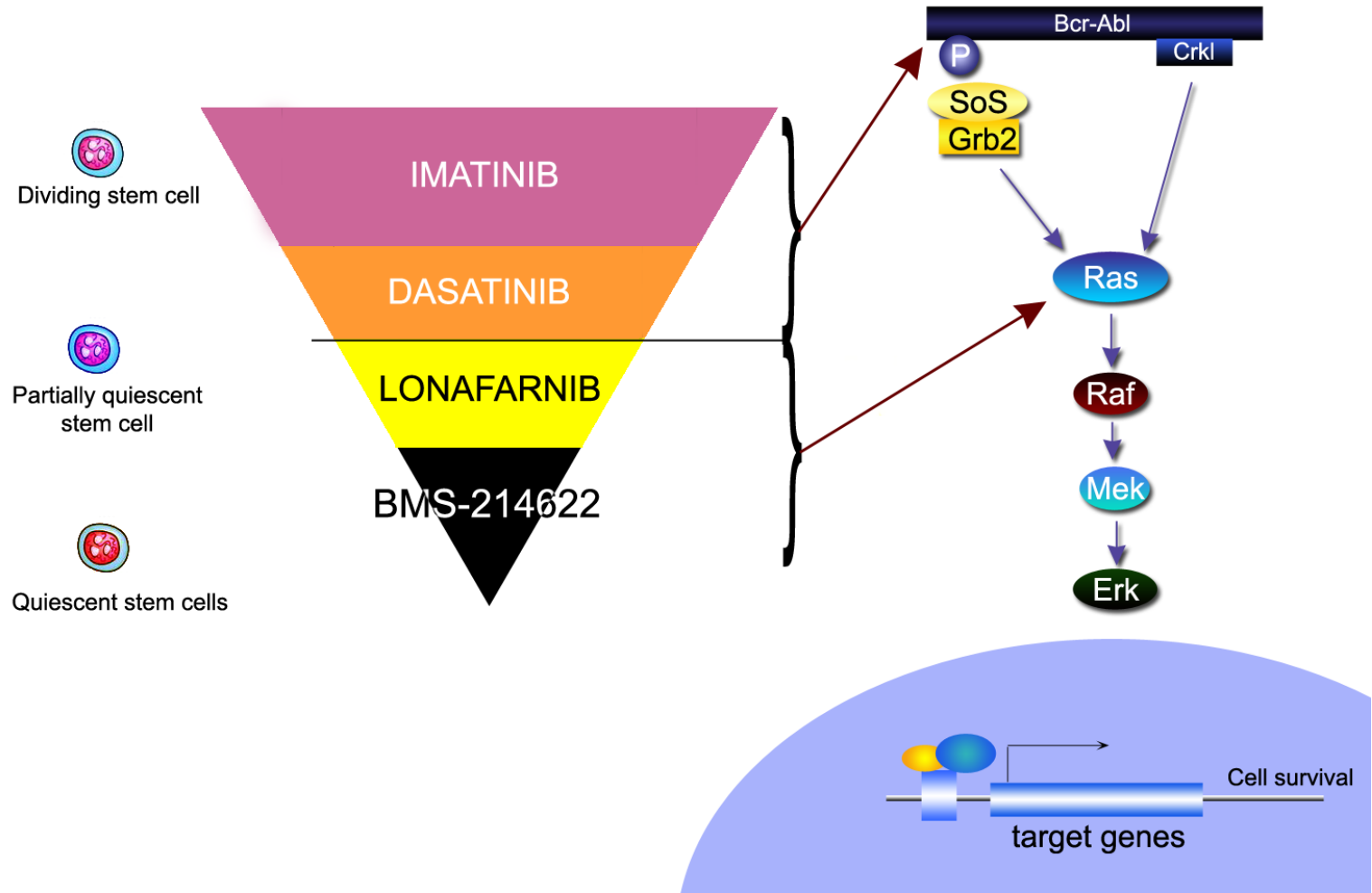
Over-exprese tyrozinkinázy Bcr-Abl v CML způsobuje:

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





# Cílená terapie CML



# Rakovinná kmenová buňka v klidovém stavu zodpovědná za relaps

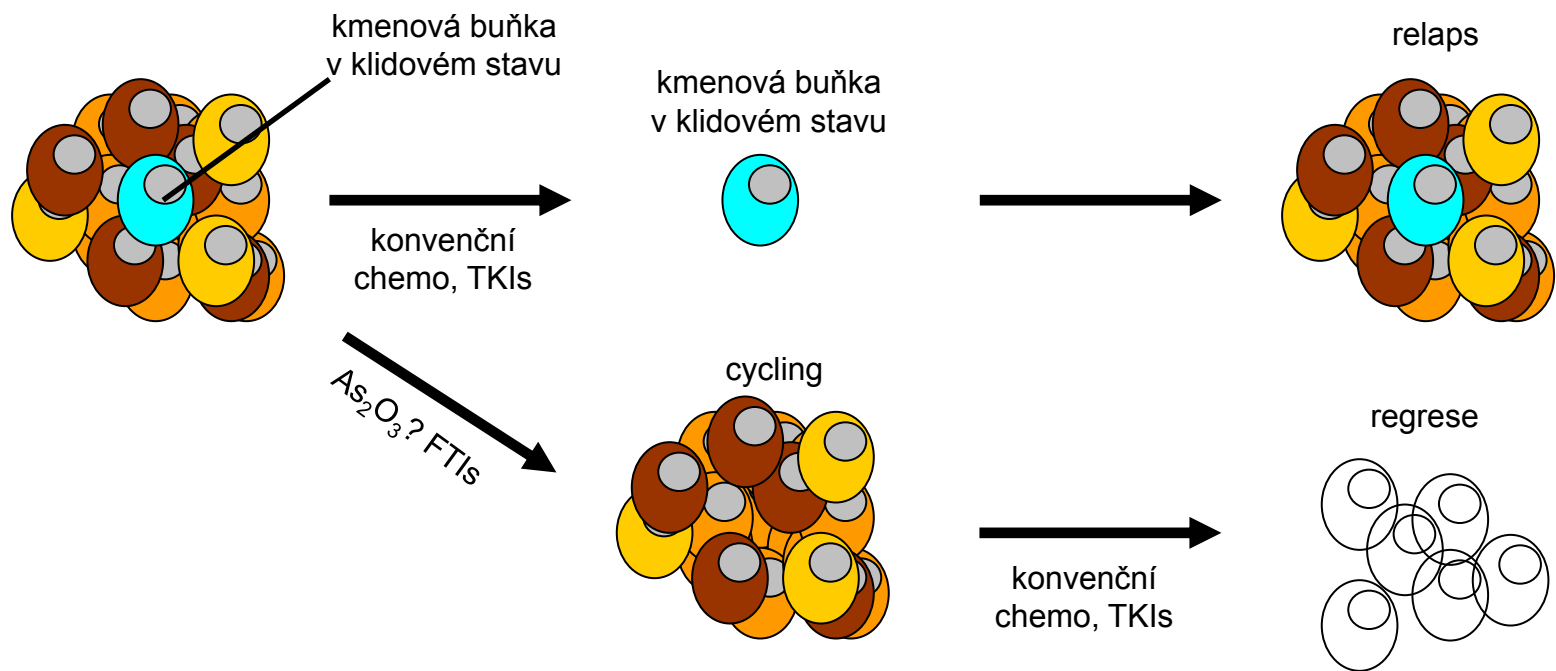
## Indukce vstupu kmenové buňky v klidovém stavu do b. cyklu

*V kombinaci s konvenční chemoterapií*

### Oxid arsenitý ( $\text{As}_2\text{O}_3$ , arsenic trioxide, 1865 Fowler solution)

- reversibilně snižuje expresi PML proteinu (klidový stav skrze represi mTOR) → indukuje kmenové buňky v klidovém stavu ke vstupu do cell cycle, bez vyvolání apoptózy
- léčba PML a CML

**cílení na leukemické buňky v klidovém stavu může být užitečnější než na proliferující b.**



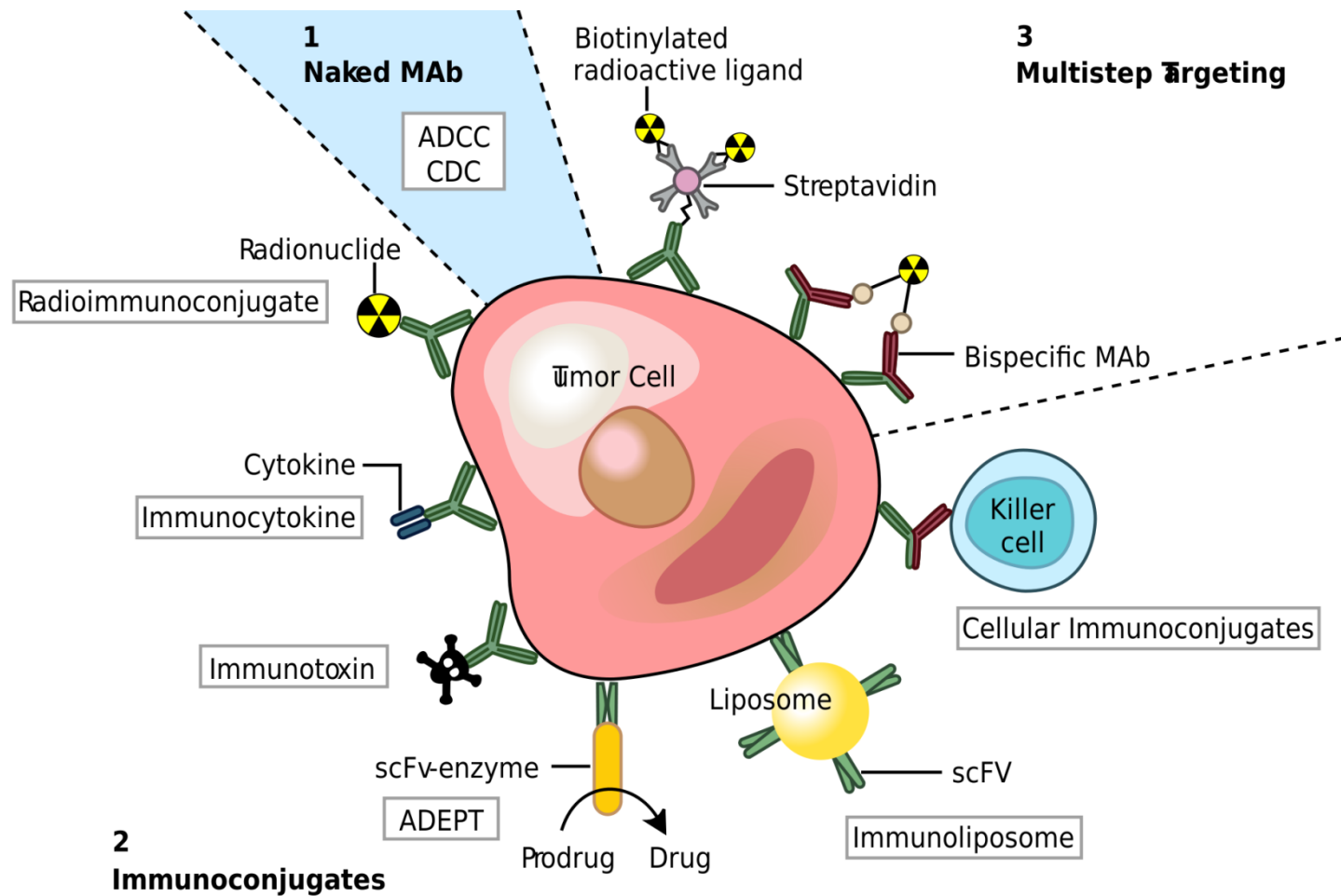
# Imunoterapie

## Monoklonální protilátky

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

a) **Naked:** po navázání mohou blokovat daný receptor, nebo aktivovat buňky imunitního systému

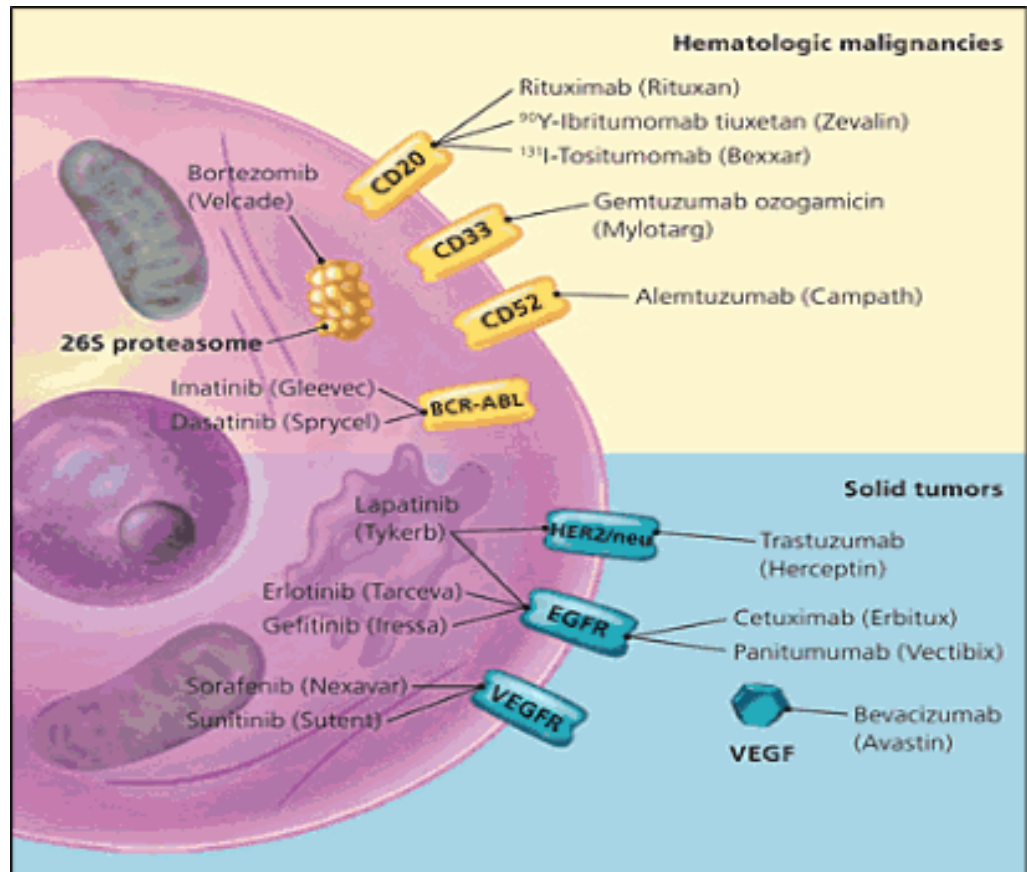
b) **Konjugované:** s toxinem, radioizotopem, cytokinem



# Imunoterapie

## Monoklonální protilátky

- *Herceptin - anti-HER-2 (rakovina prsu - 30% amplifikace genu pro receptor HER-2)*
  - *účinnou složkou je sloučenina trastuzumab*
- *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.*



## 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 antiproliferačním 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
autokrinní TGF	- sarkom
autokrinní 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