

**Regulace smrti nádorových buněk
tlustého střeva a prostaty,
kombinovaná terapie jako účinná
strategie pro eliminaci nádorových buněk
(TRAIL + chemoterapie)**

RNDr. Alena Hyršlová Vaculová, Ph.D.

Oddělení cytokinetiky

Biofyzikální ústav AV ČR, v.v.i.

Brno

Apoptóza

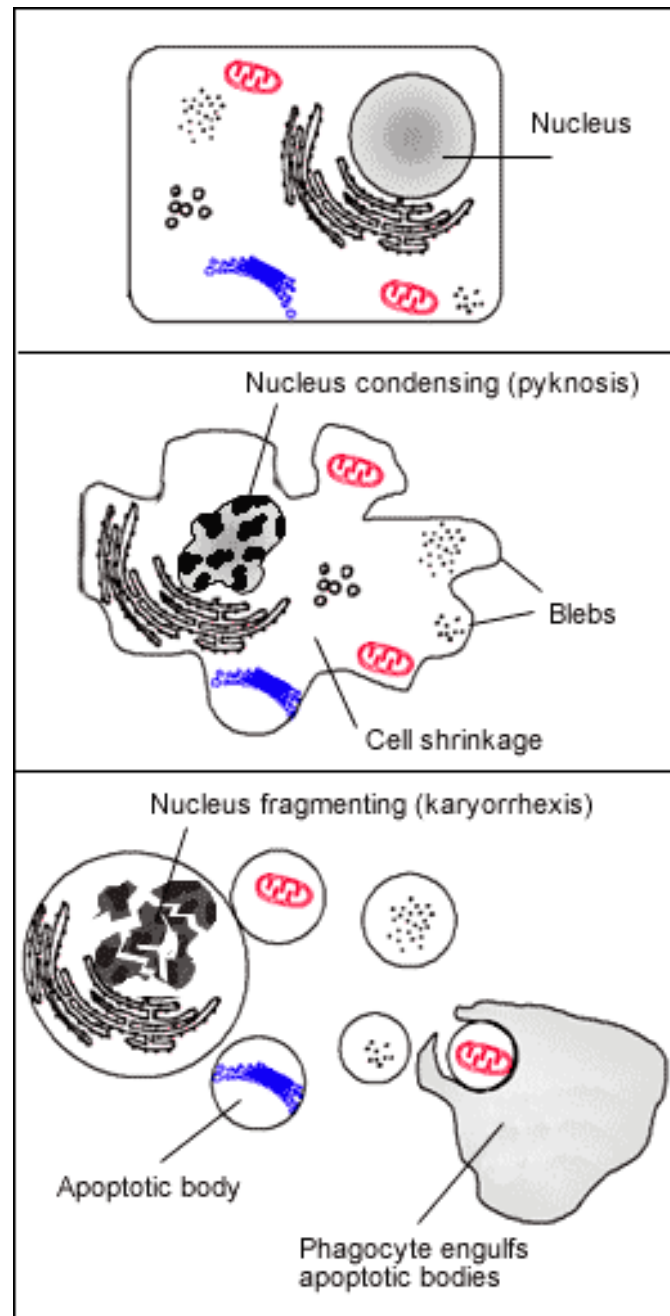
geneticky kontrolovaný komplexní proces programované buněčné smrti, cílená sebedestrukce buňky

obrovský význam ve vývoji a udržení homeostáza mnohobuněčného organismu

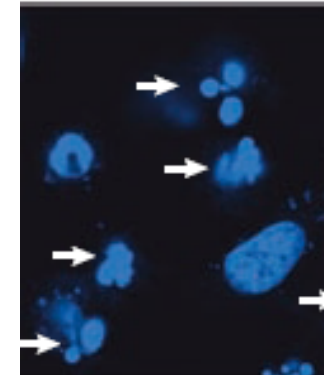
Eliminace nepotřebných, poškozených, nebezpečných, mutovaných či jinak pozměněných buněk za účelem udržení homeostázy mnohobuněčného organismu

Hlavní morfologické znaky apoptózy

- bobtnání cytoplazmatické membrány, integrita membrány není porušena
- zmenšení velikosti buňky
- kondenzace a specifická fragmentace jaderného chromatinu
- udržení integrity intracelulárních organel
- formace tzv. apoptotických bodies



Hoechst



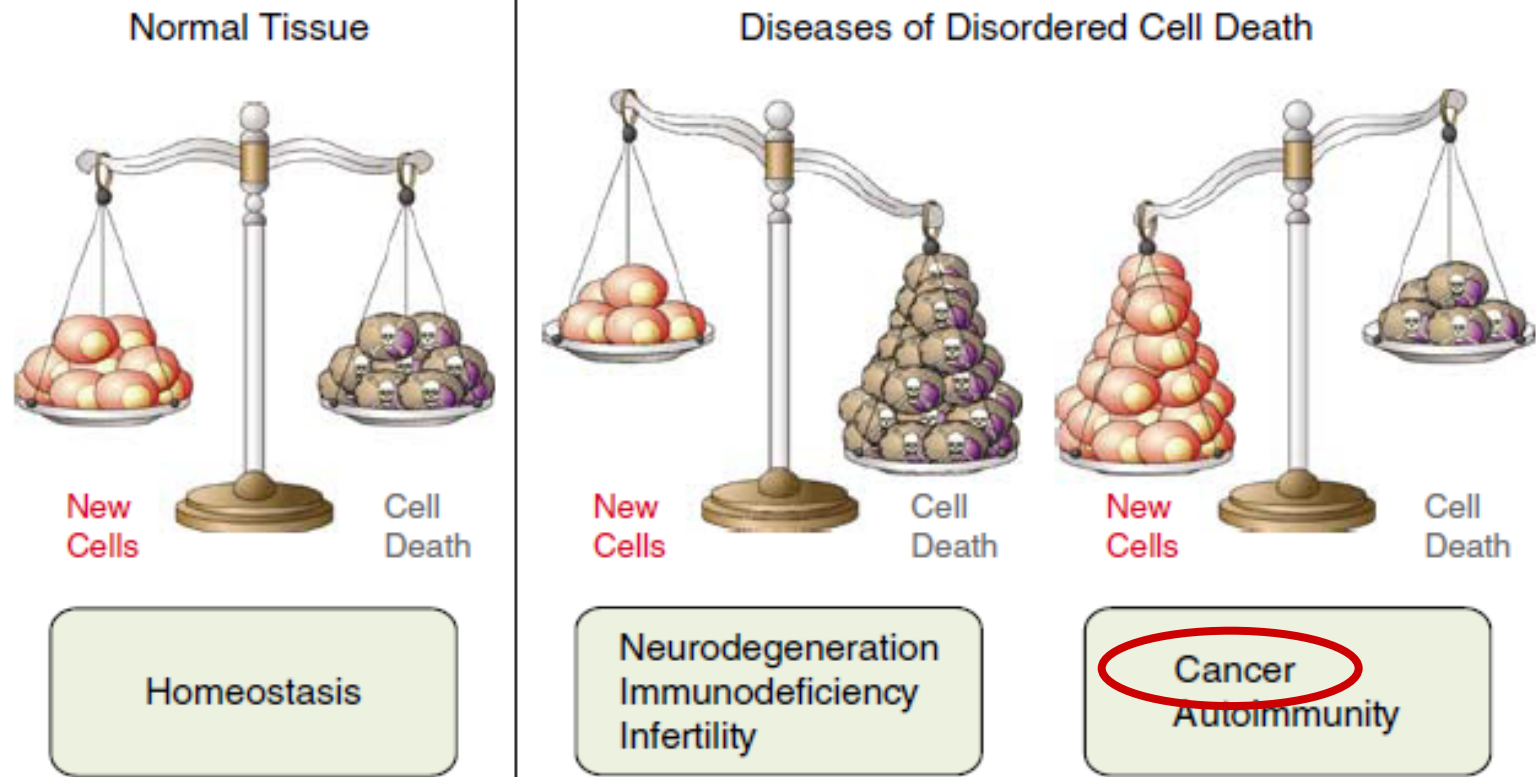
Hlavní biochemické znaky apoptózy

- Aktivace specifických enzymů
 - Proteázy - **kaspázy**, štěpení strukturně a funkčně důležitých proteinů v buňce
 - **Nukleázy** - specifická fragmentace jaderné DNA
- Aktivace/relokalizace specifických proteinových **regulačních molekul**
- Nutné dodání energie ve formě **ATP**
- **Změny symetrie membrán**

Apoptóza versus proliferace

- Pro udržení homeostázy organismu je nutná **dokonalá rovnováha** mezi procesy proliferace a apoptózy
- Porušení této rovnováhy má dalekosáhlé důsledky, které se odrazí na zdraví organismu
- Obzvláště nutné pro intenzívné proliferující tkáně (krev, střevo...)

Deregulated cell death pathways disrupt the balance, resulting in diseases of premature cell loss or excessive cell survival



(Walensky, 2006)

Hyršlová Vaculová A., 2013

Apoptóza a nádorová onemocnění

- Charakteristický znak nádorových buněk - deregulace apoptózy - omezení spontánní apoptózy, rezistence k působení induktorů apoptózy („chybný apoptotický program“)
- Nádorová onemocnění - nejvíce zkoumaný typ onemocnění v souvislosti s defekty apoptózy
- Strategie protinádorová terapie - cílené spuštění apoptózy, **eliminace nádorových buněk**, bez poškození okolní zdravé tkáně organismu

Cell death research field

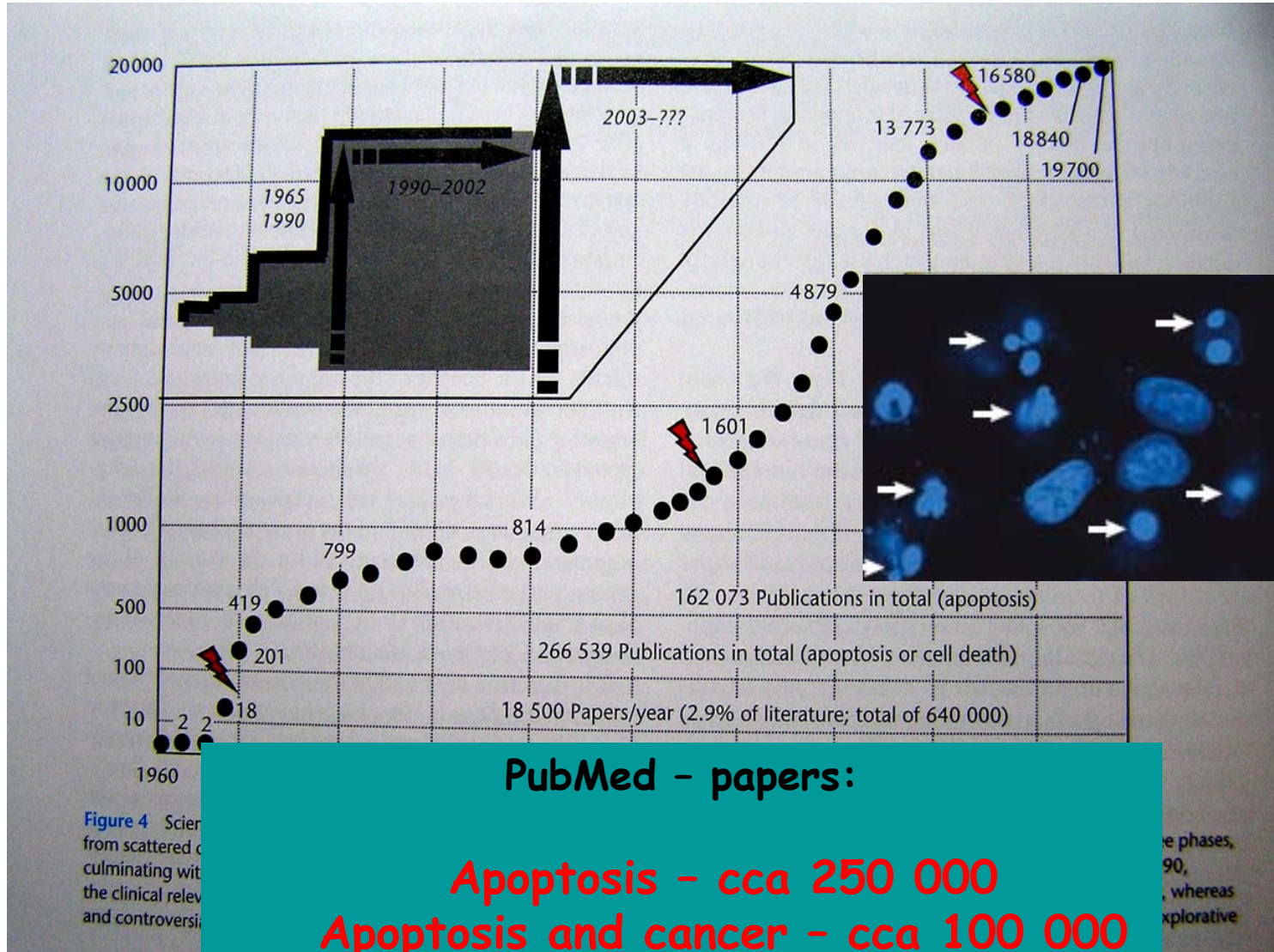


Figure 4: Science from scattered culminating with the clinical relevance and controversy

the phases, 90, whereas explorative

Protinádorová terapie

- Hlavní problémy současné protinádorové terapie:
 - Omezená selektivita, výrazné poškození zdravých tkání organismu
 - Rezistence nádorových buněk

Využití **selektivních induktorů** vnější apoptotické dráhy - velmi slibné, hlavní kandidát - **TRAIL**

Aplikace TRAILu - atraktivní biologický cílený přístup v protinádorové terapii

Výhodné vlastnosti - selektivita pro nádorové buňky, nízká toxicita pro zdravé buňky organismu, ale:

Poslední dobou se ukazuje, že řada nádorových buněk je rezistentní k apoptóze indukované TRAILem

popis signálních drah TRAILu je proto velmi důležitý pro pochopení mechanismu působení a pro

správné zacílení protinádorové terapie

Chemoterapeutické látky na bázi platiny

- platinová cytostatika úspěšně používána při léčbě nádorových onemocnění více než 30 let, mechanismus jejich biochemického účinku je však stále ne zcela objasněn
 - Cisplatina, oxaliplatina, karboplatina, nové deriváty...
- Většina těchto látek působí převážně na buňky, které rostou a dělí se, což však nejsou jen buňky nádoru, ale i buňky zdravých tkání
 - Řada nežádoucích vedlejších účinků
 - Omezení selektivita

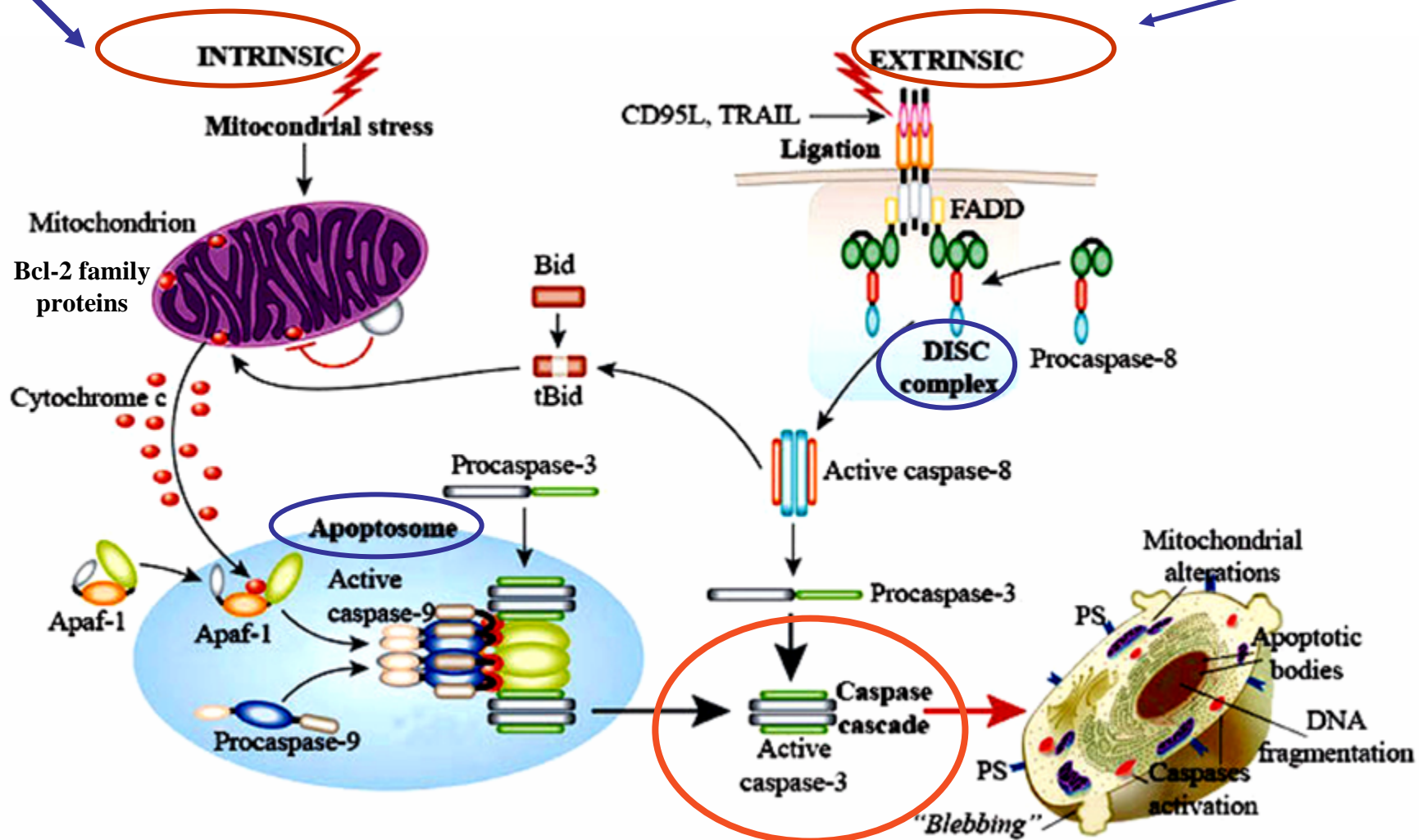
Mechanismus působení - poškození DNA i jiných struktur buňky, aktivace signálních drah buněčné smrti...

V řadě případů se však ukazuje,
že **monoterapie** využívající
TRAIL je **nedostačující** - velká
šance ve využití
kombinované terapie -
TRAIL + chemoterapeutické látky

Dvě hlavní dráhy aktivace kaspáz a spuštění apoptózy

Chemotherapeutic drugs

TRAIL



Apoptóza vs. léčba nádorového onemocnění

- Možnost spustit apoptózu nádorové buňky je základní podmínkou úspěšné protinádorové terapie
- Řada nádorových buněk je však vůči apoptóze rezistentní
- Je nutné objasnit mechanismy rezistence a překonat ji
 - nová léčiva, **kombinovaná terapie**

Cílené spuštění apoptózy - efektivní a klíčová strategie protinádorové terapie

Používané metody

- **Metody buněčné a molekulární biologie, biochemie a analytické cytometrie**
 - Speciální kultivace buněčných linií
 - Průtoková cytometrie
 - Fluorescenční, konfokální mikroskopie
 - Elektroforéza, western blotting
 - Buněčné transfekce, siRNA, overexpresní studie
 - Biochemické testy
 - PCR, reportérové vektory...
 - A mnohé další....

Význam našeho studia

- Snaha pochopit a popsat molekulární **mechanismy**, které jsou zodpovědné za rezistenci nádorových buněk k apoptóze a používané chemoterapii
- Najít **nové účinné látky**, které by zcitlivěly nádorové buňky a apoptóze
- Popsat mechanismus působení těchto látek a otestovat **jejich účinky** na buňkách nádorových a normálních
- Využít výhod **kombinované terapie** a popsat její efekty s ohledem na úspěšnou aplikaci v protinádorové terapii

Děkuji za pozornost!

Vaše dotazy, připomínky a zájem o spolupráci směřujte na adresu:

RNDr. Alena Hyršlová Vaculová, Ph.D.

vaculova@ibp.cz