



Nádory kolonu a rektu

Střevní epitel

Genetické základy vzniku nádoru

Epigenetika a neogenotoxické faktory

Cytokiny a signální dráhy

Metabolismus kyseliny arachidonové

Nesteroidní antiflogistika (NSAIDs)

Nádory kolonu a rektu (CRC)

Výskyt:

- industrializované země (životní styl, výživa)
- ČR (třetí nejčastější příčina úmrtí na rakovinu)
- věková distribuce (muži nárůst případů od 60 let; ženy od 70 let)

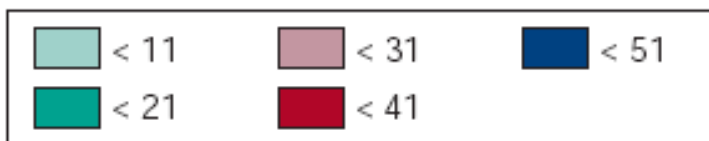
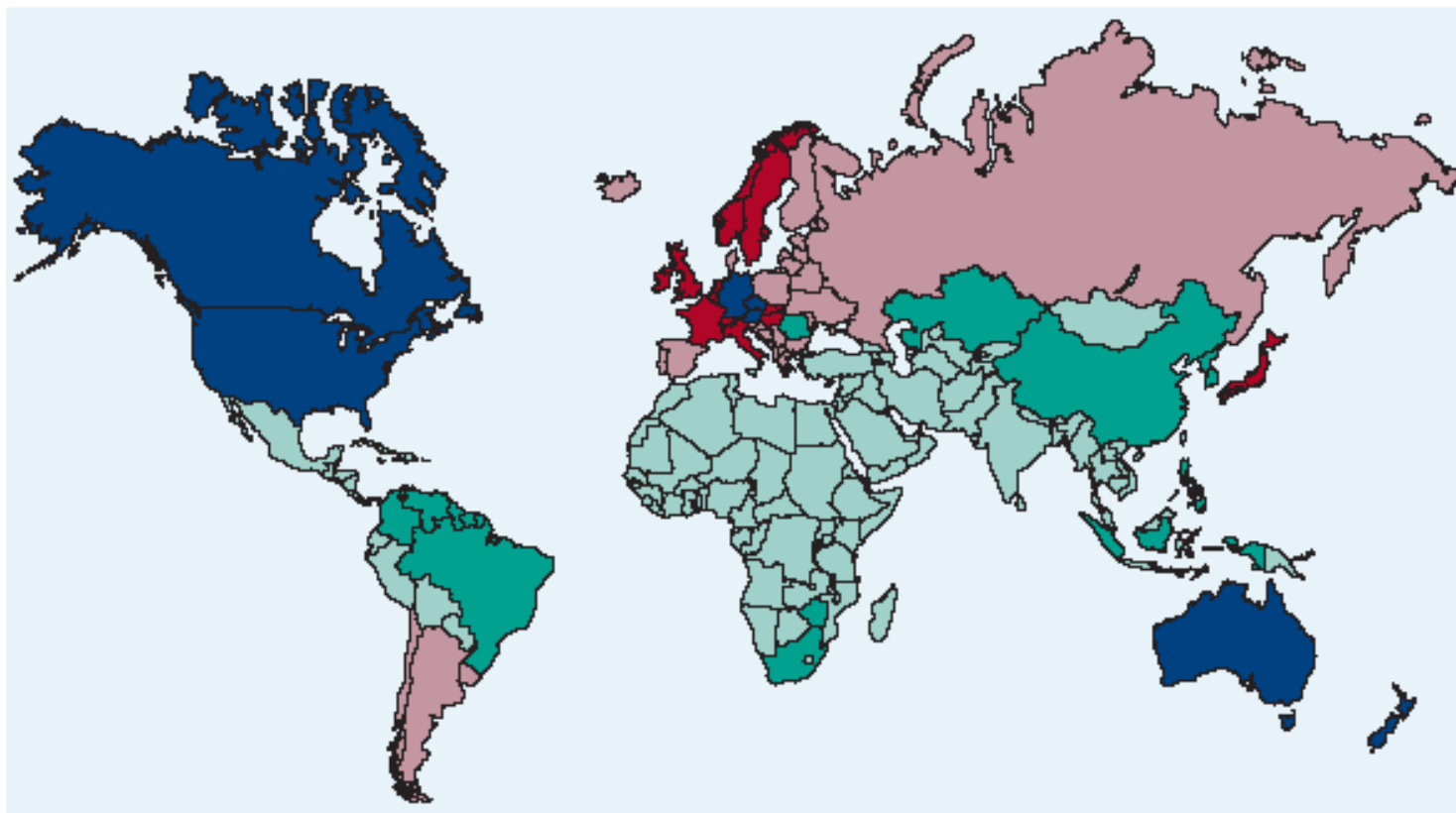
Epitel kolorekta – sebobnovná intenzívně proliferující buněčná populace – náchylná ke změnám

Kolorektální karcinogeneze

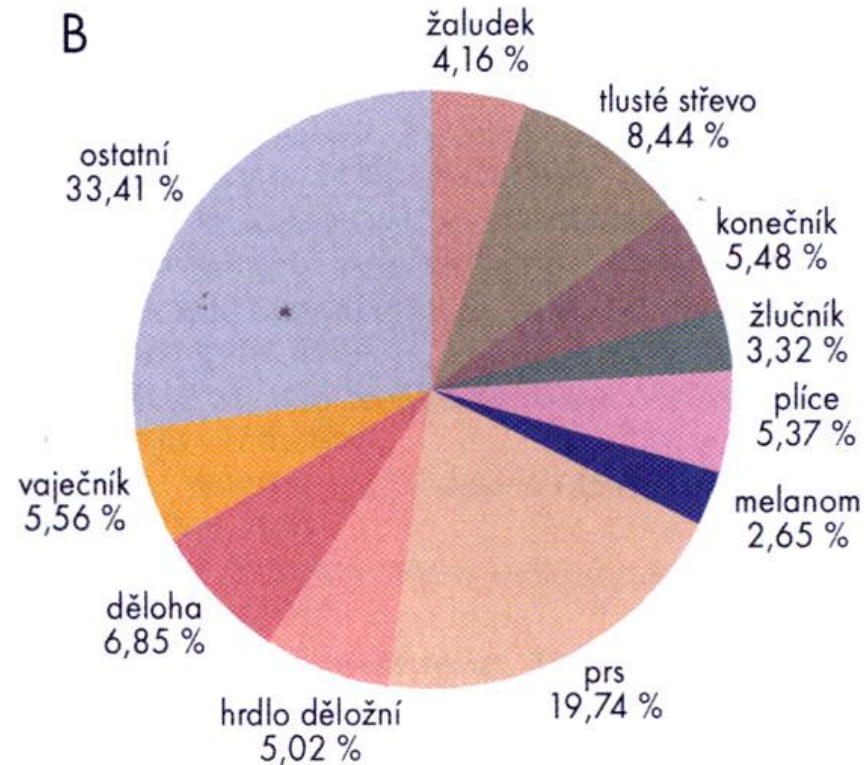
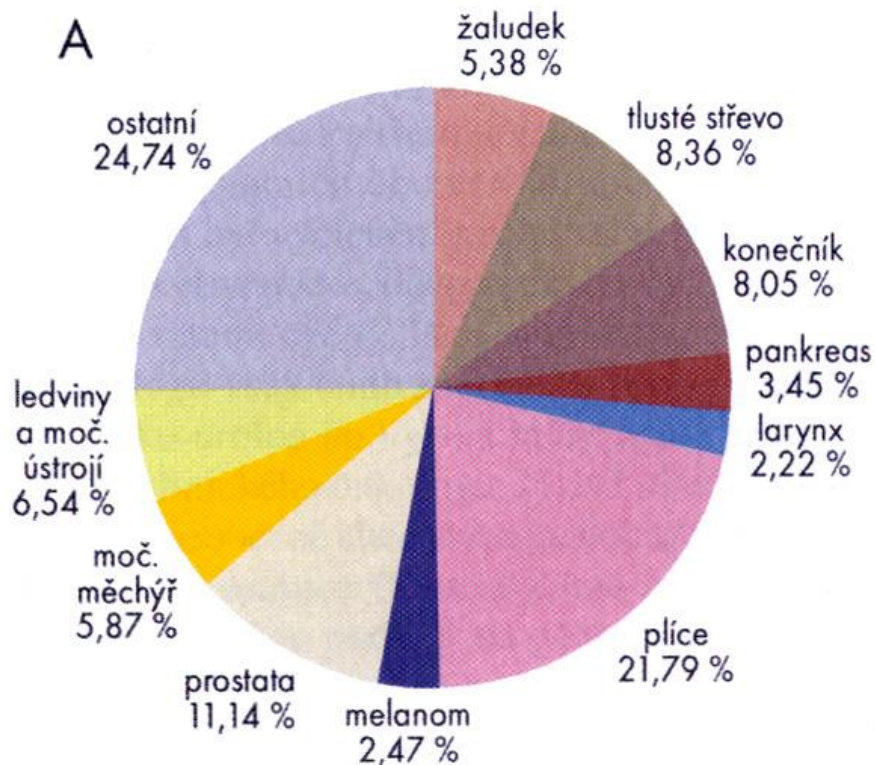
porušení rovnováhy mezi proliferací a diferenciací v kryptě
hyperproliferativní krypta, adenom, adenokarcinom, karcinom, metastázy

Nejvyšší výskyt CRC v průmyslově vyspělých zemích (Kanada, USA, Evropa, Austrálie)

a Incidence rates of colorectal cancer



Struktura incidence nádorů v České republice



Struktura hlášených onemocnění novotvary bez dg. C44. A – muži; B – ženy (podle ÚZIS)

Nádory kolonu a rekta Dg. C18 - C21

ZDRAVOTNICKÁ ROČENKA ČR 2009 / CZECH HEALTH STATISTICS 2009

2.1.1 Hlášená onemocnění zhoubnými novotvary (rok 2007) – muži

Notified cases of malignant neoplasms (year 2007) – males

1/2

Věková skupina	Kód diagnózy (MKN010)								
	C16	C18	C19	C20	C21	C25	C32	C33	C34
	absolutně								
0-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10-14	-	1	-	-	-	-	-	-	-
15-19	-	1	-	-	-	-	-	-	-
20-24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25-29	2	2	-	1	-	1	-	-	1
30-34	3	7	1	7	-	3	1	-	6
35-39	10	18	-	13	1	5	1	-	15
40-44	20	28	11	22	-	15	8	-	25
45-49	33	56	19	35	3	31	31	-	95
50-54	59	120	29	111	2	63	54	3	310
55-59	97	246	78	208	12	114	116	1	689
60-64	131	376	120	267	7	173	97	-	990
65-69	139	376	106	209	5	131	66	2	757
70-74	144	471	95	204	2	145	41	3	683
75-79	138	450	93	165	6	153	25	-	591
80-84	99	285	81	92	2	94	14	-	349
85+	63	123	20	50	1	36	10	-	110
Celkem	938	2 560	653	1 384	41	964	464	9	4 621
	na 100 000 mužů								
0-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10-14	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-
15-19	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-
20-24	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25-29	0,5	0,5	-	0,2	-	0,2	-	-	0,2
30-34	0,6	1,5	0,2	1,5	-	0,6	0,2	-	1,3
35-39	2,7	4,8	-	3,5	0,3	1,3	0,3	-	4,0
40-44	5,5	7,8	3,0	6,1	-	4,2	2,2	-	6,9
45-49	10,1	17,1	5,8	10,7	0,9	9,5	9,5	-	29,1
50-54	15,7	32,0	7,7	29,6	0,5	16,8	14,4	0,8	82,6
55-59	25,8	65,5	20,8	55,3	3,2	30,3	30,9	0,3	183,3
60-64	42,1	120,9	38,6	85,8	2,3	55,6	31,2	-	318,2
65-69	67,0	181,3	51,1	100,8	2,4	63,2	31,8	1,0	365,0
70-74	94,0	307,4	62,0	133,1	1,3	94,6	26,8	2,0	445,7
75-79	111,4	363,1	75,1	133,2	4,8	123,5	20,2	-	476,9
80-84	136,2	392,0	111,4	126,5	2,8	129,3	19,3	-	480,0
85+	194,5	379,7	61,7	154,3	3,1	111,1	30,9	-	339,6
Celkem	18,6	50,7	12,9	27,4	0,8	19,1	9,2	0,2	91,5
Celkem 1990	24,8	29,1	9,1	20,6	1,1	15,5	8,8	4,0	95,6
Celkem 1995	24,0	38,1	11,4	23,9	0,6	14,4	9,2	0,3	94,9
Celkem 2000	20,1	46,5	11,8	27,1	0,6	16,0	8,7	0,2	92,0
	Standardizovaná úmrtnost na 100 000 mužů								
Na evropský standard	12,8	22,4	5,6	12,1	0,6	16,1	4,1	0,2	71,0
Na světový standard	8,4	14,2	3,6	7,8	0,4	10,7	2,9	0,2	48,0

2.1.2 Hlášená onemocnění zhoubnými novotvary (rok 2007) – ženy
Notified cases of malignant neoplasms (year 2007) – females

1/2

Věková skupina	Kód diagnózy (MKN010)								
	C16	C18	C19	C20	C21	C23	C24	C33	C34
	absolutně								
0-4	-	-	-	-	-	-	-	-	1
5-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10-14	-	1	-	-	-	-	-	-	-
15-19	-	2	-	-	-	-	-	-	-
20-24	-	1	-	-	-	-	-	-	1
25-29	3	4	-	4	-	-	1	-	-
30-34	6	9	-	4	2	-	-	-	5
35-39	12	10	6	8	-	2	1	-	9
40-44	11	29	4	18	1	1	1	-	24
45-49	14	45	9	24	4	7	4	-	37
50-54	38	81	22	55	10	14	6	-	149
55-59	52	148	45	75	14	34	10	-	218
60-64	78	227	53	91	9	48	19	-	317
65-69	62	224	70	103	9	46	20	-	234
70-74	77	252	69	105	12	71	35	2	267
75-79	116	350	69	126	10	65	41	1	228
80-84	103	319	60	97	8	82	37	-	161
85+	89	206	32	51	1	56	29	-	108
Celkem	661	1 908	439	761	80	426	204	3	1 759
	na 100 000 žen								
0-4	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4
5-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10-14	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-
15-19	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-
20-24	-	0,3	-	-	-	-	-	-	0,3
25-29	0,8	1,0	-	1,0	-	-	0,3	-	-
30-34	1,3	2,0	-	0,9	0,4	-	-	-	1,1
35-39	3,4	2,8	1,7	2,3	-	0,6	0,3	-	2,5
40-44	3,2	8,4	1,2	5,2	0,3	0,3	0,3	-	6,9
45-49	4,4	14,1	2,8	7,5	1,3	2,2	1,3	-	11,6
50-54	10,0	21,2	5,8	14,4	2,6	3,7	1,6	-	39,0
55-59	13,1	37,2	11,3	18,8	3,5	8,5	2,5	-	54,8
60-64	22,2	64,7	15,1	25,9	2,6	13,7	5,4	-	90,4
65-69	24,4	88,1	27,5	40,5	3,5	18,1	7,9	-	92,1
70-74	36,1	118,3	32,4	49,3	5,6	33,3	16,4	0,9	125,3
75-79	57,4	173,3	34,2	62,4	5,0	32,2	20,3	0,5	112,9
80-84	68,6	212,5	40,0	64,6	5,3	54,6	24,6	-	107,2
85+	102,8	237,9	37,0	58,9	1,2	64,7	33,5	-	124,7
Celkem	12,5	36,2	8,3	14,4	1,5	8,1	3,9	0,1	33,3
Celkem 1990	17,8	28,1	6,6	11,1	1,3	9,5	3,5	0,6	15,4
Celkem 1995	17,4	33,9	8,9	13,7	0,6	10,1	3,2	0,1	21,4
Celkem 2000	14,3	35,9	8,1	14,4	0,8	9,3	3,9	0,1	26,1
	Standardizovaná úmrtnost na 100 000 žen								
Na evropský standard	6,3	12,0	2,6	4,6	0,3	4,2	2,4	0,1	19,1
Na světový standard	4,0	7,5	1,7	2,9	0,2	2,7	1,5	0,0	12,9

Incidence nádorů ve Velké Británii

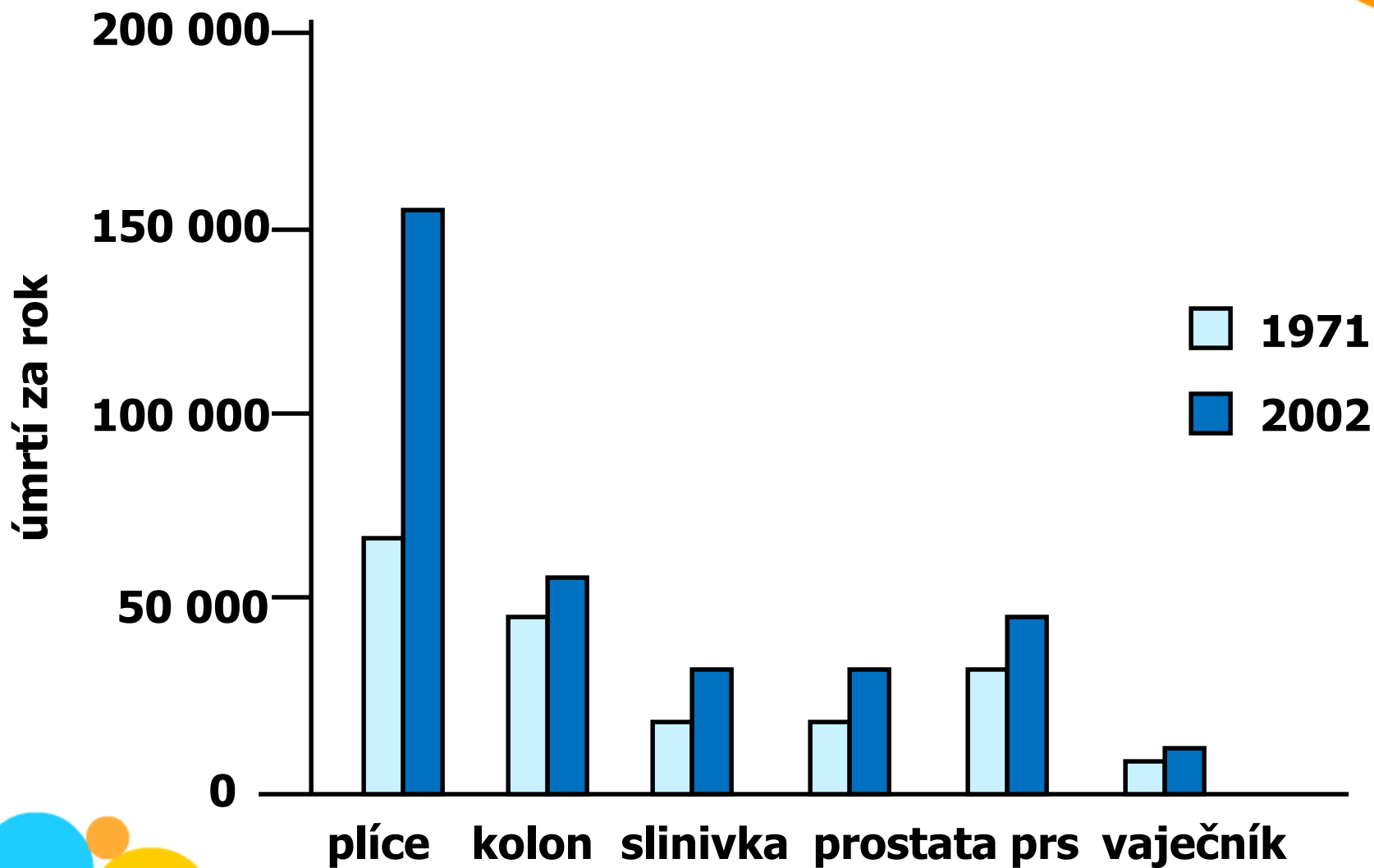
UK mortality 2007: Males

Lung	19,637	(24%)
Prostate	10,239	(13%)
Colorectal	8,474	(10%)
Oesophagus	4,805	(6%)
Pancreas	3,742	(5%)
Bladder	3,283	(4%)
Stomach	3,267	(4%)
Leukaemias	2,492	(3%)
Non-hodgkin lymphoma	2,443	(3%)
Kidney	2,299	(3%)
Other	20,226	(25%)

UK mortality 2007: Females

Lung	14,872	(20%)
Breast	11,990	(16%)
Colorectal	7,533	(10%)
Ovary	4,317	(6%)
Pancreas	3,985	(5%)
Oesophagus	2,548	(3%)
Non-Hodgkin lymphoma	2,090	(3%)
Stomach	1,969	(3%)
Leukaemias	1,858	(2%)
Uterus	1,659	(2%)
Other	21,756	(29%)

Celková úmrtnost na rakovinu v USA podle typu



Incidence a mortalita kolorektálních nádorů u mužů v EU

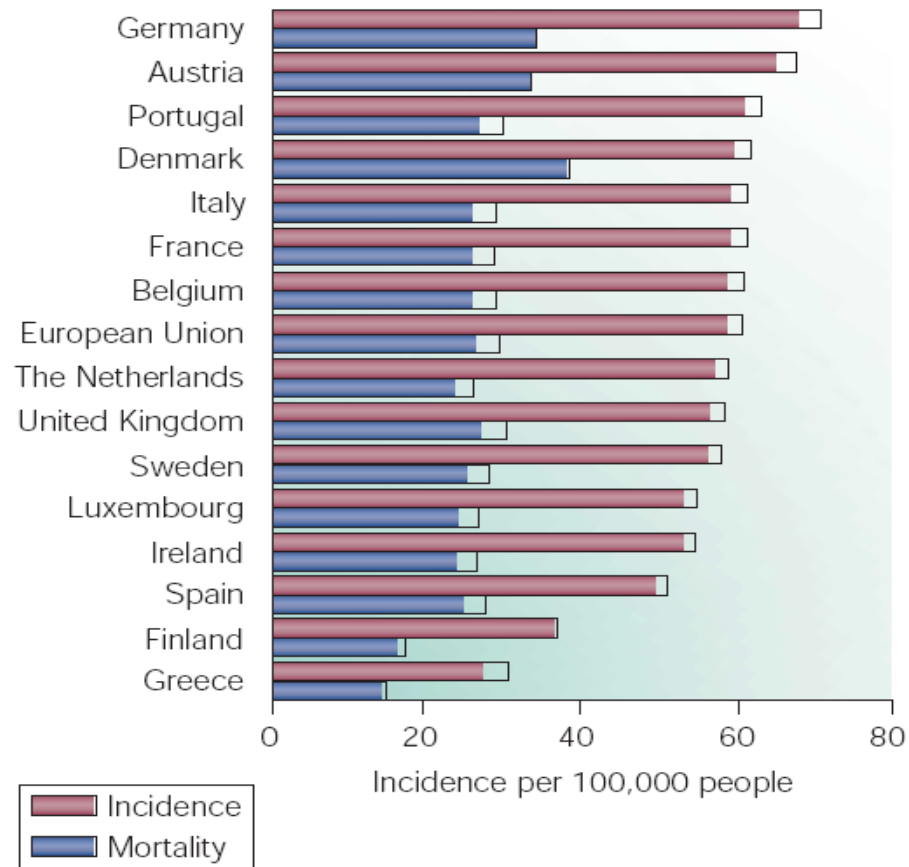


Figure 1 | **Colorectal cancer incidence in males in the European Union.** Rates of colorectal cancer by incidence, per 100,000 people, and mortality during 1996. Data were collected from Eucan — a service that provides data on the incidence and mortality of 24 key cancers in 15 member states of the European Union².

Střevní epitel

Sebeobnovná tkáň s unikátní topologií – dvourozměrná struktura: **Proliferativní krypty a diferencované klky (villi)**. Jednovrstevná bariera mezi lumen a vnitřním prostředím.

Tenké střevo – krypty – dolní část – kmenové a Panethovy buňky, proliferující „transit-amplifying“ diferencující se buňky postupují k vrcholu, klky z diferencovaných buněk na vrcholu se odlupujících.

Tlusté střevo – nejsou klky, na dně krypt kmenové buňky (nejsou zde P. buňky), 2/3 krypty proliferující buňky, 1/3 diferencované b. na konci se odlupují do lumenu (apoptóza – anoikis).

2 hlavní linie buněk:

Enterocyty - absorbtivní linie, nejpočetnější

Sekreční linie: goblet buňky (sekretují protektivní muciny – přibývají směrem ke kolonu)

Enteroendokrinní buňky (asi 1%, sekretují hormony – serotonin, sekretin)

Panethovy buňky – jen v tenkém střevě – sekretují antimikrobiální látky – kontrola mikrobiálního obsahu ve střevě.

Aktivní migrace buněk doprovázená diferenciací a odlupováním do lumenu 3-5 dní

Příčný řez částí stěny střeva

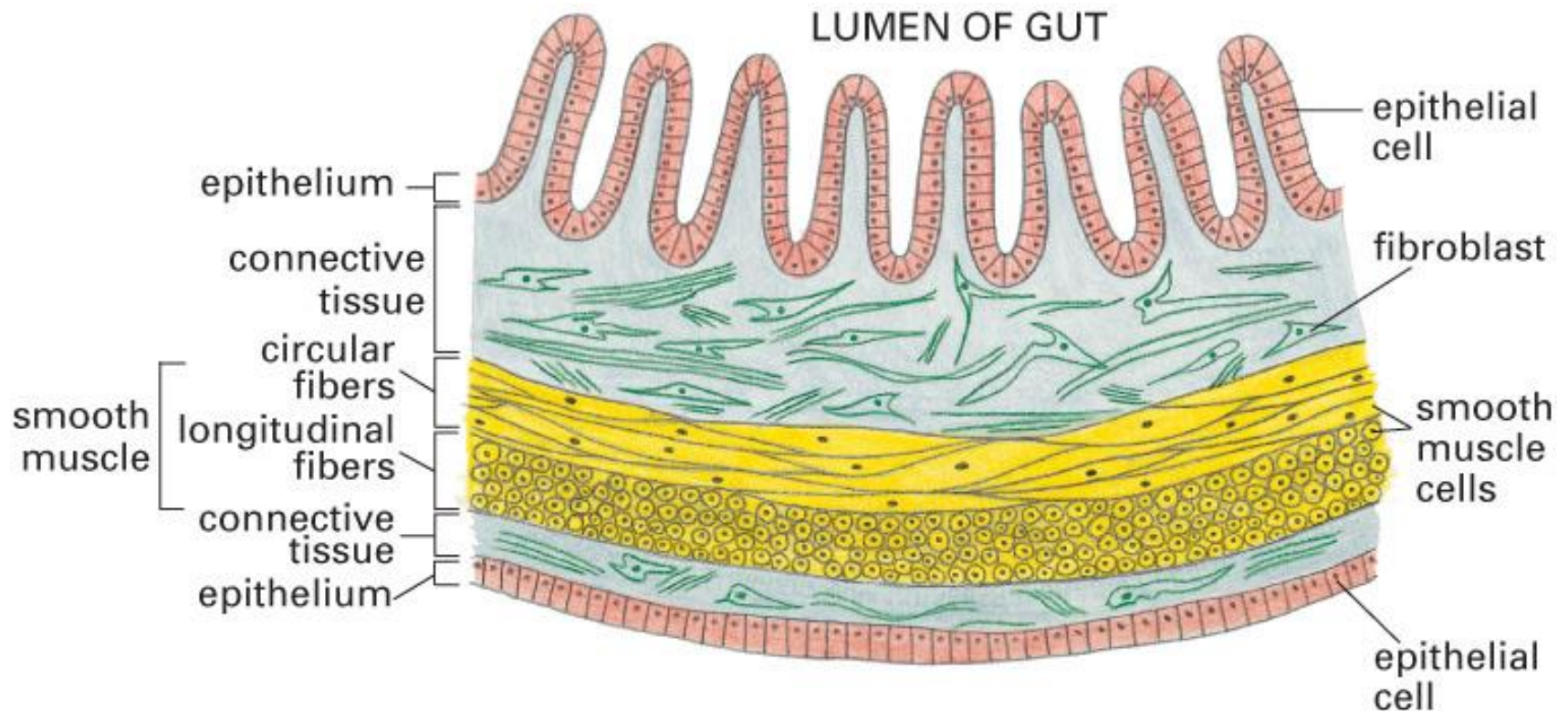
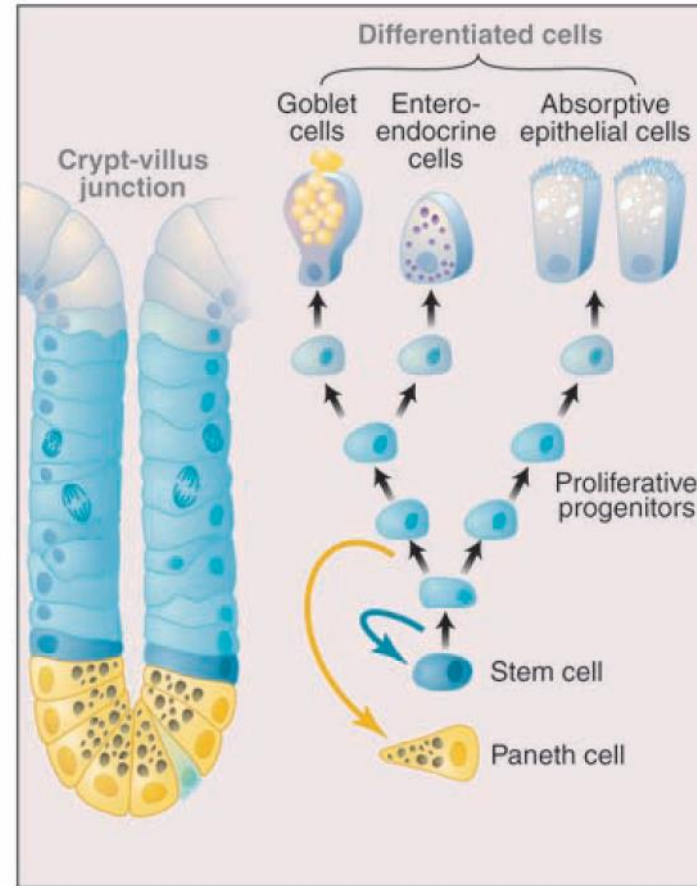
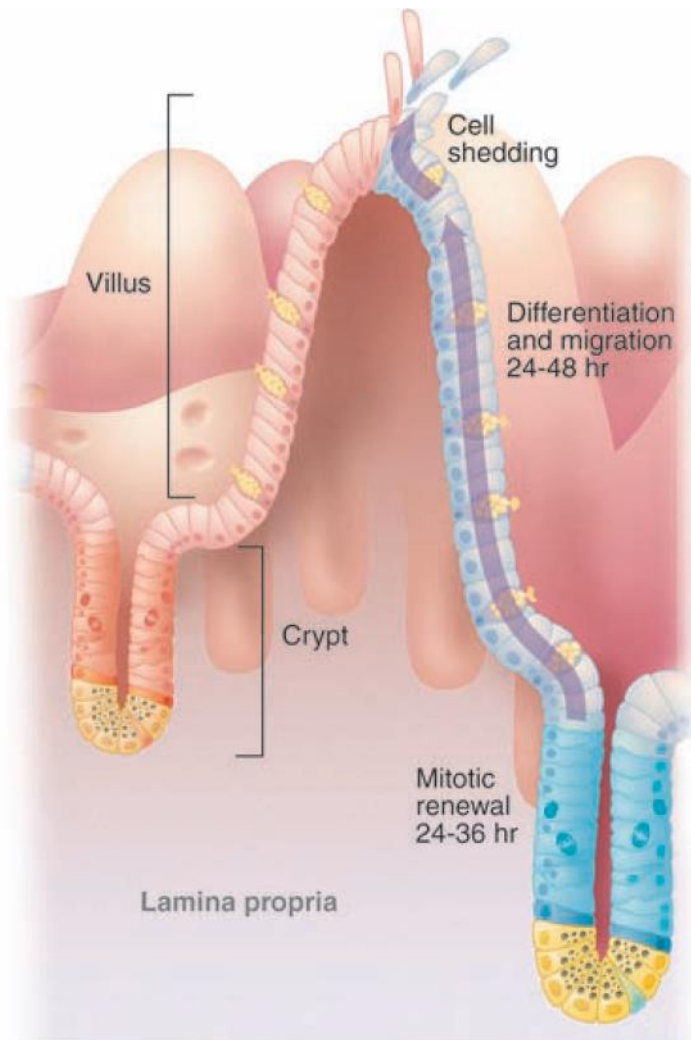


Figure 19–1. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Každá tkáň je organizovaným seskupením buněk držných pohromadě buněčnými adhezemi, ECM nebo oběma. Tkáně jsou spojeny dohromady v různých kombinacích a tvoří **funkční jednotky - orgány**

Anatomie epitelu tenkého střeva - krypty a villi



Obnova střevní výstelky

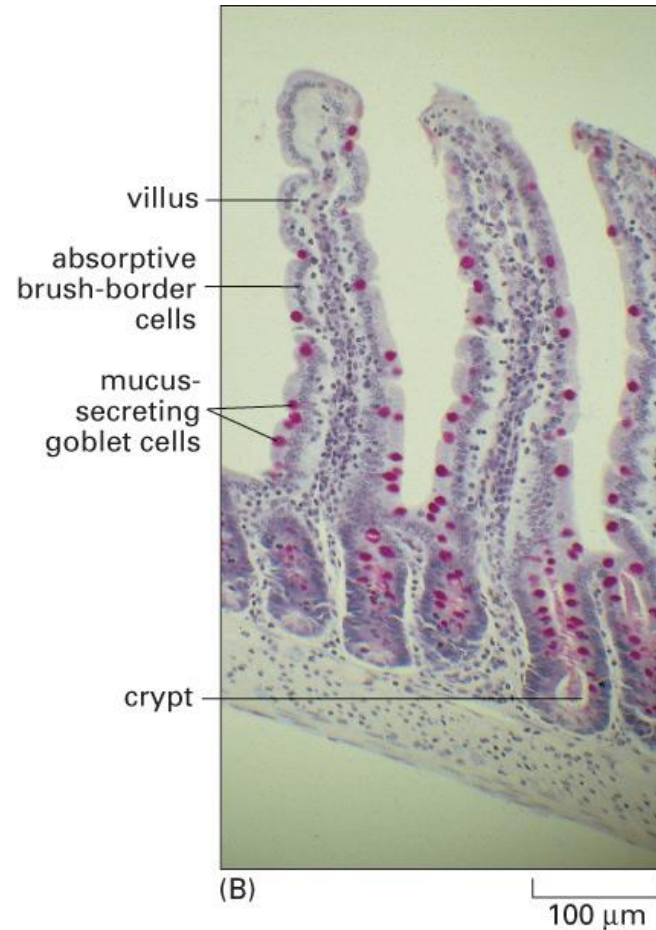
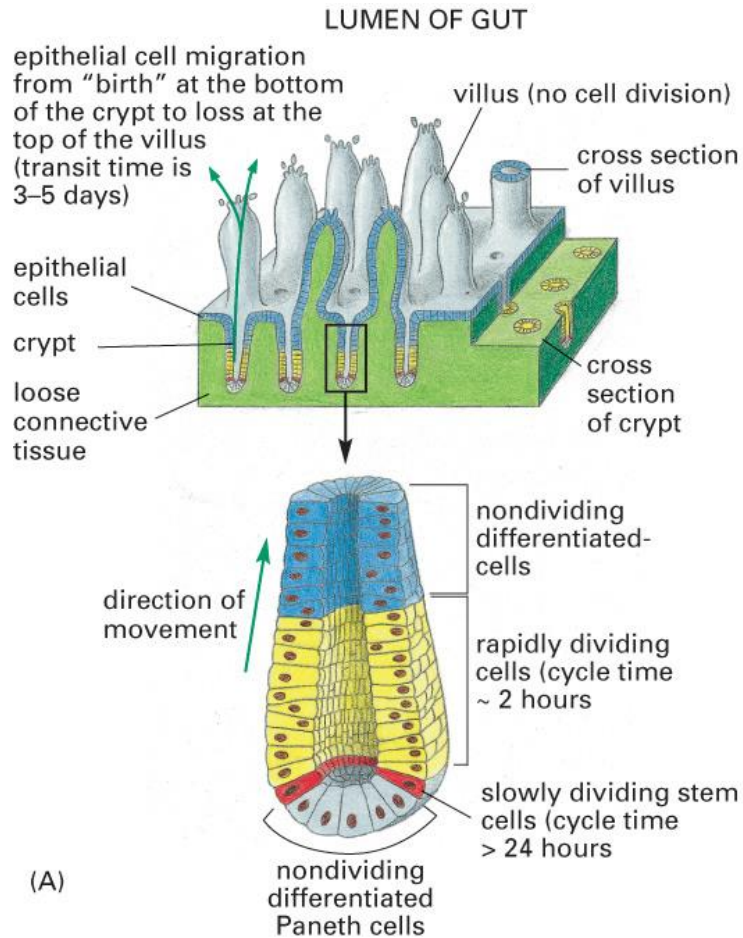


Figure 22-19 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

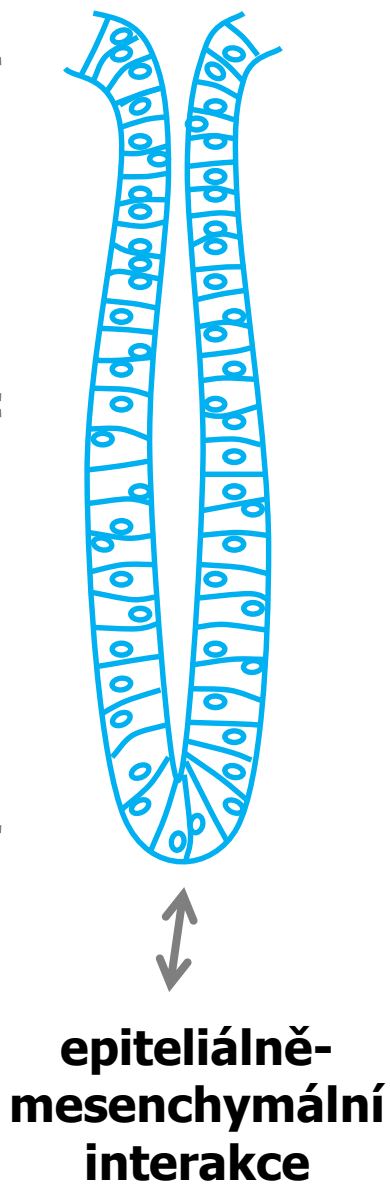
Figure 22-19 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Střevní krypty (část proliferační a diferenciací)

Výměna epitelu – buňky migrují ze spodní části krypty, oblast kmenových buněk (pomalu se dělicí – 24h, rychle se dělicí buňky – 2 h, diferenciacie buněk podél krypty, snižování proliferace, sna vrcholu odumírají apoptózou-anoikis (detachment-induced apoptosis), celé trvá 3-5 dní.

post-
mitotická
zóna

zóna
proliferace



**Apoptóza
anoikis**
(programovaná
buněčná smrt)

terminální
diferenciace

Diferenciace

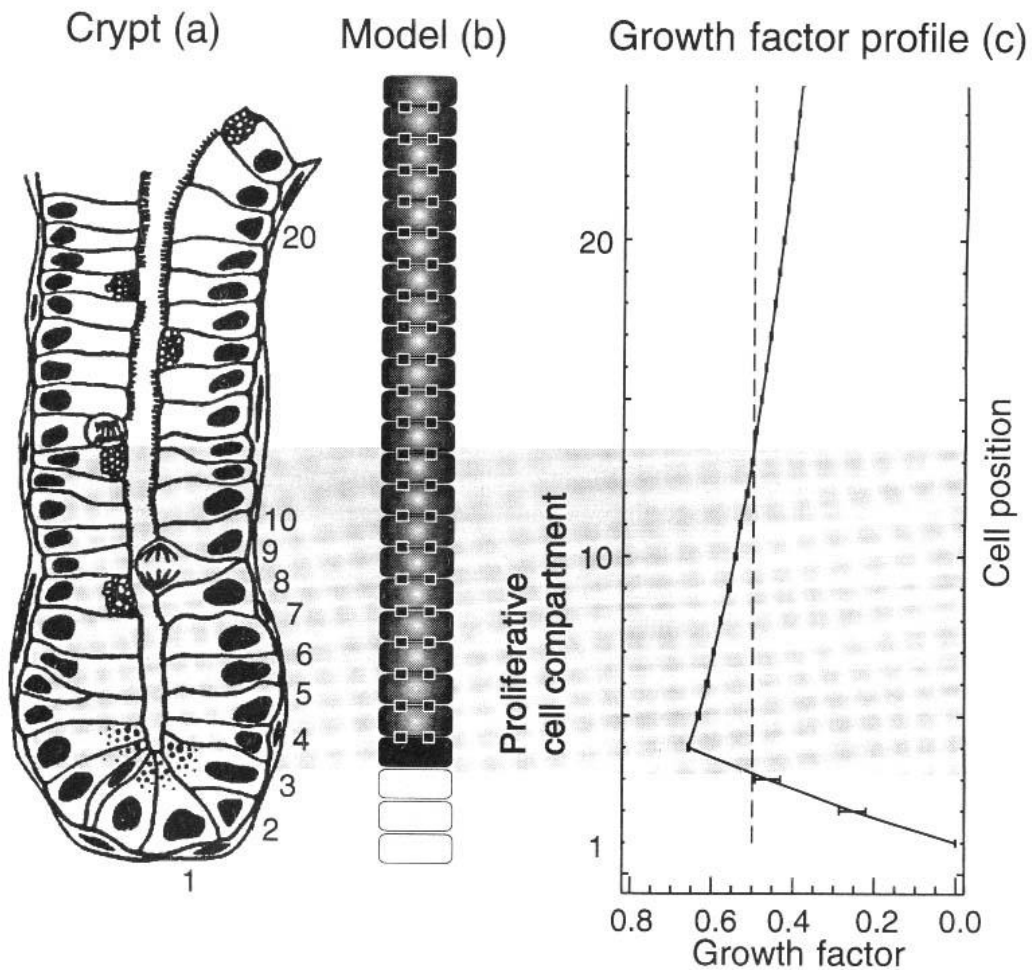
poškození
buňky

Apoptóza

p53

Proliferace

Střevní krypta a profil růstových faktorů



Mění se koncentrace růstových faktorů (growth factor - GF) podél krypt reguluje proliferaci (v proliferační části více buněk produkuje GF)

Střevní krypta s jednotlivými kompartmenty a aktivními signální drahami

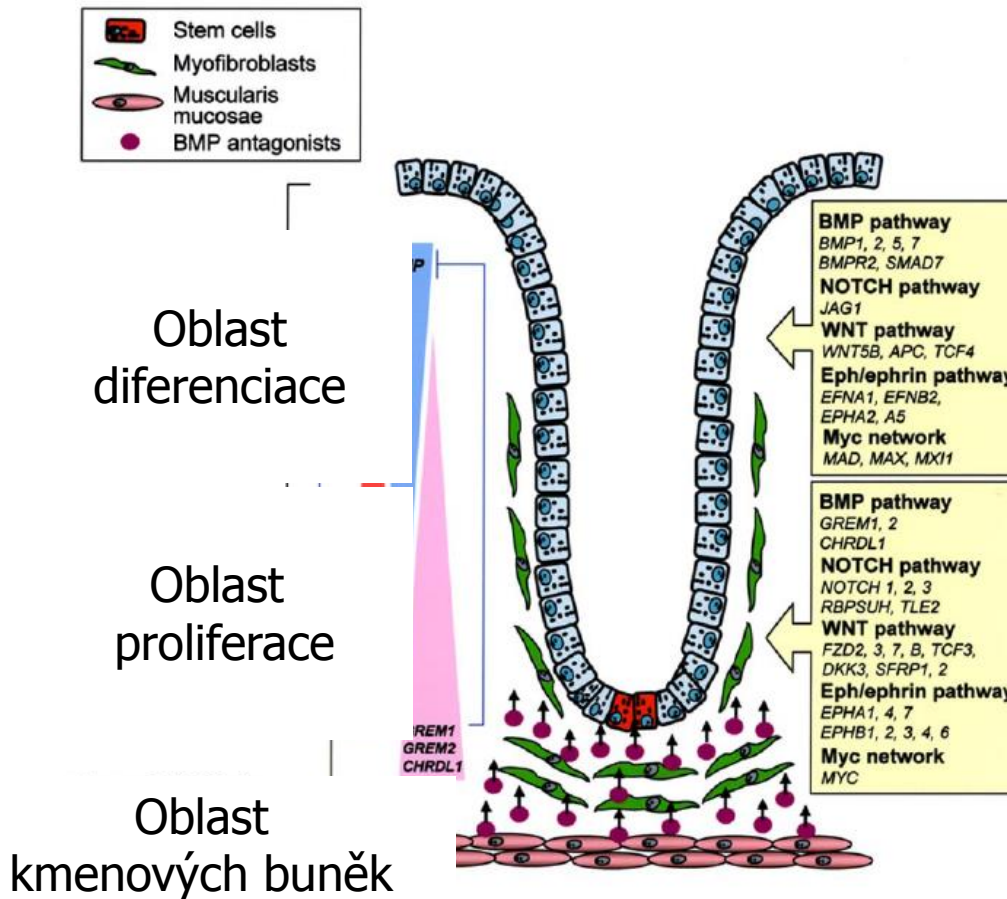


Fig. 5. Graphical view of human colon intestinal epithelial cell development and stem cell niche maintenance. Only genes with significant differential expression in paired *t* test ($P < 0.05$) are listed. ISEMF, intestinal subepithelial myofibroblast; SMC, smooth muscle cell.

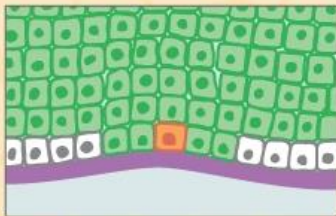
Proces vzniku nádoru v epitelu

BIRTH OF AN EPITHELIAL CANCER



PROLIFERATION.

An initial mutation in a single cell (highlighted) disrupts signal transduction or the cell cycle, and the errant cell divides more frequently than its neighbors. The changed cell and its descendants constitute dysplasia, a pre-cancerous growth whose cells are still differentiated and confined to the bottom cell layer.



Time passes:

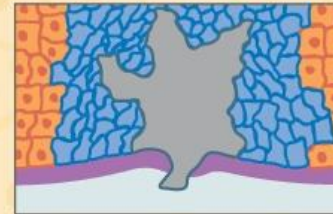
A second mutation occurs in an already affected cell, ushering in sweeping changes in gene expression that modify metabolism, growth characteristics, and cell shape, as adhesion and anchorage slip. The doubly mutant cell and its descendants are slightly less specialized than their neighbors.



Further escape from growth constraints, caused by a third mutation, perturbs the cell cycle in a different way, allowing rapid expansion of the growth. As mitotic activity jumps, specializations continue to fade away as new cells form. Their nuclei appear enlarged and misshapen, reflecting the chaos within.

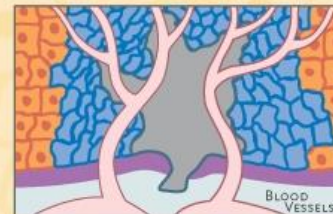


With still more mutations, the increasingly aggressive growth is now a misshapen, if still microscopic, mass. Yet it remains contained within the epithelium bounded by the basement membrane. The tiny tumor may remain here, as in situ carcinoma, for years. The abnormal cells now occupy all cell levels, and all are de-differentiated to some degree.



INVASION.

As the dividing cancer cells extend through the basement membrane into the surrounding stroma, malignancy begins. The tumor and stroma communicate, as the cancer locally takes over. Meanwhile, cancer cells secrete fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor, which subvert normal angiogenesis to recruit capillaries, which snake in and around the tumor.



Some cancer cells creep along the associated blood vessels; others squeeze between the lining cells to enter the circulation.

Spread begins.



METASTASIS.

Supplied with nutrients, oxygen, a waste removal service and conduits, ferocious cancer cells exit and home to lymph nodes and more distant sites, the trajectory characteristic of tumor type: kidney or breast to lung; prostate to bone. Here, further mutations and changes in gene expression ensue, often rendering the original tumor's offspring so different that treatments that once worked now fail.

Normální epitel a adenomy v myším tenkém a tlustém střevě

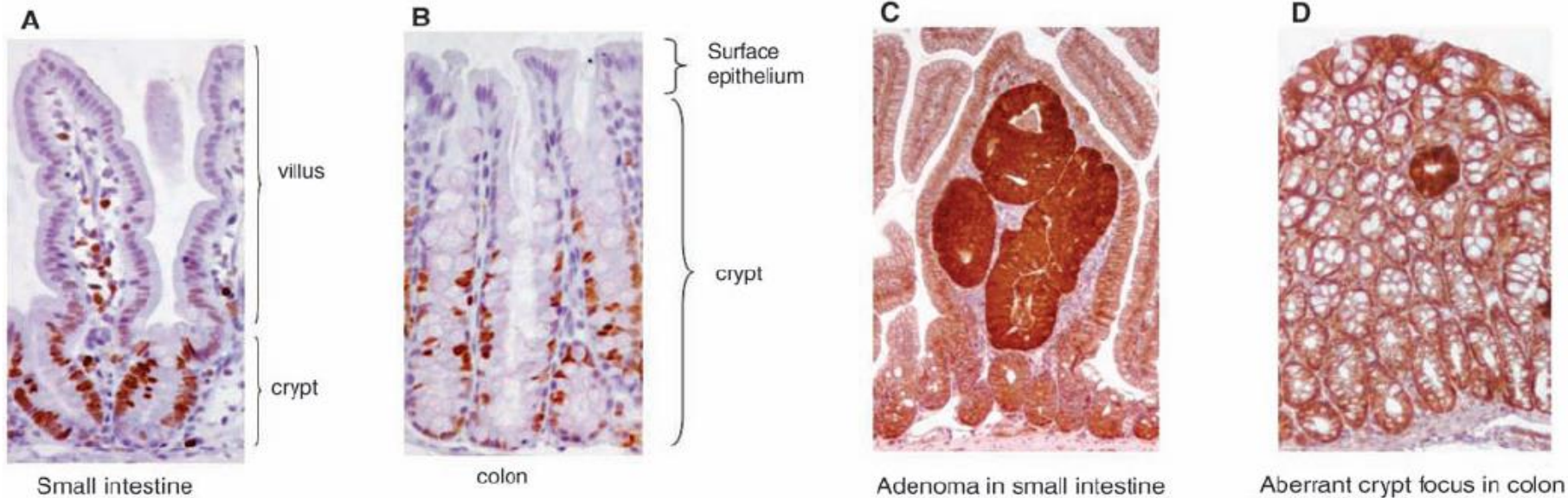


Fig. 2. Comparison of normal epithelium and adenomas in murine small intestine and colon. (A) Small intestinal crypt and villus. (B) Colonic crypt and surface epithelium. Proliferative cells are stained for the cell cycle marker Ki67 (brown nuclei) in (A) and (B). (C) An adenoma residing inside a villus of the small intestine of a *min* mouse. (D) A small

aberrant crypt focus in the colon of a *min* mouse. (C) and (D) are stained for β -catenin. Note the presence of β -catenin (in brown) in the cell boundaries of all nondiseased epithelial cells and the accumulation of β -catenin throughout the cells in the adenoma and aberrant crypt focus.

A, B – normální epitel – proliferující buňky pozitivní pro marker cyklujících buněk Ki67(hnědá barva)

C, D – adenom v tenkém střevě a fokusy aberantních krypt v kolonu *min* myši. Barveno na přítomnost beta-kateninu.

normální buňky – beta-katenin na hranici mezi buňkami
adenom a aberantní krypty – beta-katenin v celé buňce

Kolorektální nádory vznikají progresivní akumulací genetických a epigenetických změn vedoucích k transformaci normálního střevního epitelu do adenokarcinomu.

Molekulární mechanismy kontrolující homeostázu jsou terčem změn podílejících se na vzniku nádorů.

Molekulárně genetické poznatky

- **Mnohastupňová progresse** na molekulární i morfologické úrovni.
- **Genetické** (mutační aktivace onkogenů a inaktivace nádorově supresorových genů) a **epigenetické změny** (metylace) podporují tvorbu nádoru poskytující klonální růstovou výhodu změněným buňkám.
- Klíčovým molekulárním krokem je **ztráta genomové stability**.
- **Dědičné nádorové syndromy** často odpovídají formám klíčových genetických defektů u zárodečných linií, jejichž somatický výskyt nastartuje **sporadické nádory kolonu**.

Ztráta genomové stability je klíčovým molekulárním a patogenetickým krokem vyskytujícím se na počátku nádorového procesu a vytváří permissivní prostředí pro výskyt změn onkogenů a nádorově supresorových genů.

3 hlavní formy:

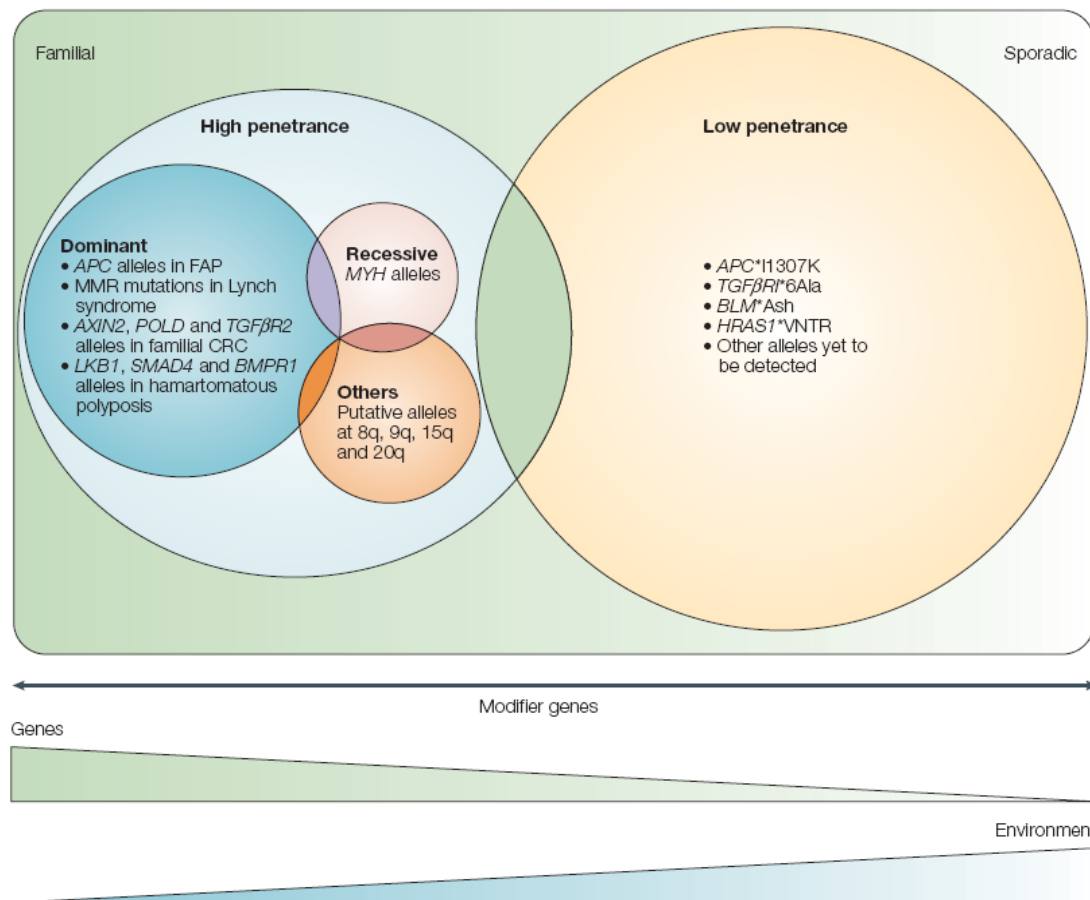
- Nestabilita mikrosatelitů (MSI)
- Nestabilita chromozómů (CIN) - zisk či ztráta úseků chromozómů, aneuploidie)
- Chromozomální translokace

Genetické základy vzniku nádoru

Dědičné poruchy predisponující jedince k nádorům

- **polypózní formy** (familiární adenomatózní polypóza - FAP) asi 1% mutace APC (adenomatous polyposis coli) genu tisíce adenomatózních polypů ve střevě – riziko vzniku nádoru téměř 100%.
- **nepolypózní formy** (hereditární nepolypózní kolorektální karcinom – HNPCC), Lynchův syndrom) asi 15%, zvýšené riziko dalších typů nádorů, mutace genů pro MMR enzymy (mismatch DNA repair), množství mutací v repetitivních sekvencích DNA - mikrosatelitech

Genetická podmíněnost CRC



FAP, Lynchův syndrom atd. převažující dědičná složka

Jiné mutace zvyšují náchylnost při působení environmentálních faktorů.

Interakce genů a env. faktorů.

Další tzv. modifikující geny mohou dále ovlivňovat účinky jak genů tak env. faktorů.

Přesné rozlišení mezi tzv. **sporadickými a familiárními** a mezi **genetickými a environmentálními faktory** predisponujícími k CRC není striktní.

Figure 1 | **A global view of the genetic contribution to colorectal cancer.** The highly penetrant causative mutations in familial adenomatous polyposis (FAP), Lynch syndrome, the hamartomatous polyposis syndromes and other familial conditions underlie cases of colorectal cancer (CRC) that have a strong hereditary component, with little environmental influence. However, there are also several low-penetrance mutations that contribute to CRC susceptibility in an additive way, involving interactions between genes and with environmental factors. As well as accounting for cases of hereditary CRC, these mutations are also likely to contribute to cases of CRC that are classified as 'sporadic'. In addition, although none has been identified so far, modifier genes are also likely to influence the effects of genetic and environmental factors that contribute to CRC. Therefore, the distinction between 'sporadic' and 'familial' cases and between 'genetic' and 'environmental' predisposing factors has become blurred and might be better thought of as a continuum of risks contributing to CRC development. *APC*, adenomatous polyposis coli; *BLM*, Bloom syndrome; MMR, mismatch repair; *TGF β R2*, transforming growth factor- β receptor 2

Vznik chromozomální nestability u CRC

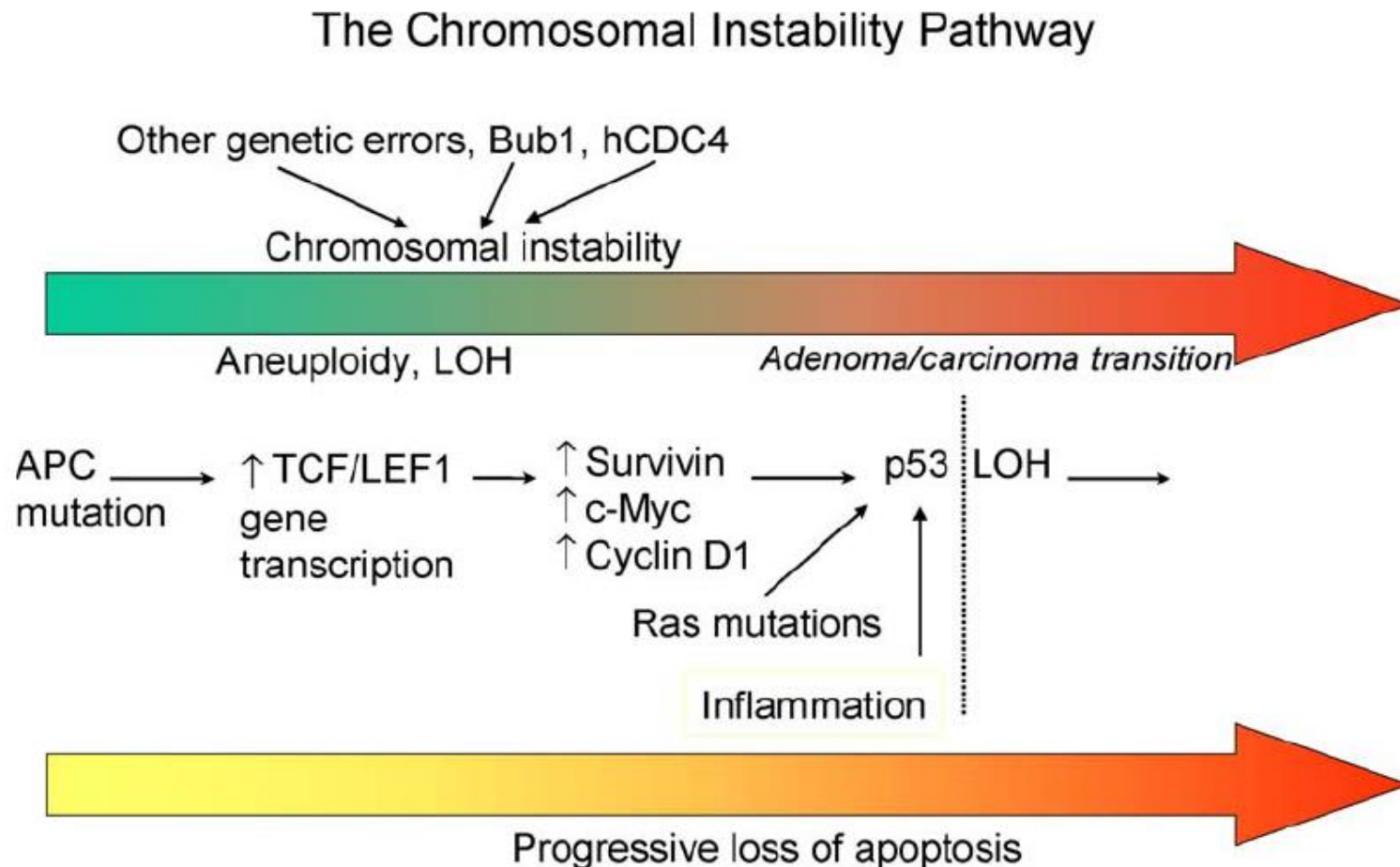


Fig. 2. The chromosomal instability pathway to colorectal cancer.



Sporadická forma nádorů kolonu – nedědičná,
postupný vývoj řadu let

Na vzniku se podílí rovněž **vnější faktory** (dieta, životní styl)

Pozitivní korelace – spotřeba tuku, červeného masa, alkohol,
kouření

Negativní korelace – zelenina, ovoce, vláknina, NSAIDs

Rodinný výskyt „sporadického“ kolorektálního karcinomu –
kombinace genetických predispozic se zevními faktory

Potřeba pravidelných vyšetření od určitého věku (okultní krev,
sigmoidoskopie, kolonoskopie)

Geny zahrnuté v kolorektální karcinogenezi

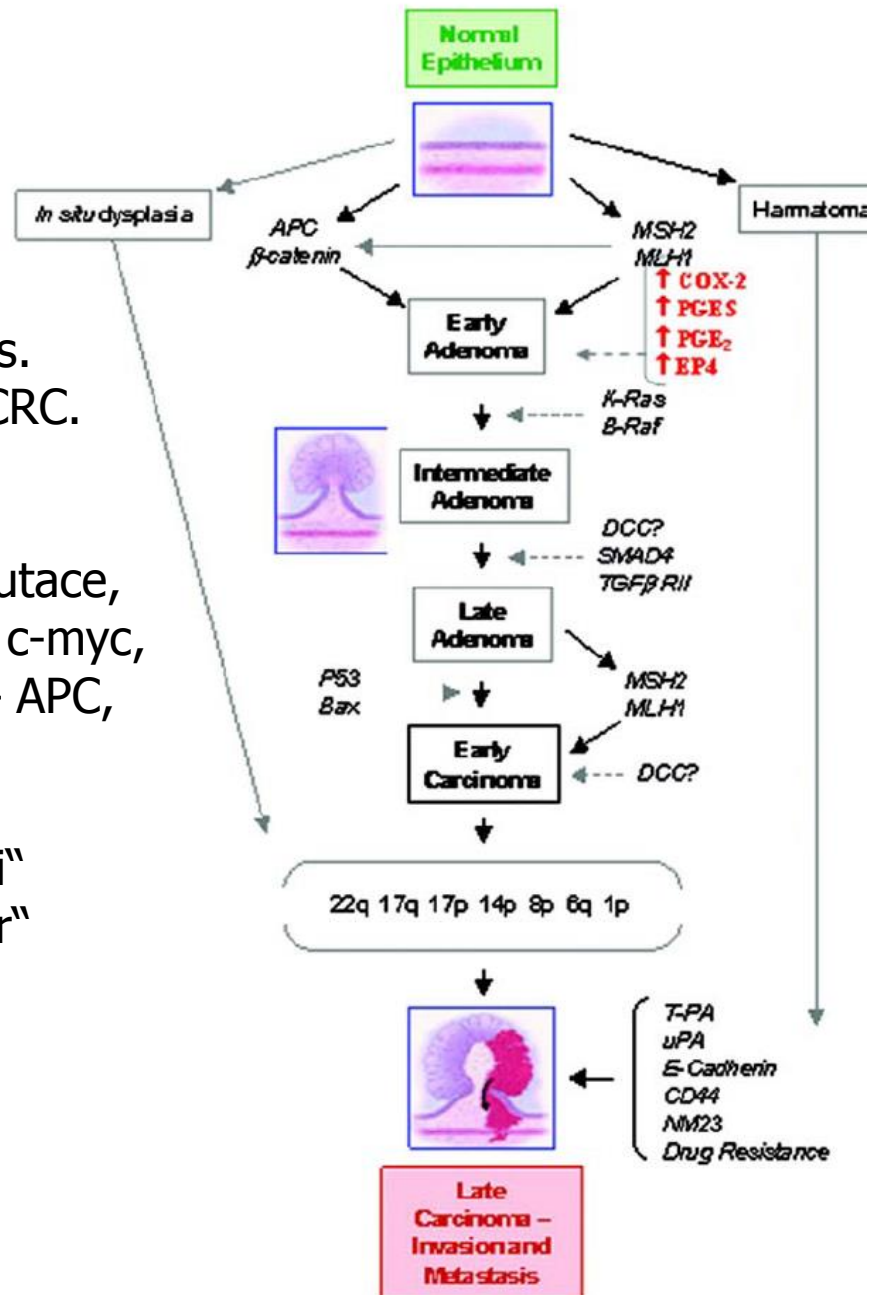
- **Onkogeny** (ras, c-myc, c-myb, hst-1, trk, c-raf, c-src, c-myb, Her2-neu)
 - Proteiny H-ras, K-ras, N-ras aktivované přes receptory spojené s G proteiny a s tyrozin kinázami – aktivace drah kináz RAF, MEK, MAPK – přechod adenom – karcinom
- **Nádorově supresorové geny**
 - p53 – mutace či delece u 70-80% nádorů, poruchy apoptózy
 - APC – delece či mutace, brzký děj u adenomů 80%, spojené s deregulací signální dráhy Wnt a chromozomální nestabilitou.
 - Chyby spojení mikrotubulů a kinetochoru – abnormální segregace chromozómů - polyploidie
 - DCC – deletovaný gen u 70-80% nádorů, úloha v zástavě G2/M a apoptóze
- **Geny reparace DNA** – MMR mismatch repair (hMSH2, hMLH1)

Rozvoj z adenomu do karcinomu

Komplexní několikastupňový proces.
Není úplně stejný u různých typů CRC.

Obecně:
Nutné 4-6 genetických defektů (mutace, deregulace protoonkogenů – k-ras, c-myc, inaktivace nádorových supresorů – APC, p53)

APC – „adenomatous polyposis coli“
DCC – „deleted in colorectal cancer“



Genetické změny spojené s CRC

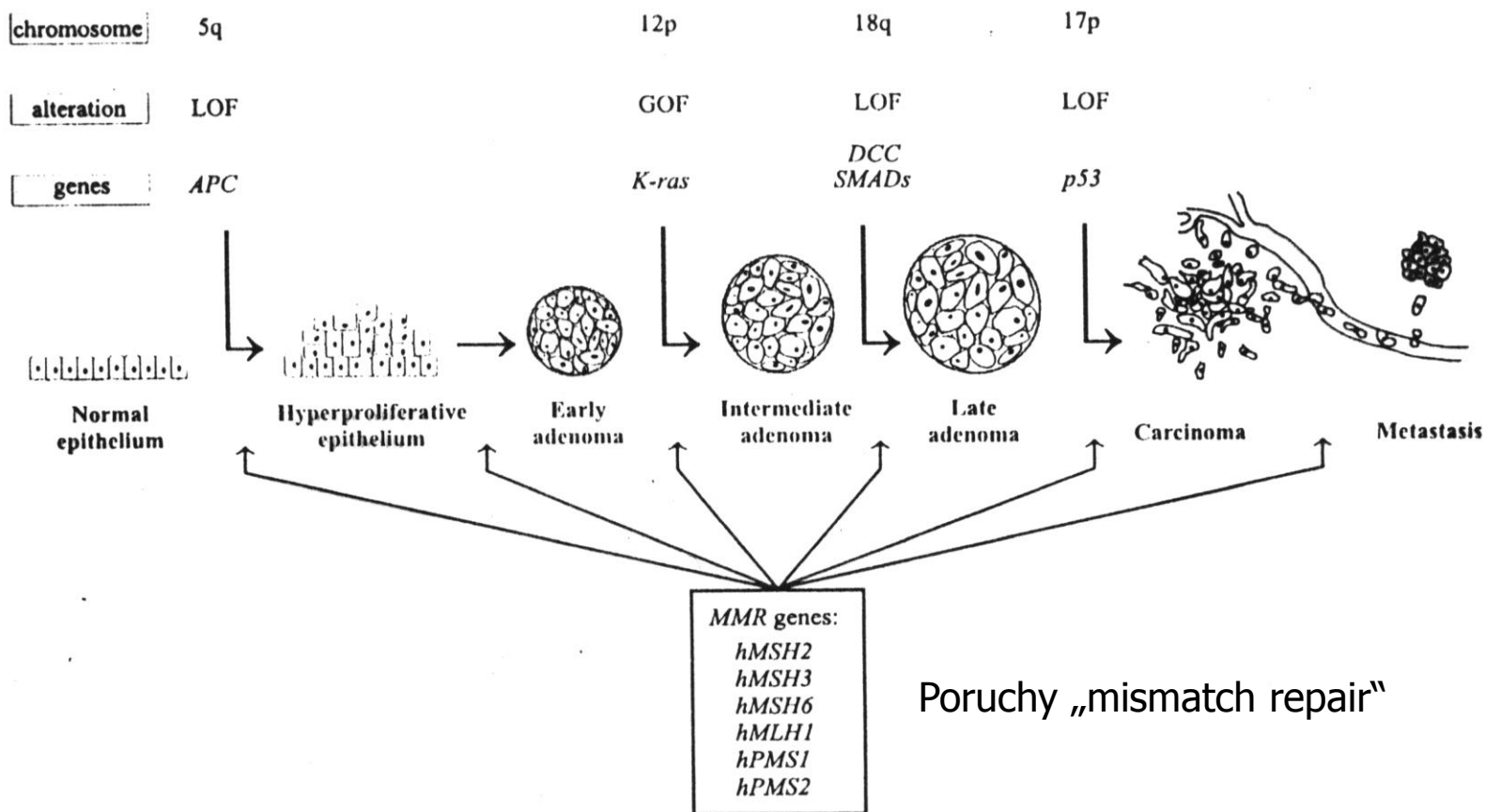


Fig. 1. Genetic changes associated with colorectal tumorigenesis. This process is accelerated by MMR deficiency (see text for details). Abbreviations: LOF, loss of function; GOF, gain of function; MMR, mismatch repair. Reproduced from Kinzler & Vogelstein (2) with modifications.

Funkce proteinu APC (adenomatous polyposis coli)

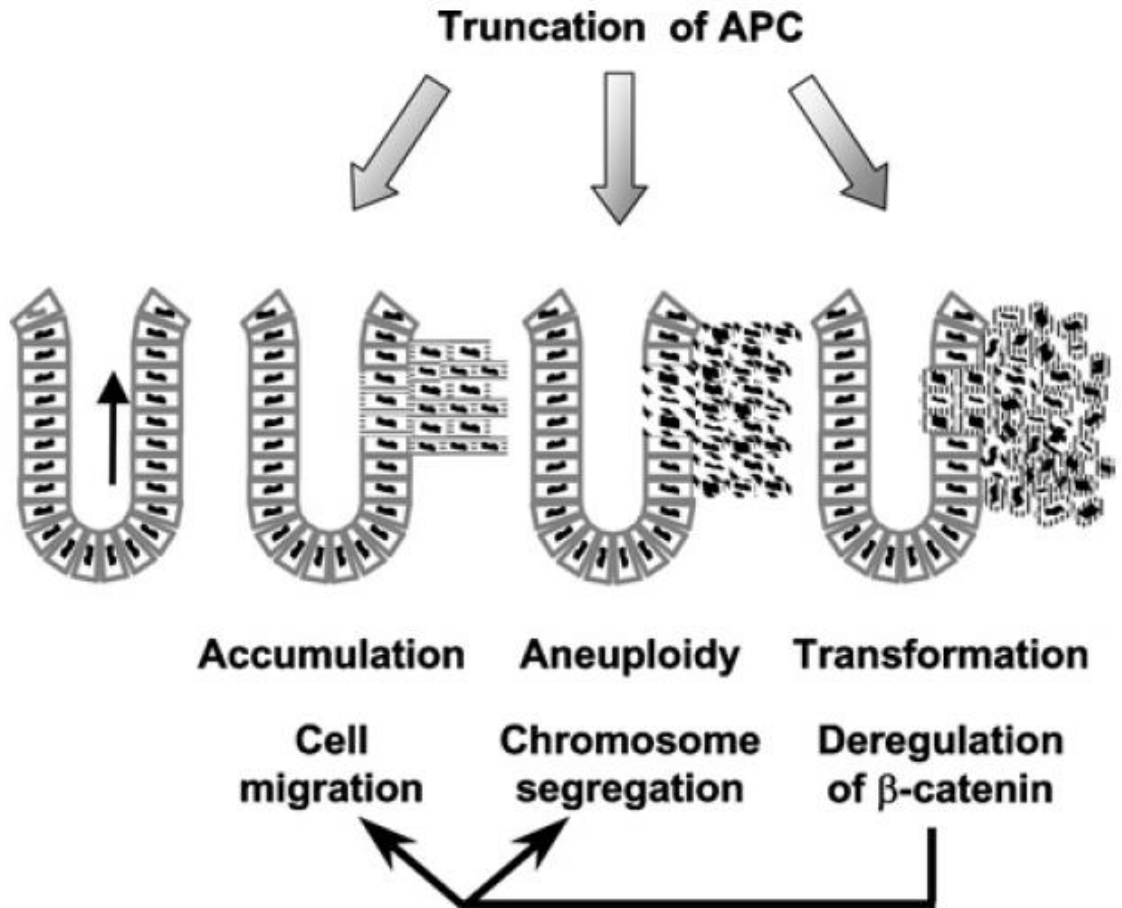
300kD cytoplasmatický protein kódovaný APC genem – často mutovaný v prvotních stádiích CRC (u adenomů)

APC interaguje s řadou buněčných proteinů a drah a přispívá tak k regulaci diferenciaci, migrace, proliferace a adheze. Jeho mutace tak ovlivňuje všechny tyto procesy.

- Regulace signálu indukovaného beta-keninem (regulace Wnt dráhy)
- Regulace buněčné adheze prostřednictvím beta-keninu a E-kadherinu
- Regulace migrace buněk interakcemi s mikrotubuly a F-aktinem
- Blok buněčného cyklu zřejmě přímou inhibicí jeho komponent

Mutace genu APC

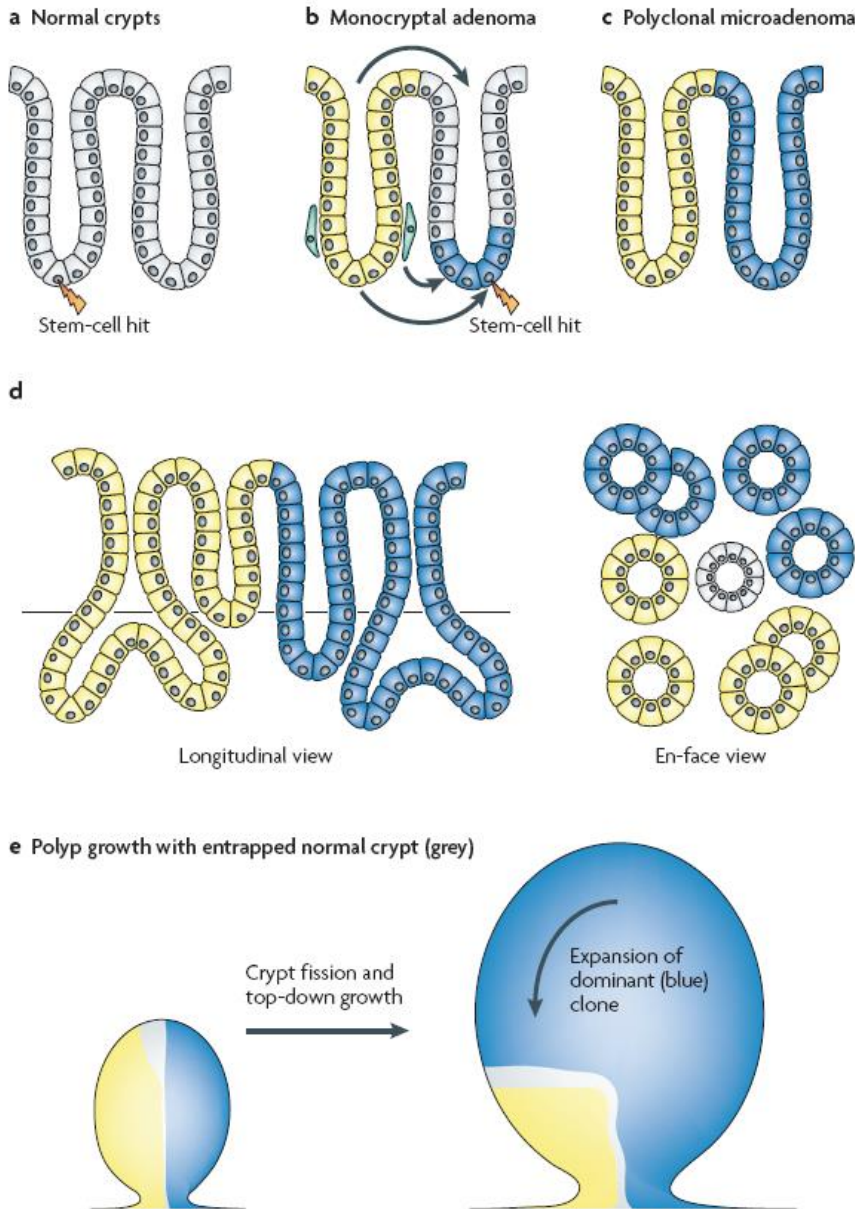
- vede ke změnám cytoskeletu a deregulaci beta-kateninu
- ovlivnění migrace buněk a mitotického vřeténka – aneuploidie
- deregulace beta-kateninu – poruchy diferenciace a genové exprese – transformace
- Zvýšená hladina beta-kateninu – neschopnost APC vazby na mikrotubuly – deregulace migrace buněk a segregace chromozómů.



Interakce buněk kolonových krypt s látkami vznikajícími v krvi nebo v lumenu

- Mutace genu APC v kmenových buňkách jako výsledek působení látek z krve nebo zárodečné mutace, produkuje abnormality v buněčné proliferaci, migraci a adhezi.
- Abnormální buňky se akumulují na vrcholu krypt, tvoří se aberantní fokusy krypt (ACF), které vyčnívají do proudu stolice.
- Zvyšuje se pravděpodobnost dalších mutací kontaktem proliferujících buněk s fekálními mutageny a adenomy se tvoří postupnou klonální expanzí.

Vývoj polyklonality adenomů v kolonu



- Mutace kmenové buňky např. v genu APC
- Kolonizace krypty buňkami APC-/- a vznik monokryptálního adenomu
- Polyklonalita vzniká v důsledku krátkodobé interakce zřejmě změnou signálování buněk spojených s lamina propria– mutace v přilehlé kryptě
- Expanze adenomu
- Expanze dominantního klonu vede ke vzniku monoklonálního nádoru

Epigenetické změny v CRC

Hypo- nebo hypermetylace promotorů

Hypometylace – obecný a raný děj – odpovědná např. za overexpresi k-ras

Hypermethylace – inaktivace nádorově supresorových genů

Deregulace růstových faktorů

TGF beta – negativní růstový faktor epiteliálních buněk – zástava v G1 fázi, receptor I a II signálování přes SMAD proteiny

Inaktivační mutace signální dráhy – poruchy apoptózy- progrese adenom-karcinom.

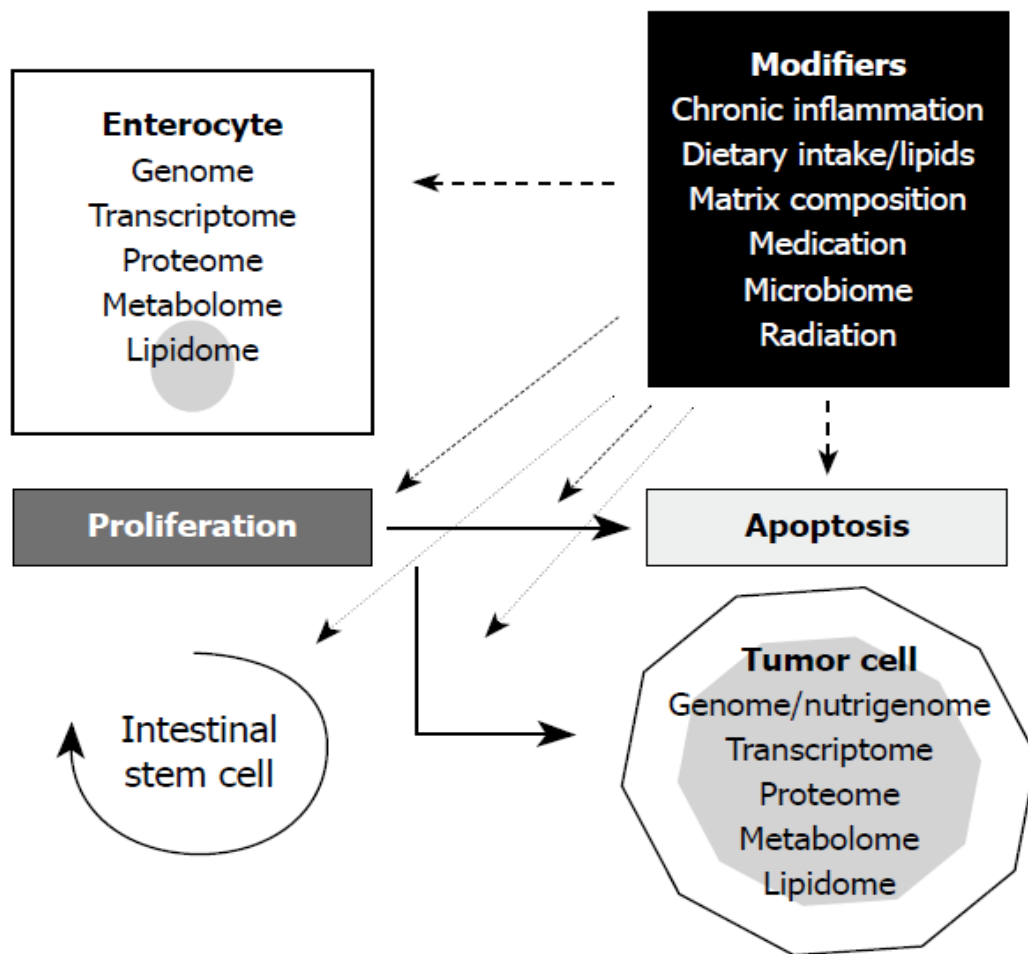
Zánětlivé onemocnění střeva (IBD)

Nádory často vznikají v prostředí zánětu

Produkce prozánětlivých cytokinů – TNF alfa, IL-1, -6, -8, ROS, prostaglandiny – podpora, poškození DNA, angiogeneze, inhibice apoptózy a invaze.

Úloha **transkripčního faktoru NFκB**

Modifikátory kolorektální karcinogeneze



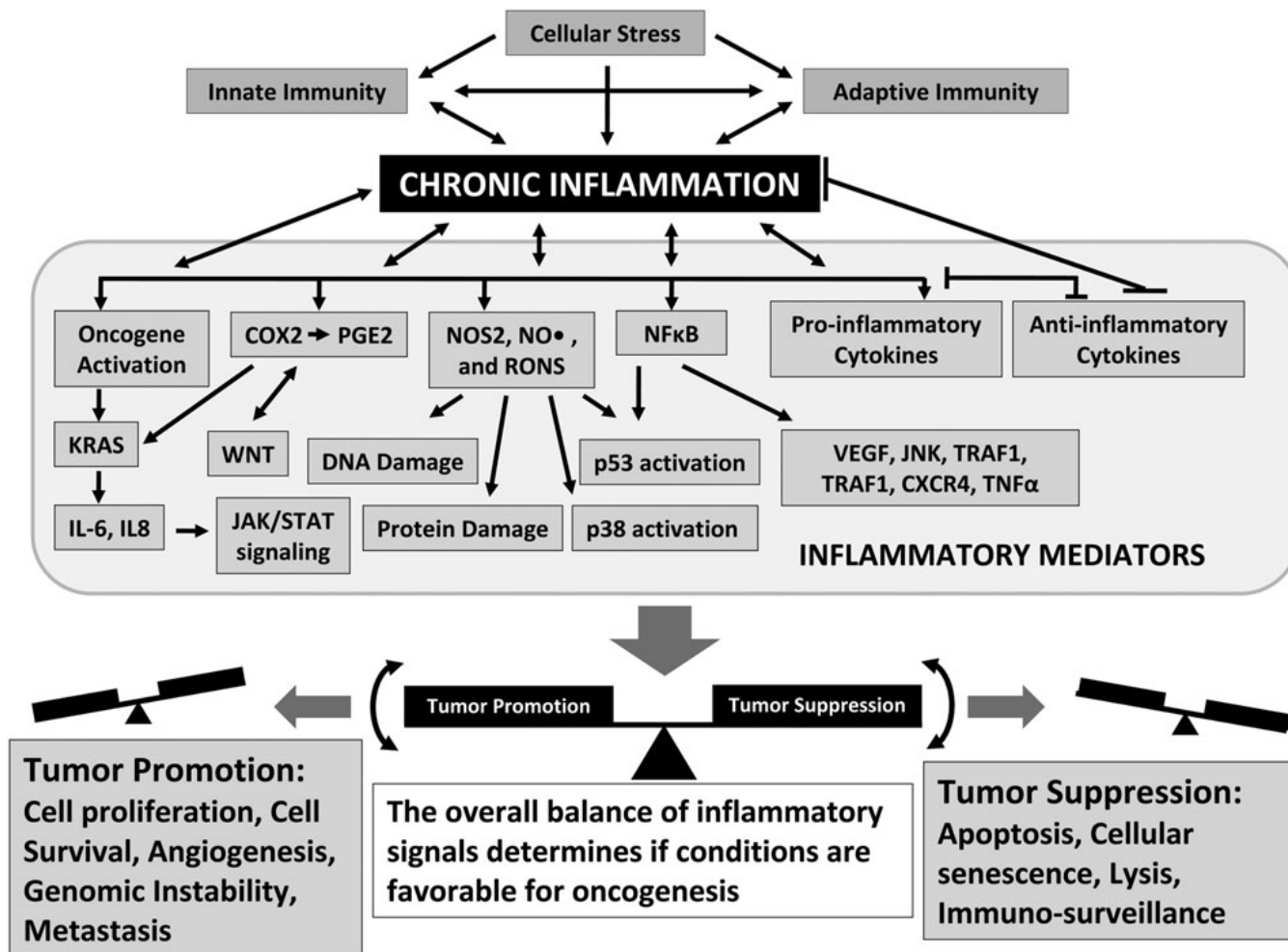
Řada faktorů (chronický zánět, výživa - lipidy, složení matrix, medikace, bakterie, záření) ovlivňuje základní molekulární dráhy a tím i délku života, proliferaci a apoptózu enterocytů.

Tyto **dráhy a molekulární entity** (genom, transkriptom atd.) určující chování buněk jsou **vystaveny buněčnému stresu a fungují jako modifikátory**. Podobně jsou ovlivňovány i střevní kmenové buňky.

Aberantní modifikace hraje důležitou úlohu v CRC.

Nutrigenom nádorových buněk odráží modifikaci genomu buněk složkami diety a expresi tzv. modifikátorových genů.

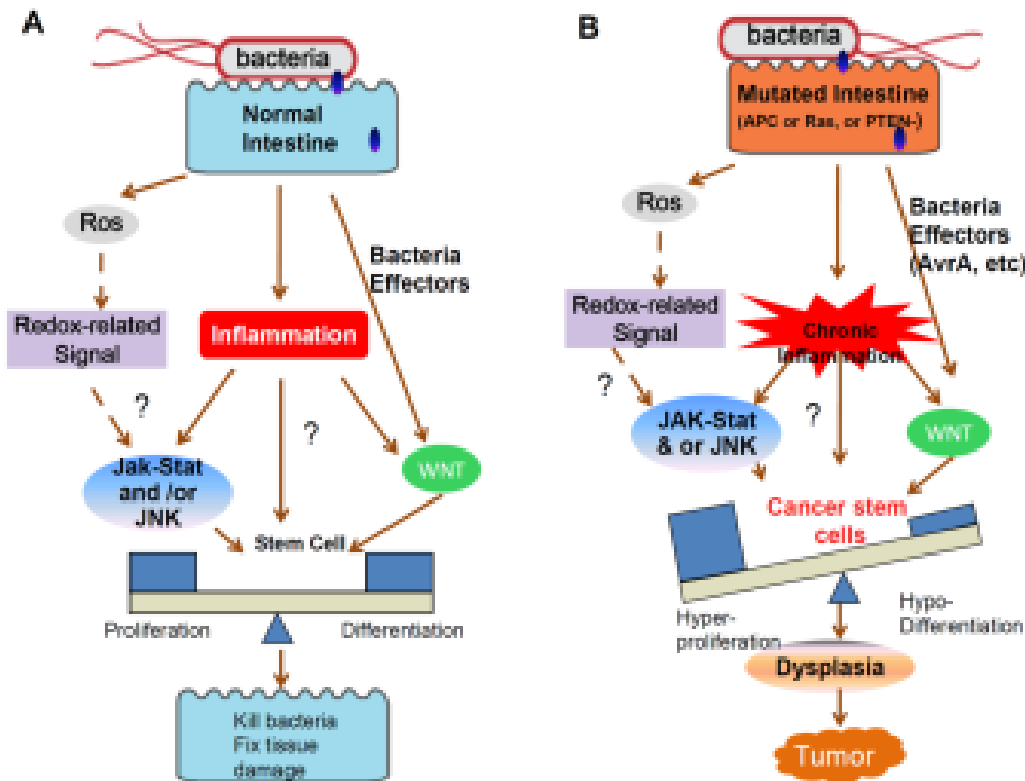
Úloha zánětu v karcinogenezi



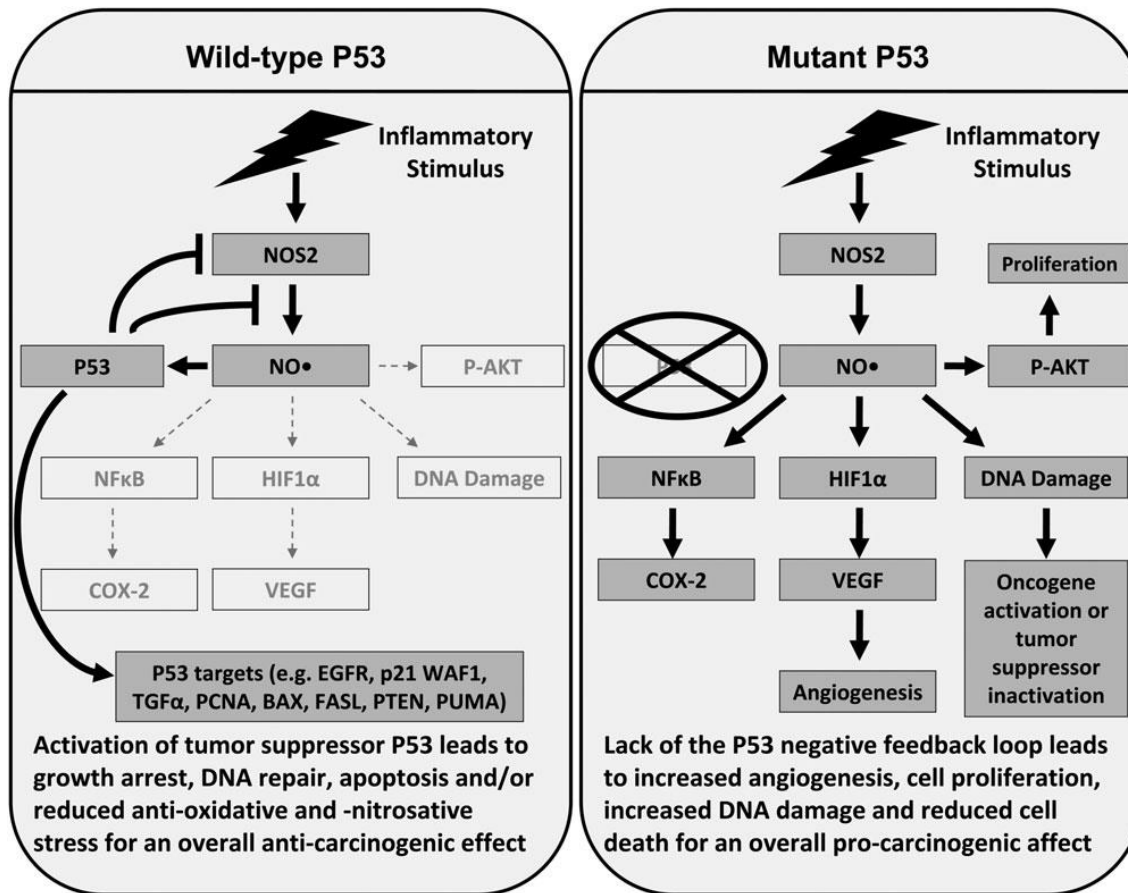
Chronický zánět mění hladiny zánětlivých mediátorů včetně COX-2, RONS a zánětlivých cytokinů a aktivuje protoonkogeny.

V závislosti na společných funkcích a rovnováze zánětlivých mediátorů může zánětlivá odpověď nádor buď podporovat nebo působit protinádorově.

Bakteriální regulace kmenových buněk a tvorby nádorů ve střevě



Závislost působení NO na funkčním stavu p53



Zánět vyvolaný produkcí NO může být pro- i antikarcinogenní v závislosti na funkčním stavu nádorového supresoru p53.

Funkční p53 – NO podporuje stabilizaci p53 – negativní zpětná vazba – redukce NOS a NO – nádorově supresivní účinky.

Nefunkční p53 – nadprodukce NO – pronádorové podmínky – aktivace protoonkogenů, inaktivace supresorů, zvýšená buněčná proliferace a angiogeneze

Cytokiny a signální dráhy

Úloha cytokinů

Důležité endogenní faktory ovlivňující kolorektální karcinogenezi

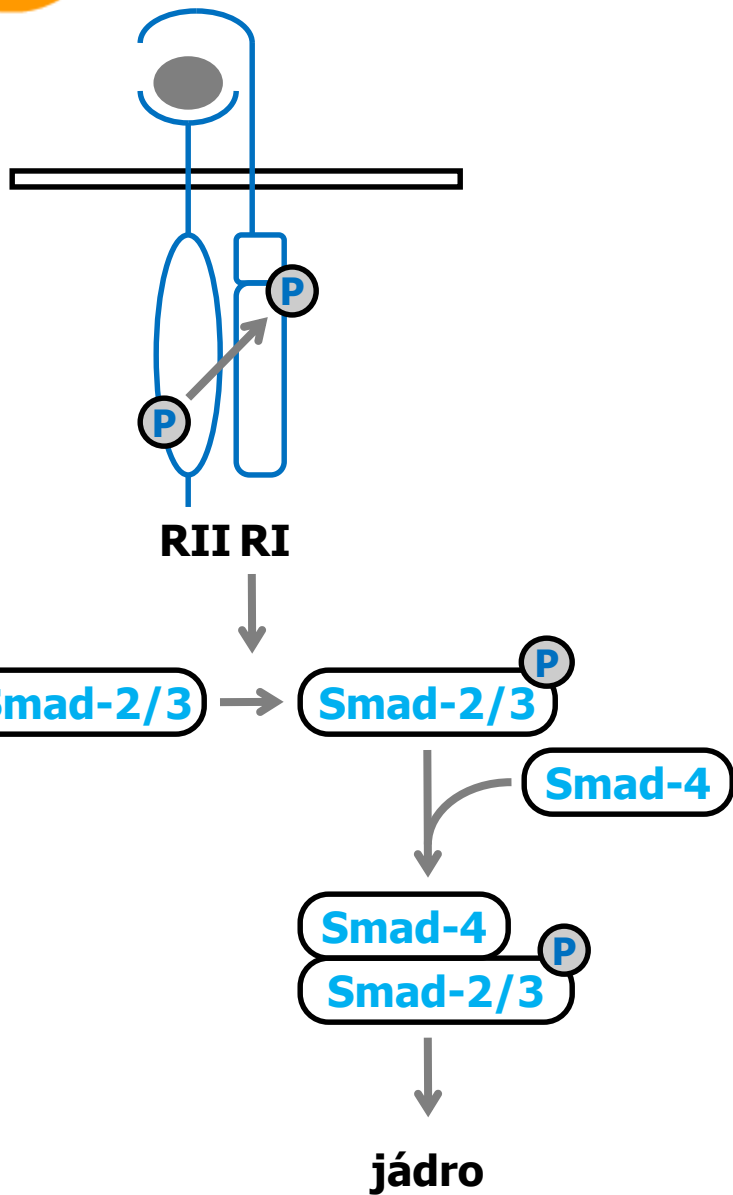
TNF-family (TNF- α , Fas ligand, TRAIL – TNF relating apoptosis inducing factor)

TGF-family (TGF- β)

EGF – epidermální růstový faktor

Tumour necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukiny

- multifunkční cytokin
- jeden z hlavních mediátorů zánětu
- TNF- α je produkován makrofágy a dalšími buňkami imunitního systému
- koncentrace TNF- α v kolonu je zvýšena během chronického zánětu (ulcerativní kolitida nebo Crohnova choroba)
- úloha v nádorové kachexii
- existuje interakce mezi cytokiny a dietetickými faktory – mastné kyseliny a eikosanoidy



TGF-β signální komponenty	Úloha v kolorektální karcinogenezi
TGF-β	<p>ztráta citlivosti nádorových buněk kolonu k růstově inhibičním účinkům TGF-β</p> <p>antisense TGF-β1 zvyšuje tumorigenicitu lidských nádorových buněk kolonu</p>
TGF-βRII	<p>mutovaný v nádorech kolonu a v nádorových liniích odvozených od kolorektálního karcinomu s mikrosatelitní nestabilitou</p> <p>obnovení exprese RII může zvrátit transformovaný fenotyp</p>
Smad2	mutovaný ve sporadickém kolorektálním karcinomu
Smad3	<p>u Smad3^{-/-} myši se vyvíjí metastázuující kolorektální nádor</p> <p>ztráta heterozygotnosti ve dvou ze 17 zkoumaných nádorů (1 sporadický a 1 HNPCC)</p>
Smad4	<p>inaktivace Smad4 v APC myších posiluje nádorovou progresi</p> <p>mutovaný v lidských nádorech kolorekta <i>in vivo</i></p> <p>mutovaný u familial. juv. polypózy</p>

Regulace (deregulace) transkripčních faktorů u střevních buněk

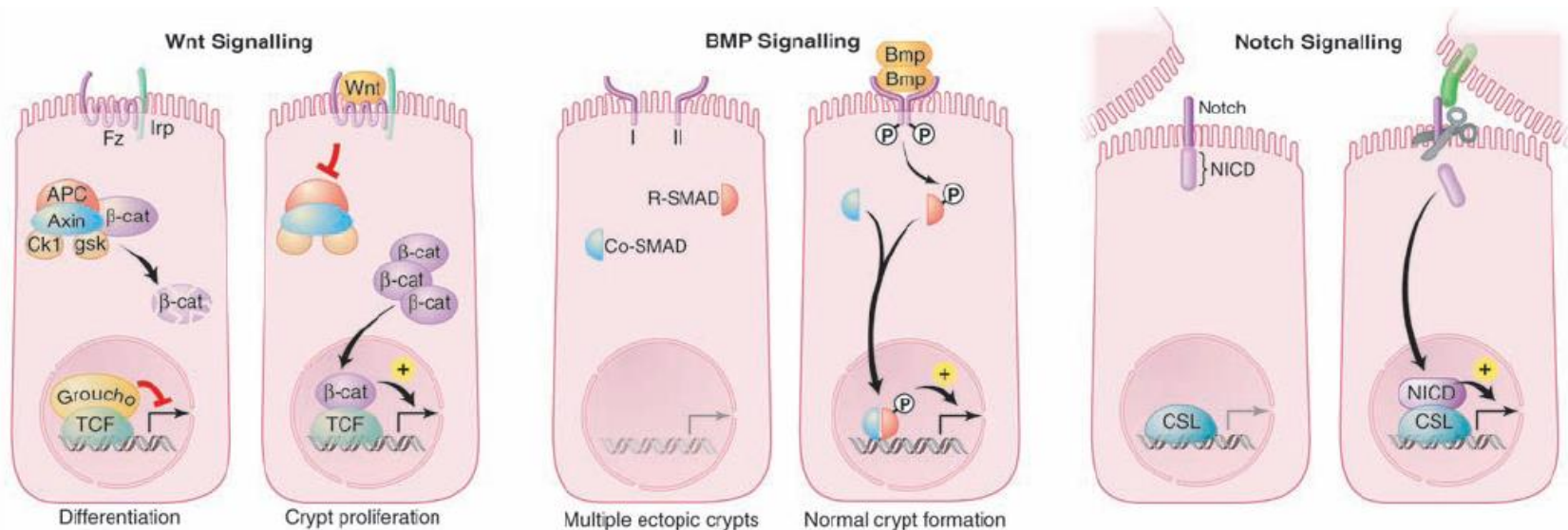


Fig. 3. Wnt, BMP, and Notch pathways control target gene transcription. (Left) Wnt-responsive cells carry a receptor complex consisting of a frizzled seven-transmembrane receptor (Fz) and Lrp5 or Lrp6. In the absence of secreted Wnt factor (left), the destruction complex (APC, axin, and the kinases CK1 and GSK3 β) induces degradation of cytoplasmic β -catenin. Tcf complexed to corepressors such as groucho represses specific Wnt target genes. Receptor engagement (right) blocks the destruction complex; β -catenin accumulates and binds to Tcf in the nucleus to activate transcription of Wnt target genes. (Center) Type I

and type II BMP receptors are not complexed in the absence of signal. Secreted BMP factors bring the two receptors together, ultimately leading to the phosphorylation of R-SMADs, their association with Co-SMAD, translocation to the nucleus, and subsequent activation of BMP target genes in the nucleus. (Right) When Notch receptor meets its cell-bound ligand (jagged or delta), sequential proteolytic steps lead to the release of its intracellular domain (NICD), which travels to the nucleus, where it complexes with the transcription factor CSL to activate Notch target gene transcription.

Dráha Wnt – bez stimulace vnějším faktorem Wnt - normální degradace beta-kateninu – žádný signál

Dráha BMP – absence signálu sekretovaným faktorem BPM – nedochází ke spojení receptorů I a II – žádný signál

Dráha Notch – bez vazby Notch receptoru na ligand vázaný k buňce nedochází k proteolýze a uvolnění vnitrobuněšné domény NICD– žádný signál

Fungování signální dráhy beta katenin - Tcf/Lef v normální a *Apc*^{-/-} kryptě

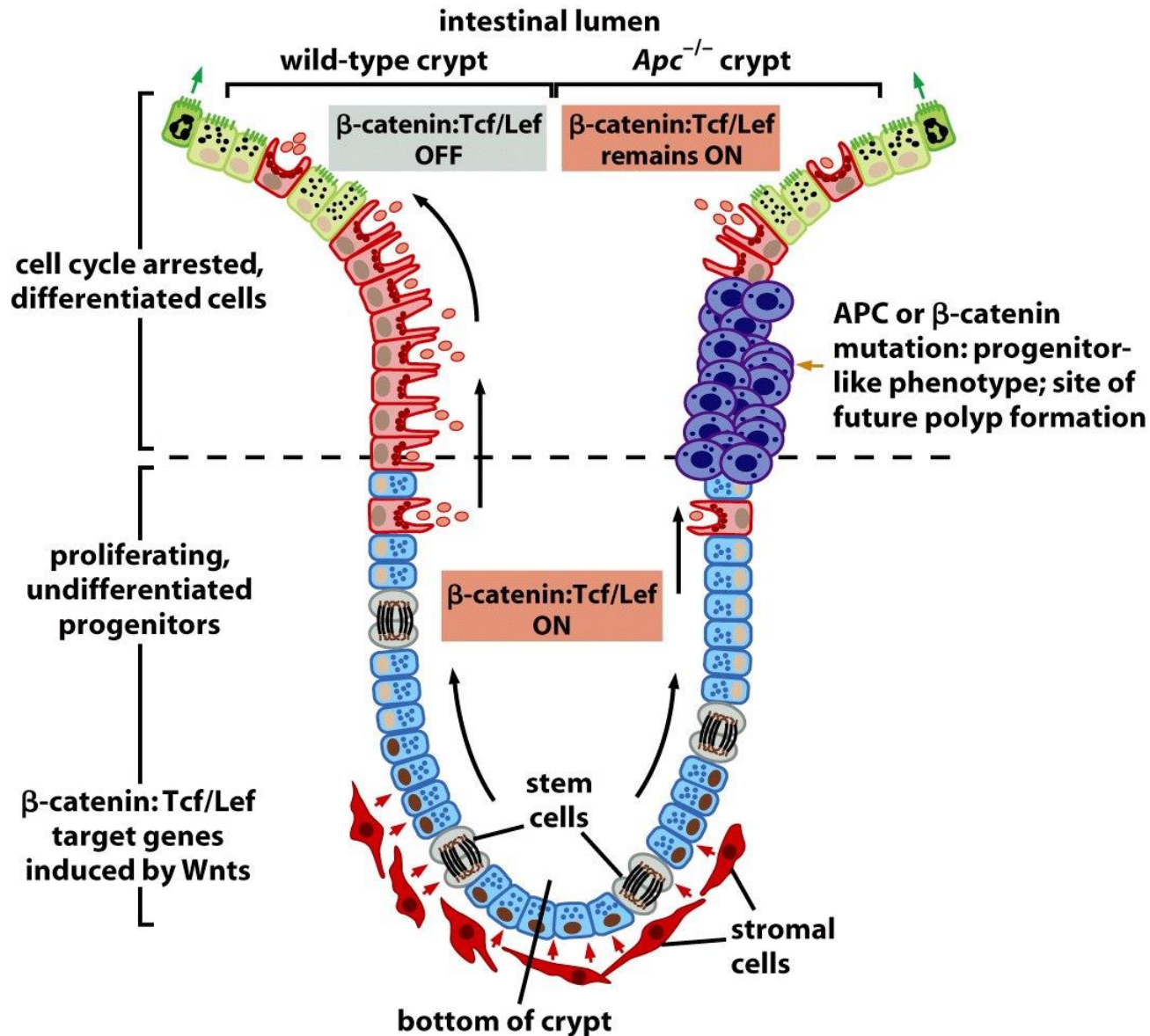


Figure 7.24a *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Model signálů dráhy Wnt

Normální stav

Regulace transkripce drahou beta-kateninu.

Komplex APC, axin GSK3
Fosforylace a dgradace beta-k.

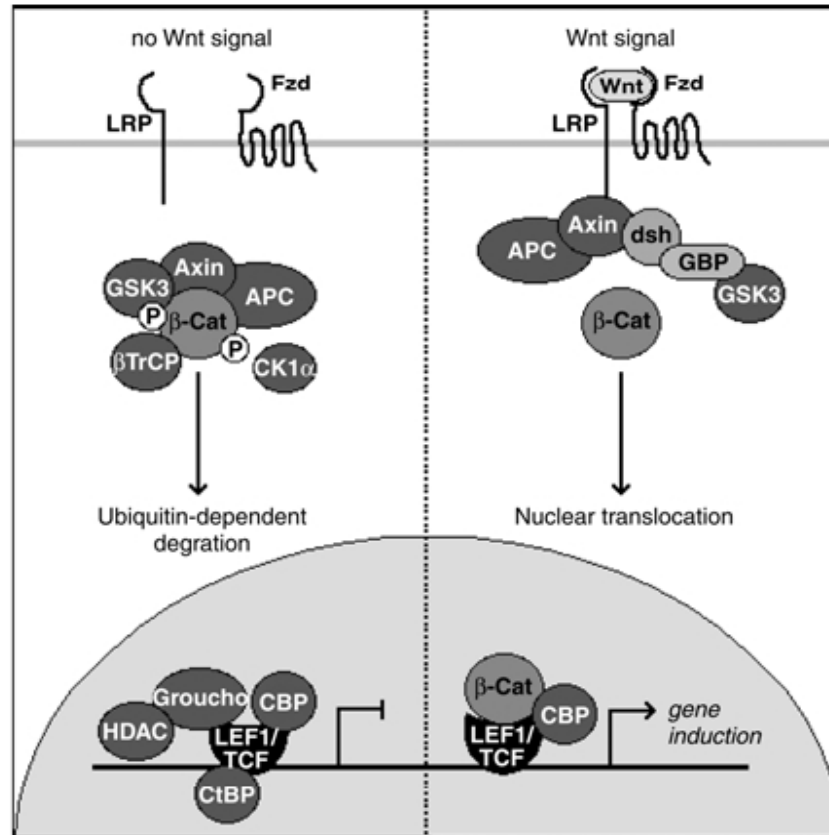


Figure 2. A model of Wnt signaling. In the absence of Wnt ligand (left panel) APC, Axin and GSK3 form a complex that results in β -catenin phosphorylation and degradation. Binding of Wnt to the Frizzled receptors (right panel) results in stabilization of β -catenin that then accumulates in the nucleus where it associates with LEF1/TCF transcription factors to regulate gene expression.

Podpora karcinogeneze

Deregulace:

Vazba Wnt na Frizeled receptory
Stabilizace beta-k.
Akumulace v jádře
Aktivace LEF1/TCF transkripčních faktorů

Schéma Wnt/beta kateninové dráhy

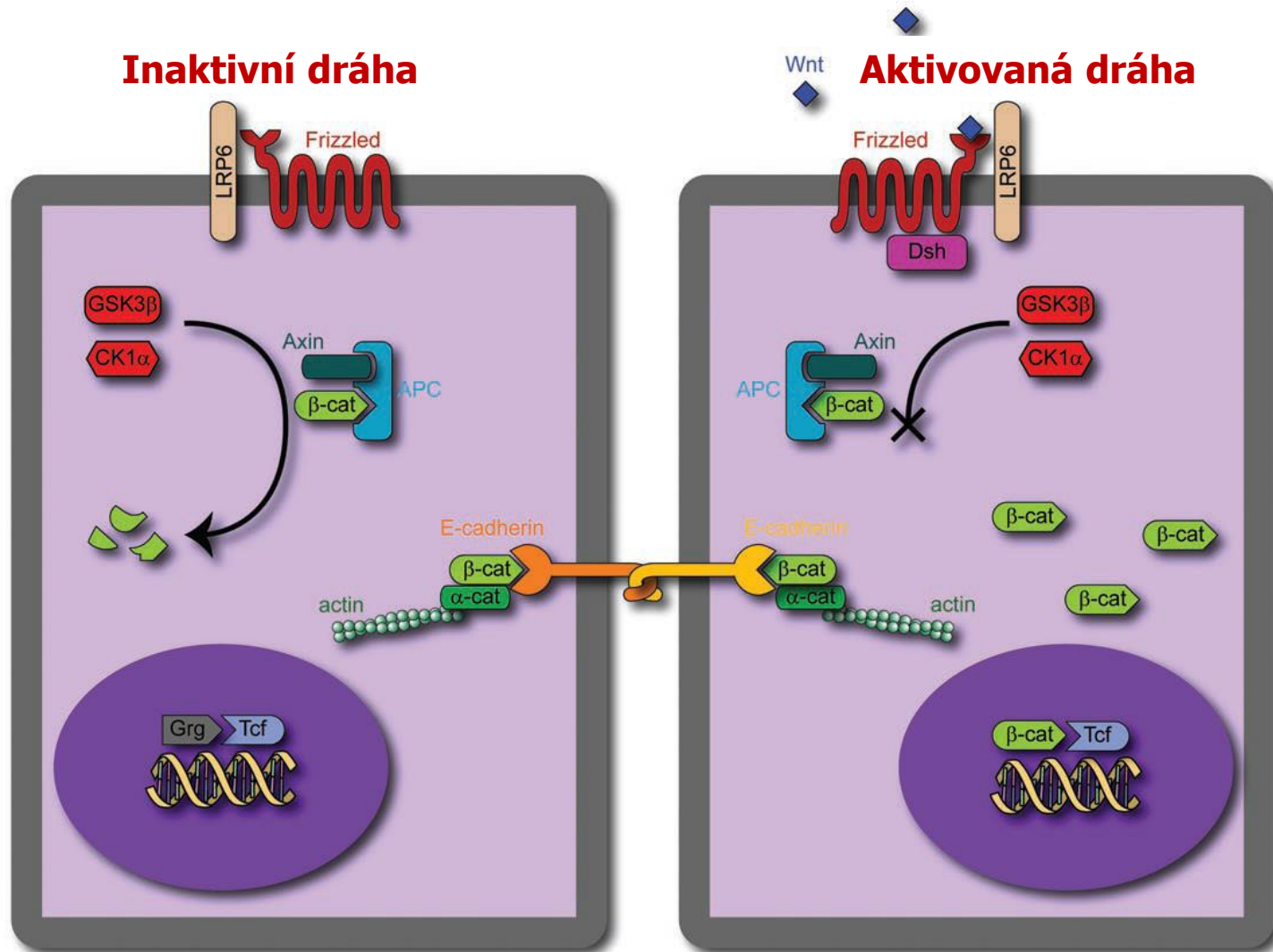
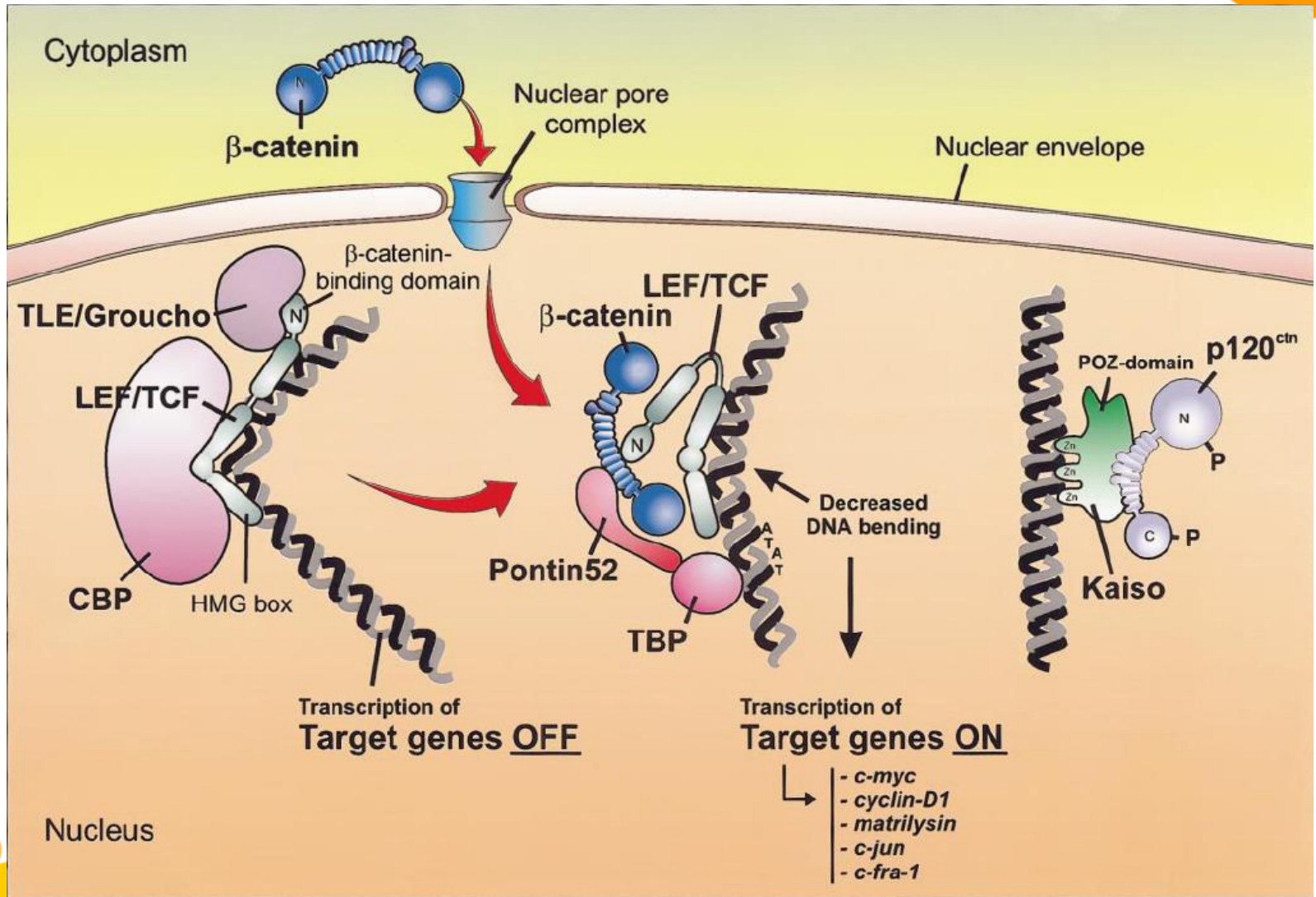
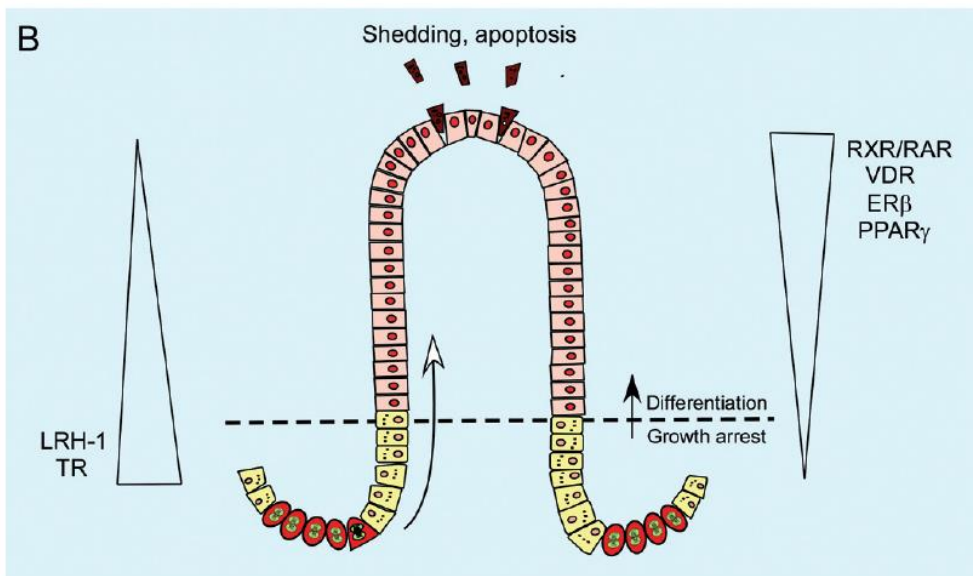
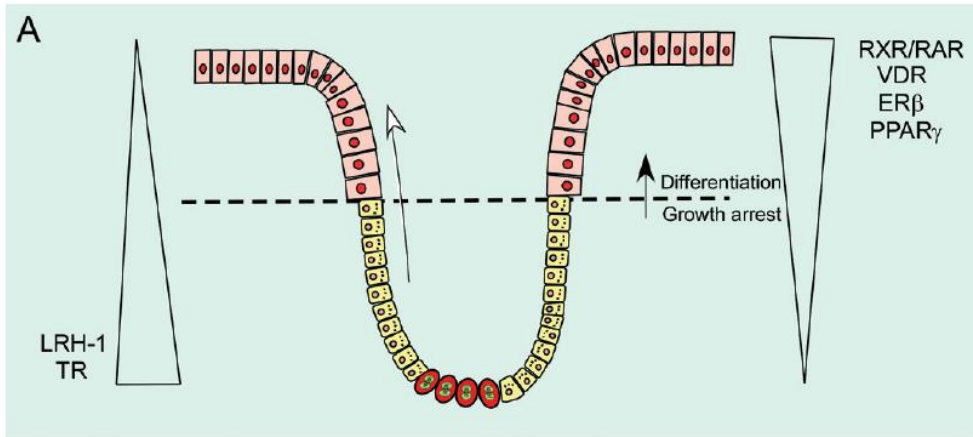


Figure 1. Schematic of Wnt/ β -catenin pathway. (Left) In a naïve cell, β -catenin, when produced, binds to the APC/Axin complex, and is phosphorylated first by CK1 α , then by GSK3 β . This phosphorylation leads to inactivation. The Tcf factor in the nucleus is bound by Groucho, a member of the Grg transcription factor family, which inhibits transcription. β -catenin also has a role in cell-cell adhesion, forming a complex with actin, β -catenin and E-cadherin to form a desmosome. (Right) In contrast, when Wnt is present, it binds to the Frizzled/LRP6 receptor complex, activating Dishevelled (Dsh), which acts to inactivate β -catenin degradation, either through sequestering Axin or through inactivation of GSK3 β . The accumulation of β -catenin in the cell allows for accumulation in the nucleus, allowing β -catenin to bind to Tcf and activate transcription.

Aktivace transkripce onkogenů beta-kateninem prostřednictvím LEF/TCF



Obnova střevního epitelu a jaderné receptory



Mature cells
 Progenitor proliferating cells
 Stem cells

Hladina jaderných receptorů v různých kompartmentech tlustého (A) a tenkého střeva (B).

LRH-1 – liver receptor homology

TR – thyroid hormone receptor

RXR/RAR – retinoid x

receptor/retinoid acid receptor

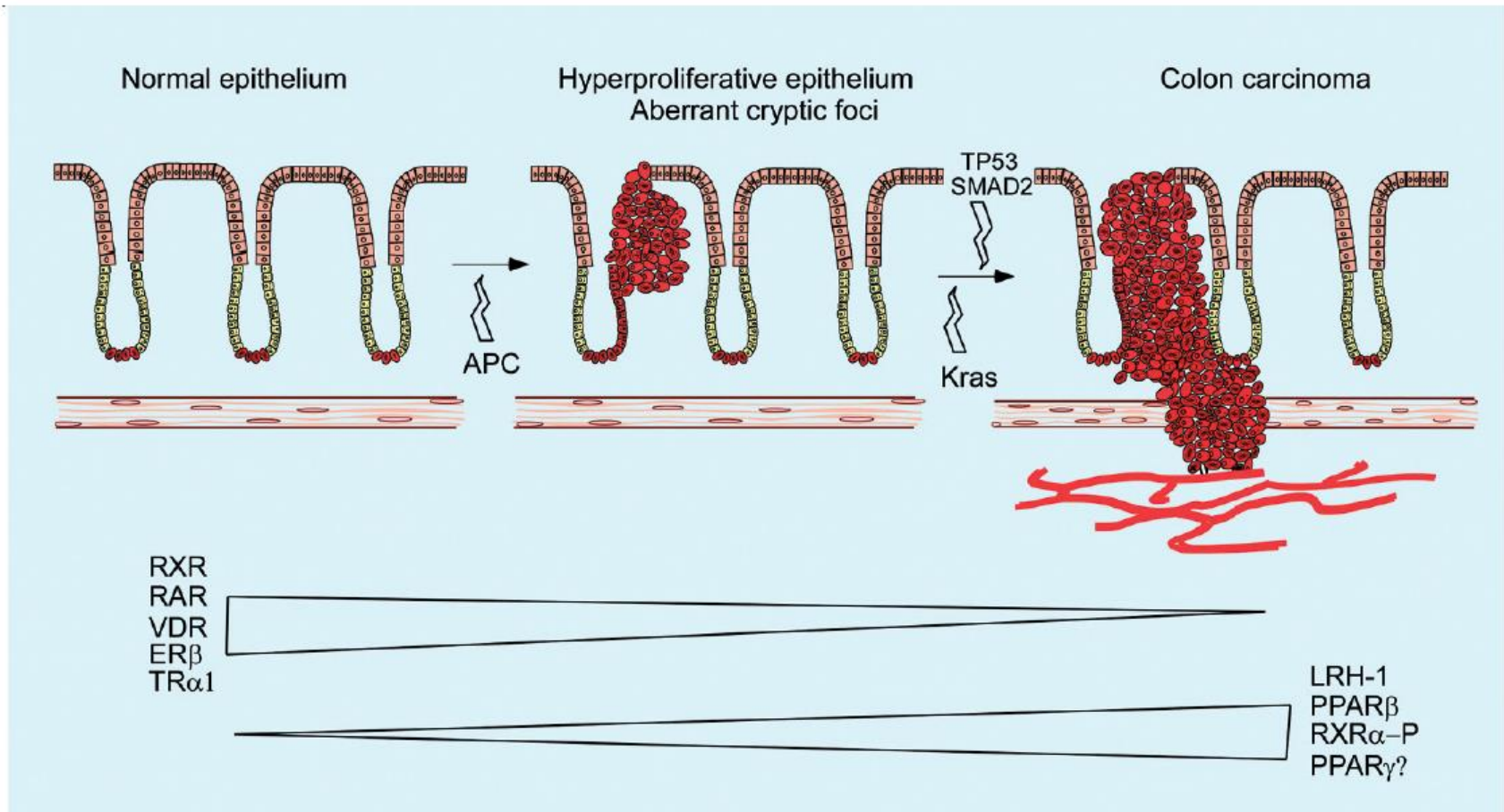
VDR – vitamin D receptor

ER – estrogen receptor

PPAR – peroxisome proliferator-activated receptor

Receptory tvoří homo- nebo heterodimery (např. PPAR-RXR)

Expresse jaderných receptorů během vývoje nádorů kolonu



TP53 – tumor protein 53

SMAD2 – Small mothers against decapentaplegic homolog 2

Faktory vnějšího prostředí

❖ Výživa

- celkový kalorický příjem a frekvence příjmu potravy
- obsah a kvalita tuků v potravě (působení žlučových kyselin, obsah a kvalita nasycených a nenasycených tuků, lipidová peroxidace, zvýšená tvorba prostaglandinů)
- ochranný vliv vlákniny (vazba karcinogenů, zkrácení doby tranzitu střevem, snížení pH)
- vitaminy a další mikrokomponenty živin (vit. A, C a E a selen jsou antioxidanty)
- konzumace alkoholu a kávy
- kouření (hlavně doutníky a dýmky)
- potravinové mutageny (zejména heterocyklické aminy ve vařeném a pečeném masu a tucích)
- konzumace masa a vajec (vyšší konzumace je riziková – vepřové, hovězí, jehněčí)



❖ **Fyzická aktivita**

- nedostatek je rizikovým faktorem
- předpoklad modifikace diety s vysokým obsahem tuků

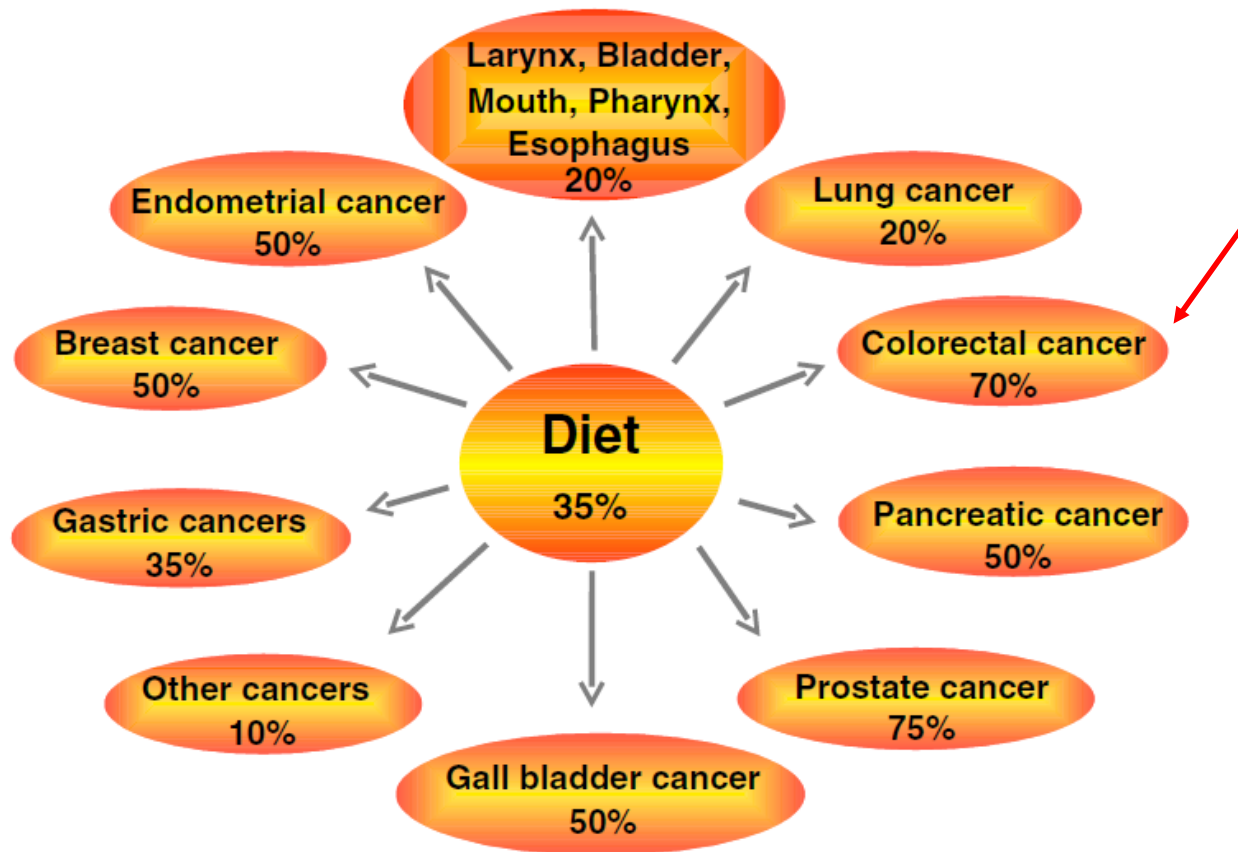
❖ **Profesionální faktory**

- profese zdrojem látek zvyšujících riziko nádorů kolorekta (zejména kovoprůmysl, automobilový a dřevařský průmysl)

❖ **Věk** (zvýšený výskyt s věkem)

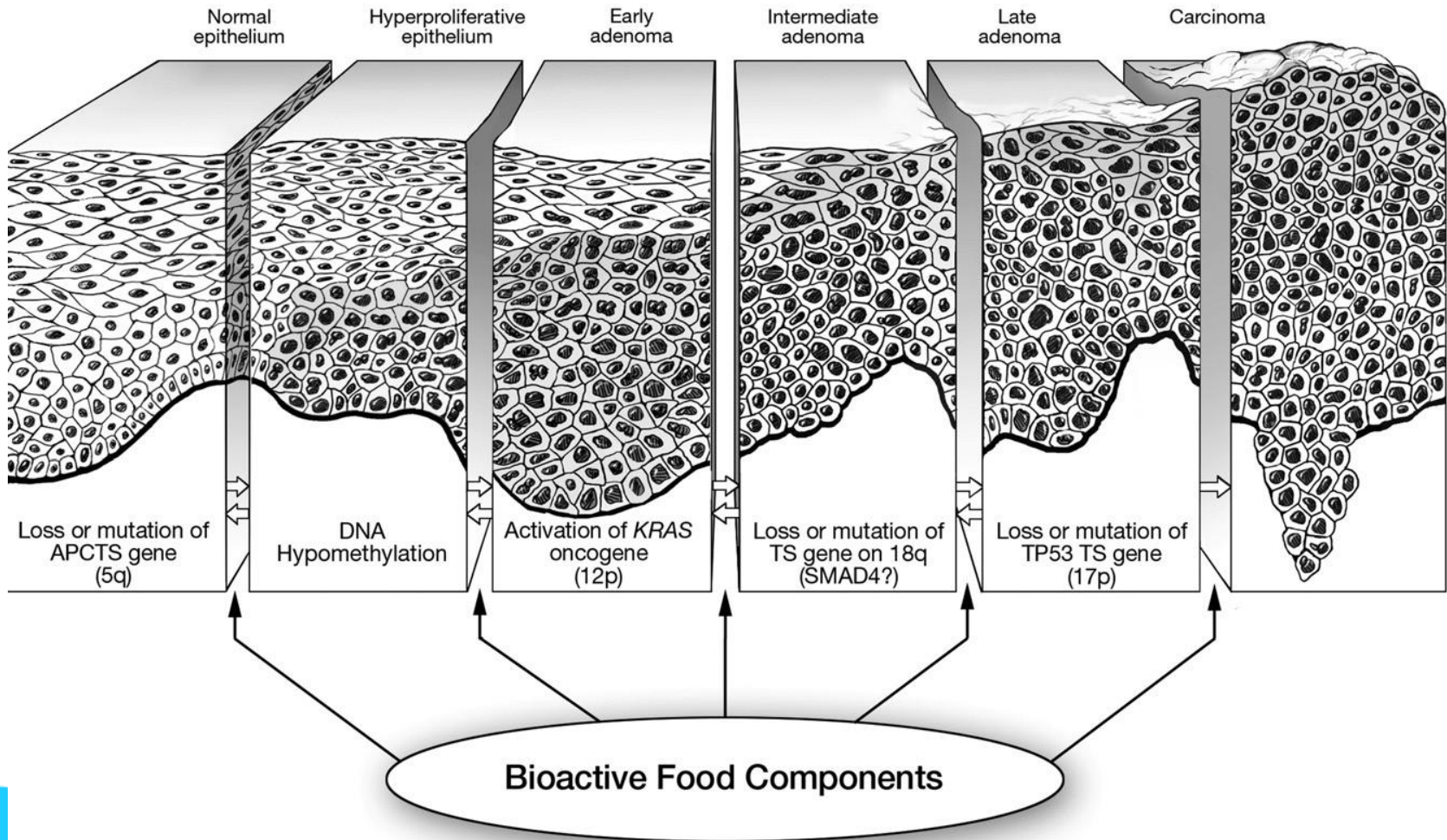
❖ **Neefektivní imunitní systém**

Úmrtí na nádory spojená s dietou



Bioaktivní složky potravy

Ve všech stádiích rozvoje karcinomu se mohou uplatňovat **bioaktivní složky potravy**. Mohou jak brzdit tak stimulovat progresi jednotlivých stádií.



CHEMOPREVENTION

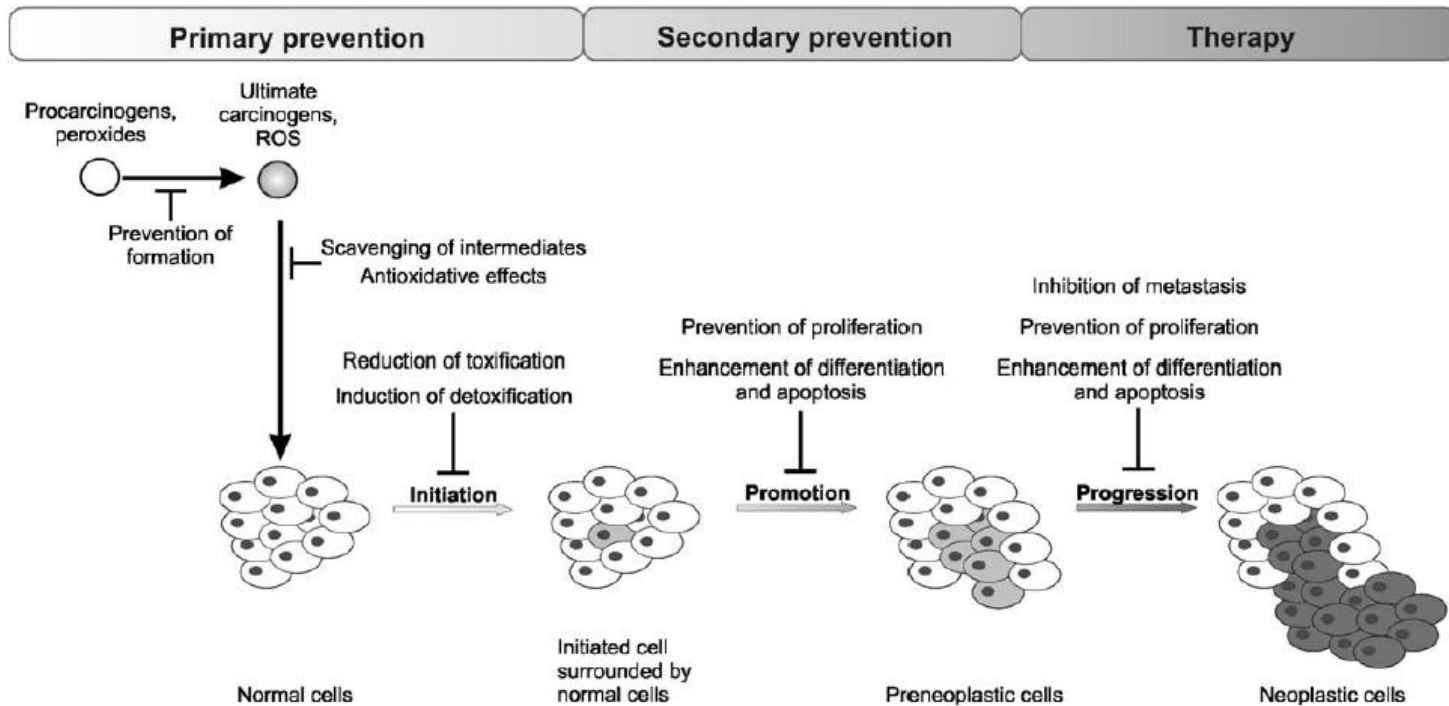


Fig. 1. Different phases of chemoprevention. Primary prevention inhibits the initiation of cells by reducing toxification or inducing detoxification. Secondary prevention describes the reduced promotion of initiated cells to preneoplastic cells by preventing proliferation and/or inducing apoptosis or differentiation. Therapy focusses on limiting progression of cells from preneoplastic to neoplastic status (ROS, reactive oxygen species).

Chemopreventivní látky

Antioxidanty; vápník; selen; folát, atd.

Vláknina - Mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SCFA)

- C2-5 organické mastné kyseliny (acetát, propionát, **butyrát**)
- vznikají bakteriální anaerobní fermentací vlákniny a účastní se regulace funkcí a cytokinety v kolonu
- butyrát - významný pro udržení homeostázy ve střevní tkáni regulací exprese genů spojených s regulací proliferace, diferenciace a apoptózy (microarray analýza – změny exprese 19 400 genů), inhibitor histon deacetyláz (HDAC), exportní protein MCT1
- butyrát slouží jako zdroj energie pro normální kolonocyty a indukuje diferenciaci a apoptózu neoplastických kolonocytů *in vitro* a *in vivo*

Nesteroidní protizánětlivé látky (NSAIDs) –aspirin, ibuprofen, indometacin, coxiby



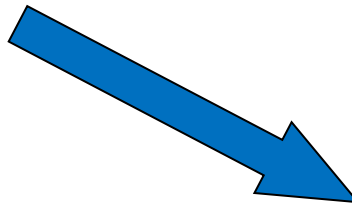
Vláknina → **mikrobiální fermentace** →

Mastné kys. s krátkým řetězcem



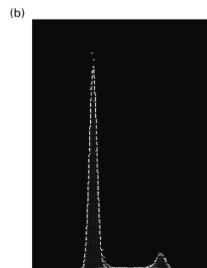
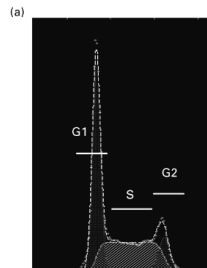
Psyllium

Rozdílné účinky

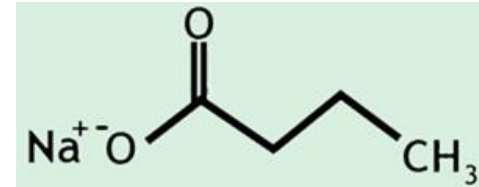


normální kolonocyty

- zdroj energie
- zvýšená proliferace
- omezená apoptóza



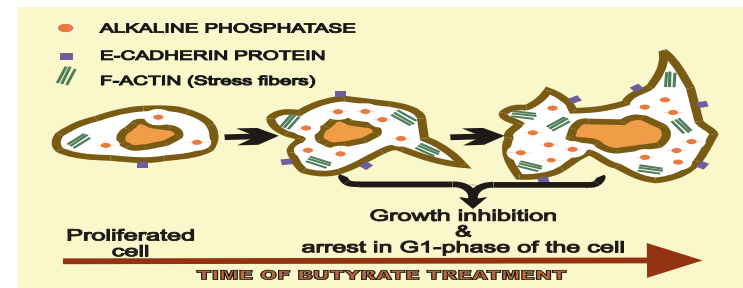
Butyrát sodný



ovlivnění genové exprese
deacylace histonů

Nádorové buňky kolonu

- snížení proliferace
- indukce diferenciacce
- indukce apoptózy



! Vliv na karcinogenezi kolonu !

Vliv folátu - účinky poškození DNA, reparace a metylace na karcinogenezi kolonu

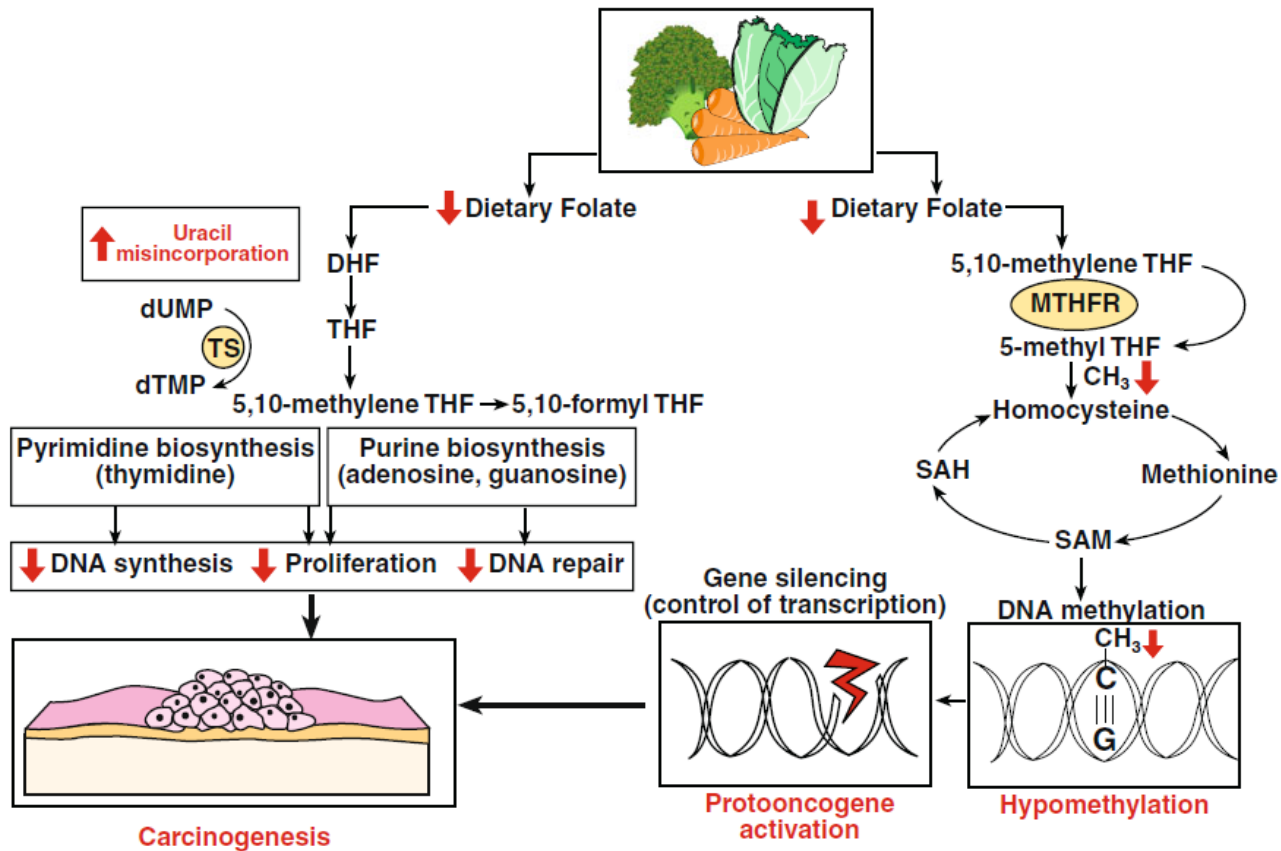


Fig. 1 Folate and one-carbon metabolism: regulation of DNA synthesis, repair and methylation. A simplified scheme describing how dietary and cellular folates mediate normal DNA synthesis, repair and methylation and how folate depletion impacts on these processes. *DHF* dihydrofolate, *THF* tetrahydrofolate, *5,10-methylene THF* 5,10-methylenetetrahydro-

folate, *5,10-formyl THF* 5,10-formyltetrahydrofolate, *5-methyl THF* 5-methyltetrahydrofolate, *SAM* s-adenosylmethionine, *SAH* s-adenosylhomocysteine, *MTHFR* methylenetetrahydrofolate reductase, *dUMP* deoxyuridine monophosphate, *TMP* thymidine monophosphate, *TS* thymidylate synthase

Metabolismus kyseliny arachidonové (AA, 20:4, n-6)

Mechanismy působení vysoce nenasycených mastných kyselin (PUFAs) zahrnuté v kolorektální karcinogenezi

Přeměna AA katabolizována cyklooxygenázami, lipoxygenázami a monooxygenázami typu cytochromu P450

Cyklooxygenáza 2 (COX-2)

u kolorektálních karcinomů je zvýšena exprese COX-2 a množství produktu prostaglandinu E2 (PGE2)

PGE2

- stimuluje růst a inhibuje apoptózu nádorových buněk.
- působí na funkce imunitních buněk (imunosuprese) a má prozánětlivé účinky

Nesteroidní protizánětlivé látky (antiflogistika – NSAIDs) inhibují COX-2 a snižují zánět a riziko kolorektálních nádorů

Lipoxygenázy - LOX (5-, 12, -15)

U kolorektálních karcinomů zvýšené zejména produkty 12- a 15- LOX (hydroperoxykyseliny –HPETE)

Produkty AA mohou ovlivňovat cytokinetiku, adhezivitu a invazivitu

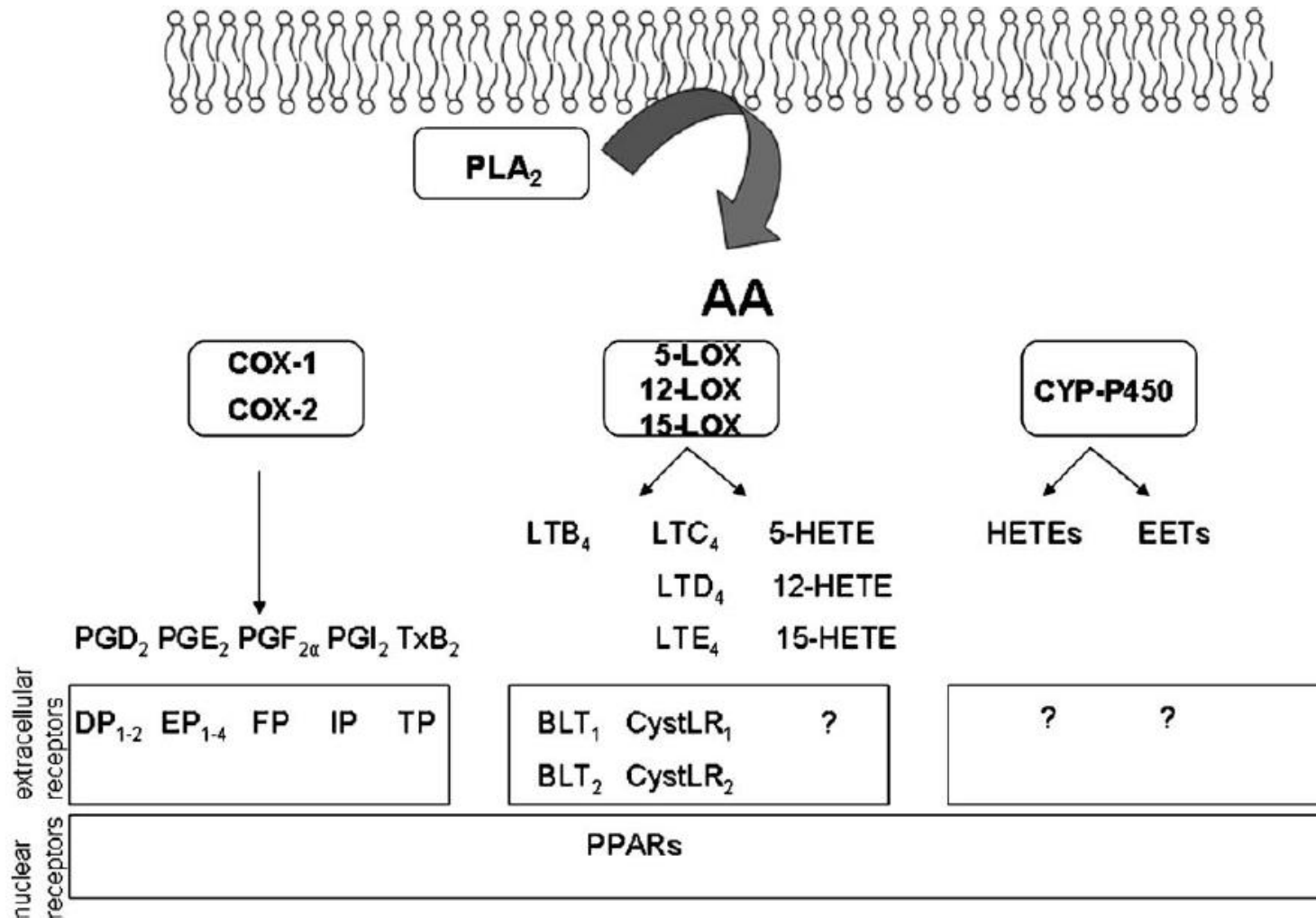
Změny genové exprese - aktivace specifických transkripčních faktorů (PPARs, NFκB, AP1)

Účinky lipidové peroxidace (LP)

Produkty LP mohou mít genotoxické účinky a mohou ovlivňovat buněčný cyklus.

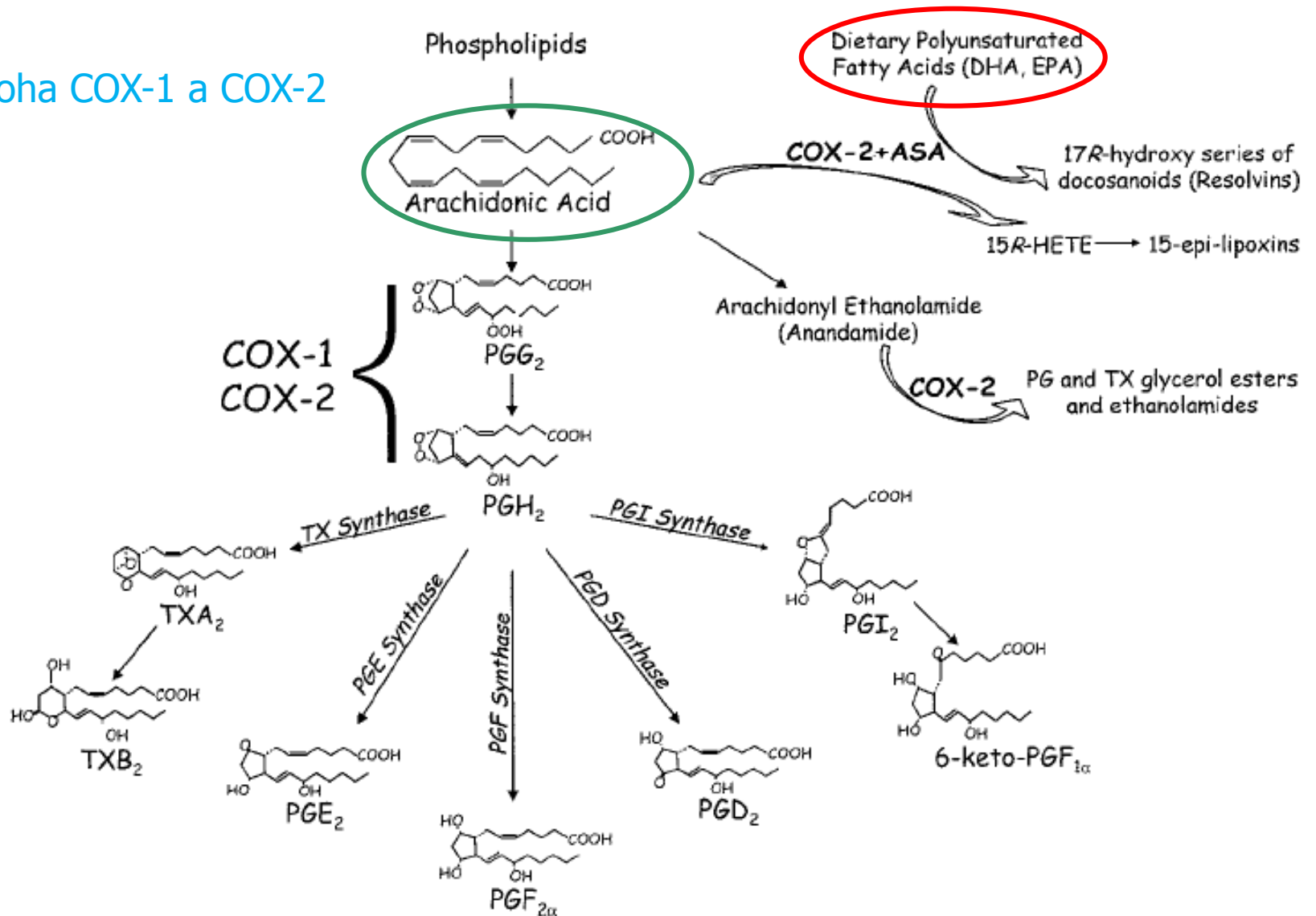
Během LP jsou produkovány reaktivní kyslíkové radikály (ROS), které mohou např. aktivovat NF-κB

Schéma hlavních enzymů, metabolitů a receptorů přeměny AA



Dráhy přeměny kyseliny arachidonové v prostaglandiny

Úloha COX-1 a COX-2



Konstitutivní COX-1 a inducibilní COX-2 izoenzymy

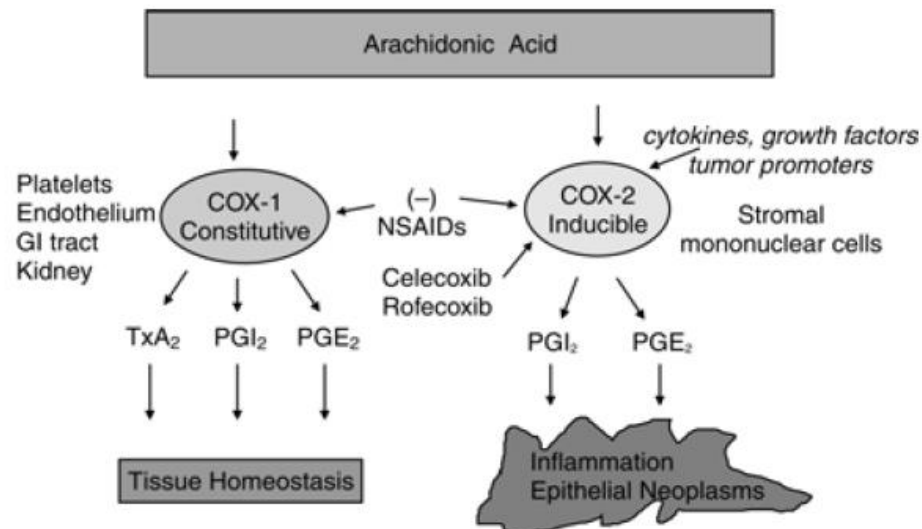


Figure 1. COX isoforms include constitutive COX-1 which is involved in normal tissue homeostasis and inducible COX-2 which is upregulated at sites of inflammation and in colorectal neoplasms. NSAID inhibit both COX isoforms, whereas COX-2 inhibitors are selective for the COX-2 enzyme. TxA₂ = - thromboxane.

COX-1 zajišťuje tkáňovou homeostázu,
COX-2 zvýšena v místech zánětu a u kolorektální neoplasie
NSAIDs inhibují obě izoformy, selektivní inhibitory COX-2;
TxA₂ - tromboxan

COX-2 je nadměrně exprimována u 40-90% kolorektálních adenomů a u 90% adenokarcinomů

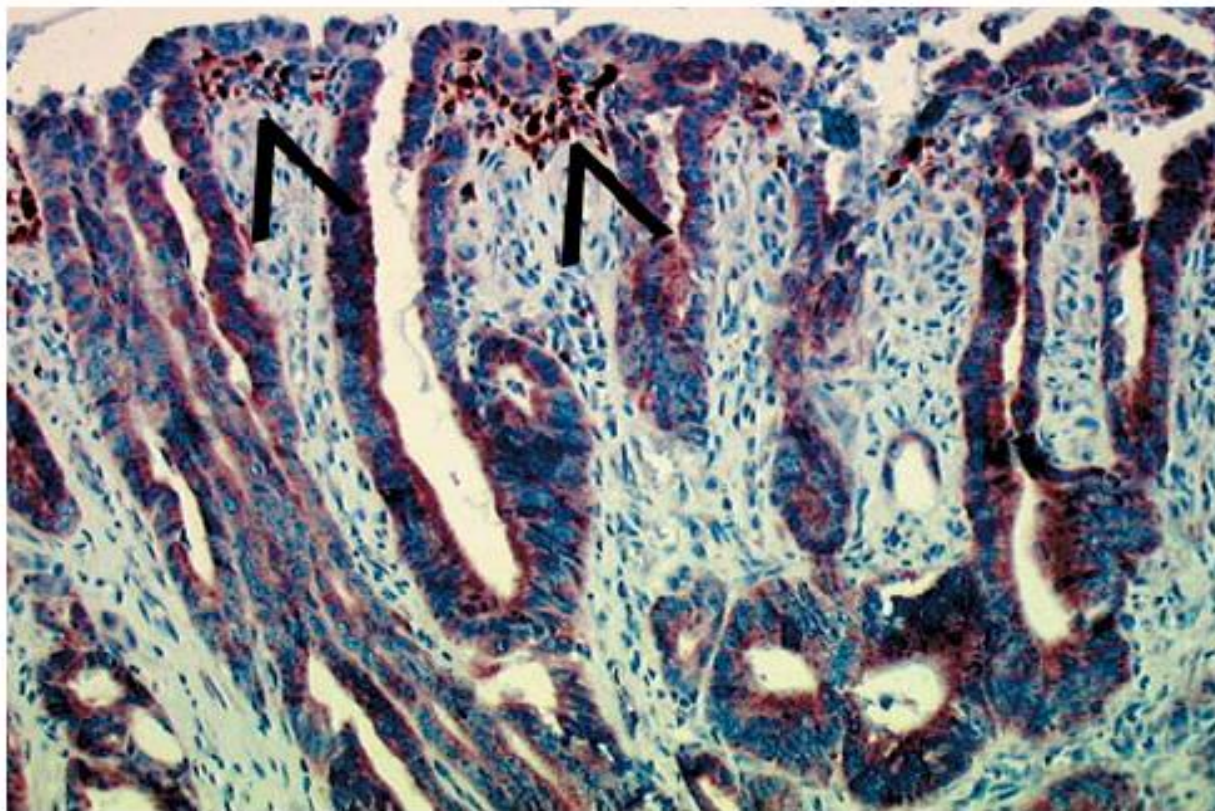


Fig. 2 COX-2 expression in tumoral cells and superficial interstitial cells (*arrows*) in a well differentiated colon adenocarcinoma. Immunohistochemistry, $\times 200$

Rehman A.G. Et al., Colorectal Disease 4, 2002:76-89

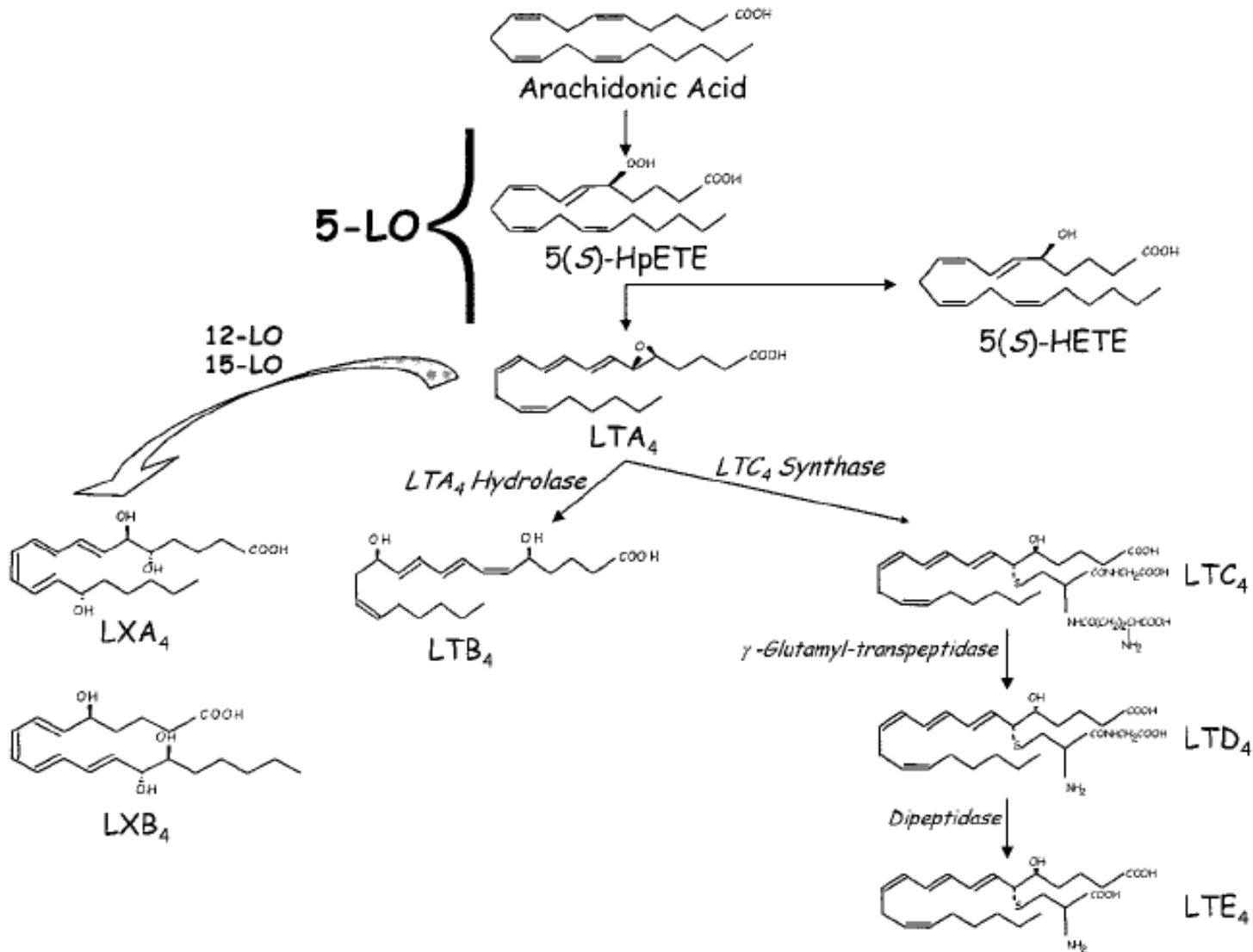
Zvýšená exprese COX-2 u nádorů

Table 1. COX2 expression in malignant or premalignant human tumours

Premalignant or malignant lesion	COX2 expression (%)
Colorectal	80–90
Gastric	80
Oesophageal	70
Hepatocellular (liver cirrhosis)	54 (81)
Pancreatic	67
Head and neck	80
Non-small-cell lung cancer	70
Breast (ductal carcinoma-in-situ)	40 (60)
Prostatic	83–93
Bladder	86
Cervix	43
Endometrial	37
Cutaneous basal cell	25
Cutaneous squamous cell	80
pPNET	100
Glioblastoma multiforme	71–74
Anaplastic astrocytoma (low grade)	44 (30)

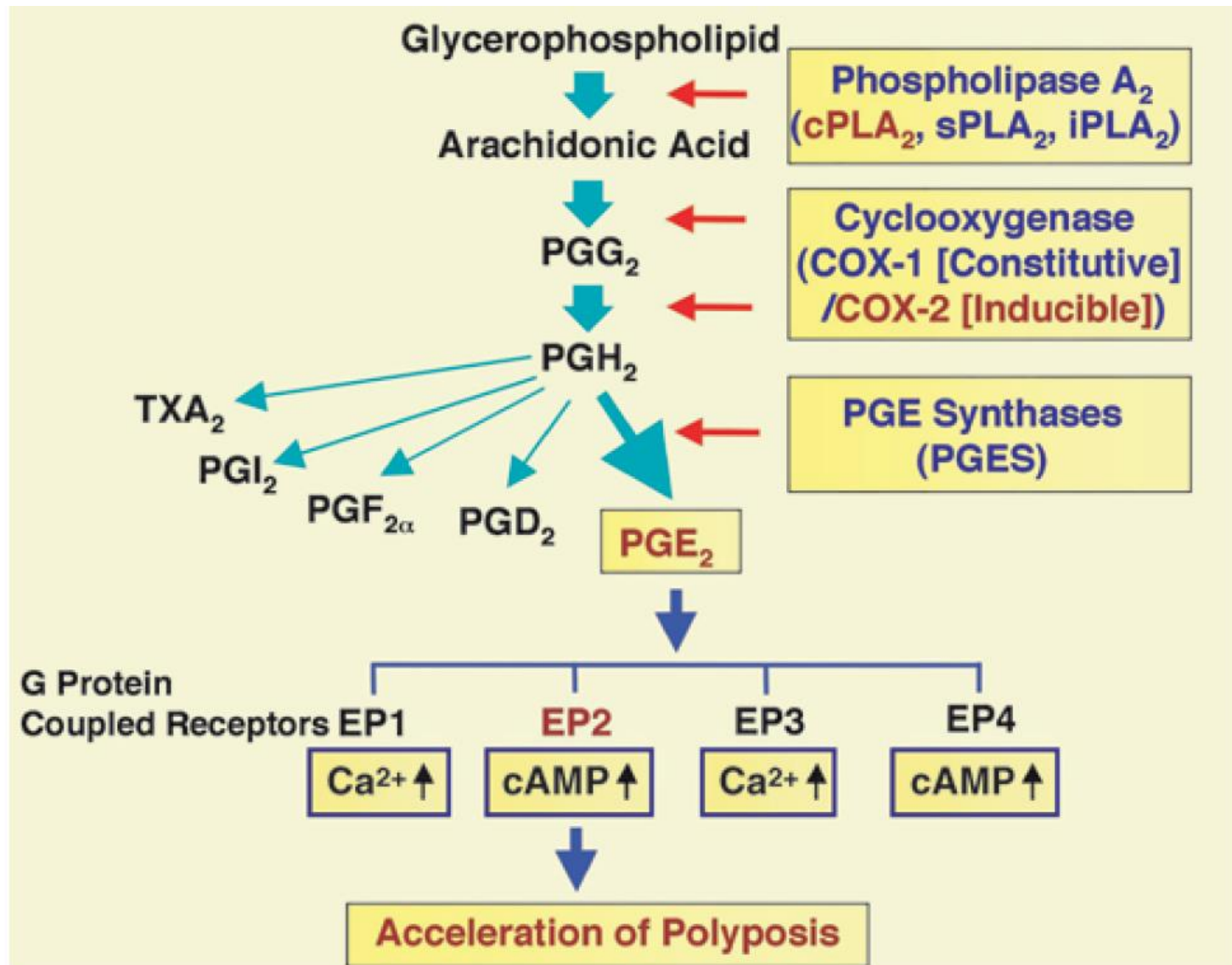
References available at <http://image.thelancet.com/extras/03oncl205webfr.pdf>

Dráha 5-lipoxygenázy - vznik leukotrienů



Romano M and Claria J., FASEB J 17, 2003:1986-1995

Metabolismus AA v kontextu vzniku střevní polypózy



Signální molekuly spojené s působením COX-2

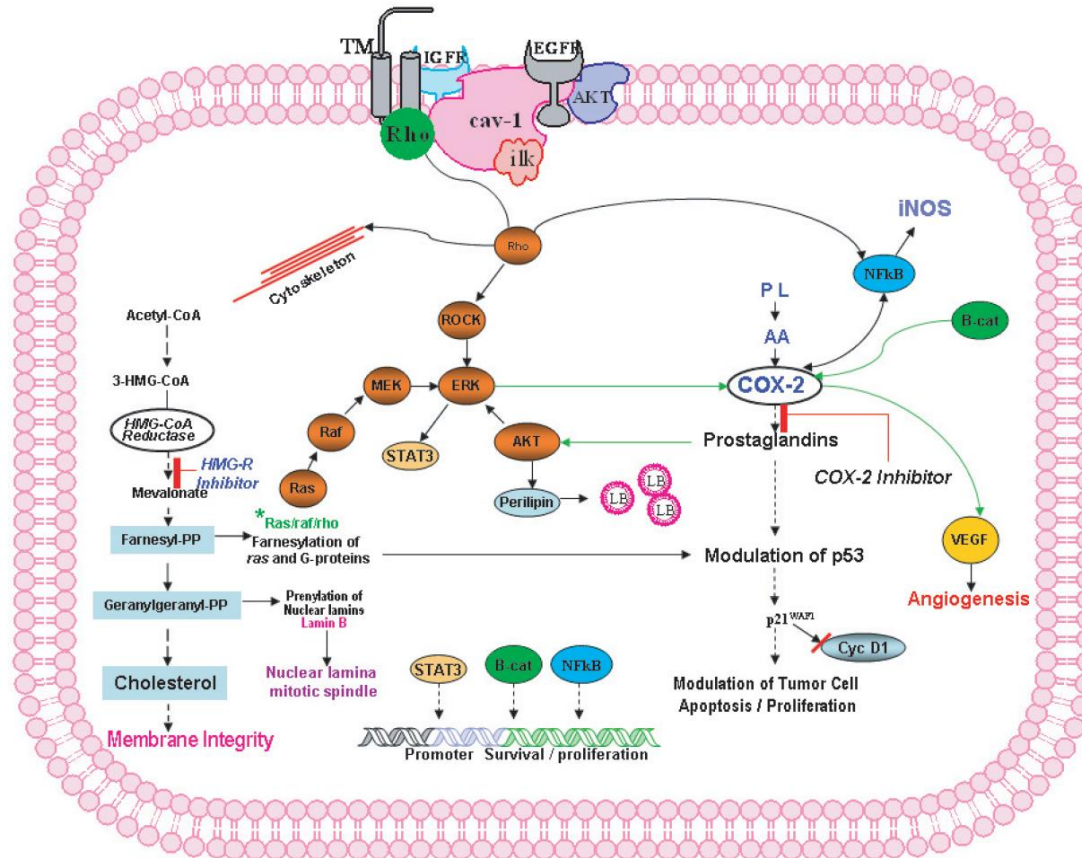
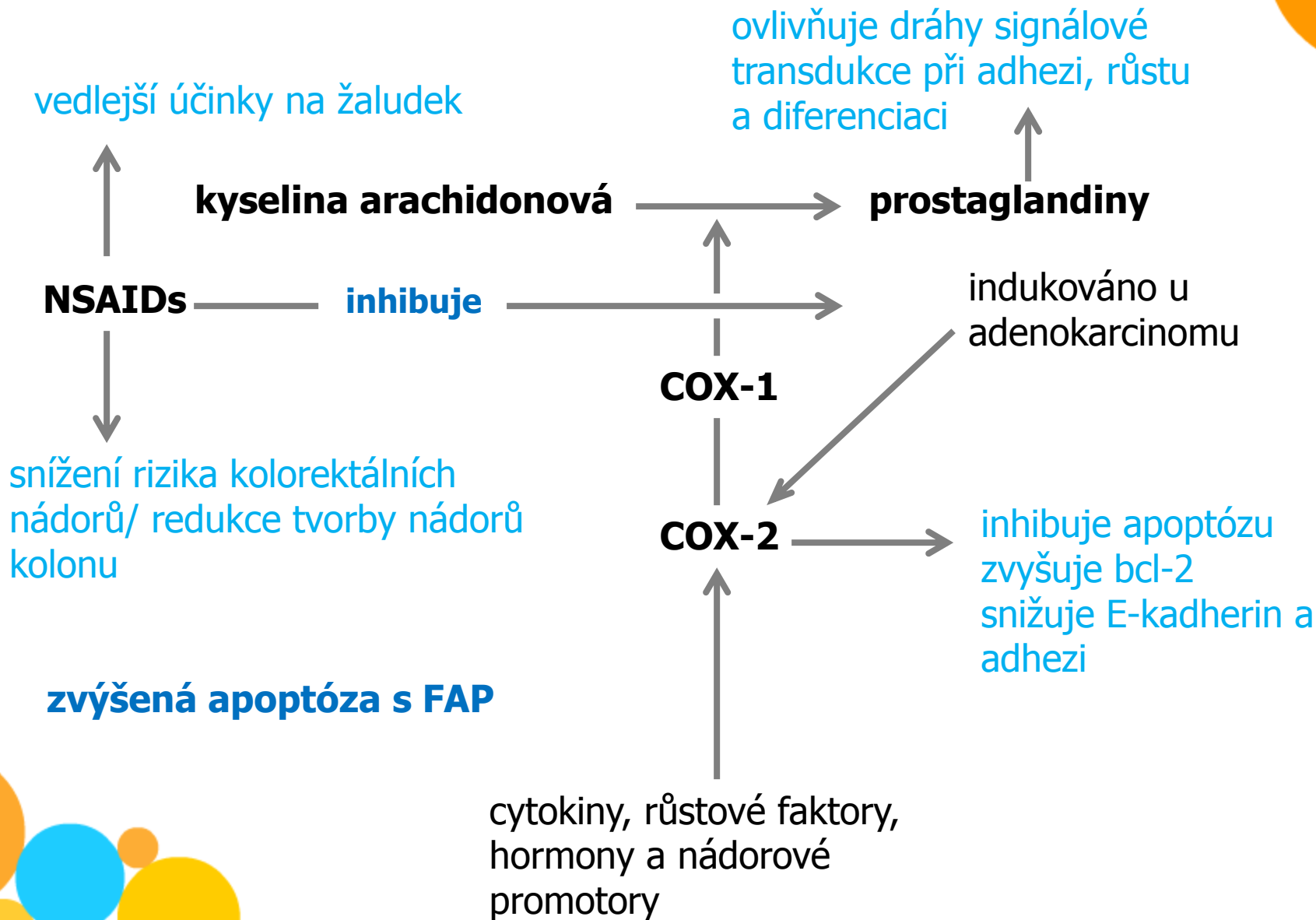


Figure 2. COX-2 and HMG-CoA reductase pathway and its associated signaling molecules.

HMG-R inhibitors block the conversion of 3-HMG-CoA to mevalonate, preventing the formation of Farnesyl-PP and Geranylgeranyl-PP and subsequently, prenylation of Ras, Raf, Rho and lamin B. HMG-R inhibitors also block cholesterol, thereby disrupting Cav-1 associated signaling and lipid bodies. COX-2 activates β-Catenin, AKT and subsequently STAT3 and NFκB. STAT3, β-Catenin and NFκB then translocate to the nucleus and transcribe genes involved in survival and proliferation. COX-2 also promotes lipid body formation.

Abbreviations: NFκB: nuclear factor κB; Cyc D1: Cyclin D1; B-Cat: β-catenin; ERK: extracellular regulated kinase; AKT: also known as protein kinase B (PKB); STAT3: signal transducer and activator of transcription; Cav-1: caveolin-1; EGFR: epidermal growth factor receptor; IGFR: insulin growth factor receptor; TM: transmembrane protein; LB: lipid bodies; PL: phospho lipids; AA: arachidonic acid; COX-2: cyclooxygenase 2; VEGF: vascular endothelial growth factor; iNOS: inducible nitric oxide synthase; ilk: integrin linked kinase; ROCK: Rho kinase; MEK: MAP kinase.

Účinky COX-2 a vztah k apoptóze v tlustém střevě



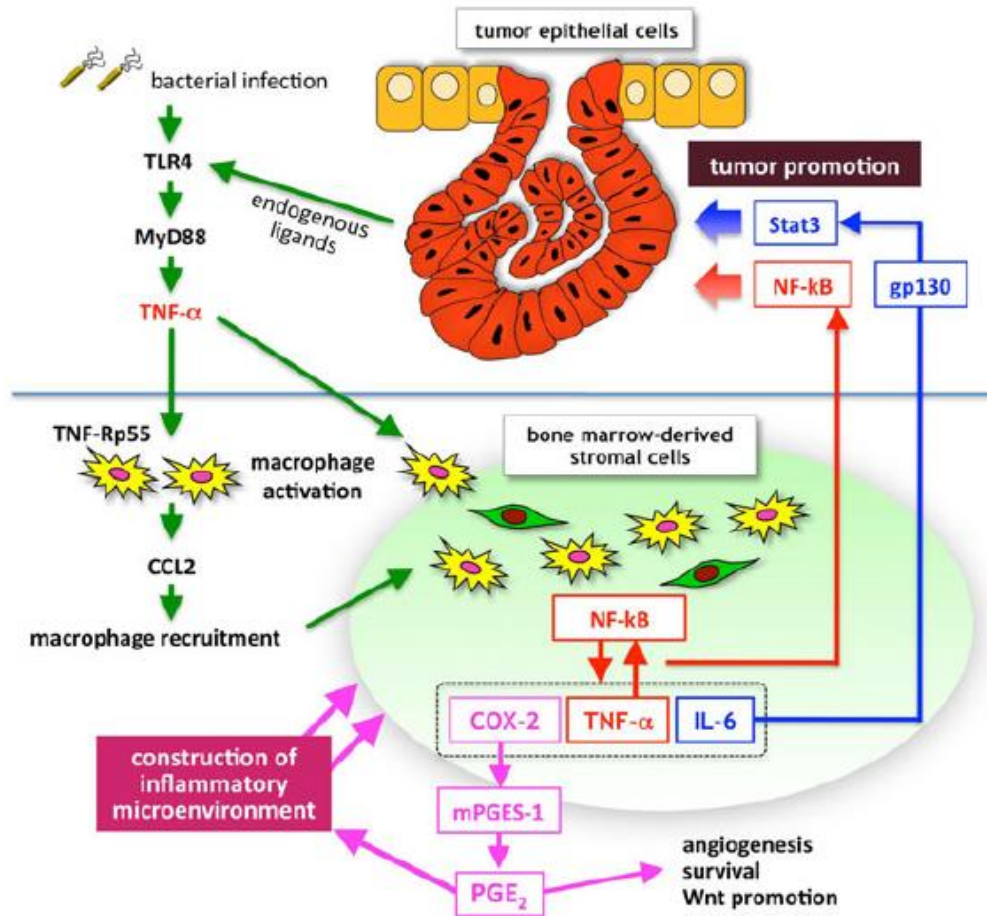


Fig. 2 A schematic diagram of the inflammatory microenvironment in gastrointestinal tumor tissues. Bacterial infection or endogenous ligand activates the Toll-like receptor (TLR)/MyD88 pathway in epithelial cells, which further activate stromal macrophages inducing CCL2. In the activated macrophages, NF-κB induces the expression of COX-2, IL-6, and TNF-α itself. The COX-2/PGE₂ pathway is important for the construction and maintenance of the inflammatory

network, and PGE₂ accelerates angiogenesis, cell survival, and Wnt activation. TNF-α activates NF-κB in both epithelial cells and stromal macrophages, whereas IL-6 activates Stat3 in epithelial cells through gp130. NF-κB and Stat3 play an important role in the promotion of tumorigenesis through suppression of apoptosis and acceleration of the cell cycle. *mPGES-1* Microsomal PGE synthase-1

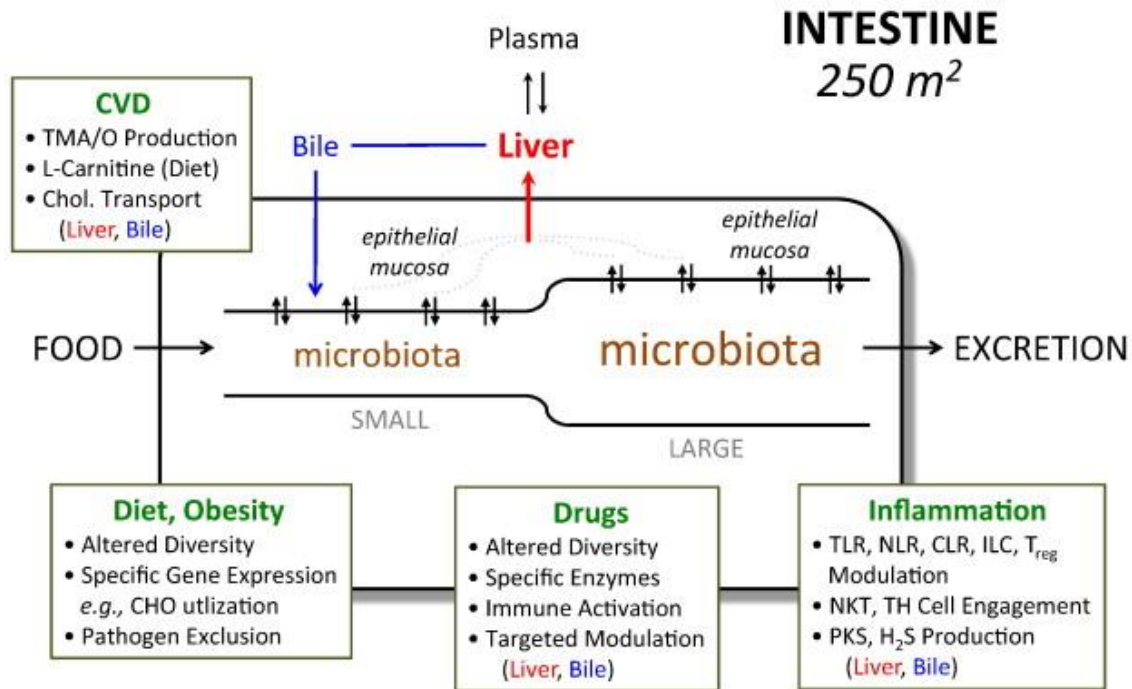


Fig. 3. The vast surface area of 250 m² of the intestinal compartment is colonized by a diverse community of trillions of commensal bacterial cells (orange) and lined by mucosal epithelia (mucosa) unique in structure and function to each region of the GI tract...

Matthew R. Redinbo

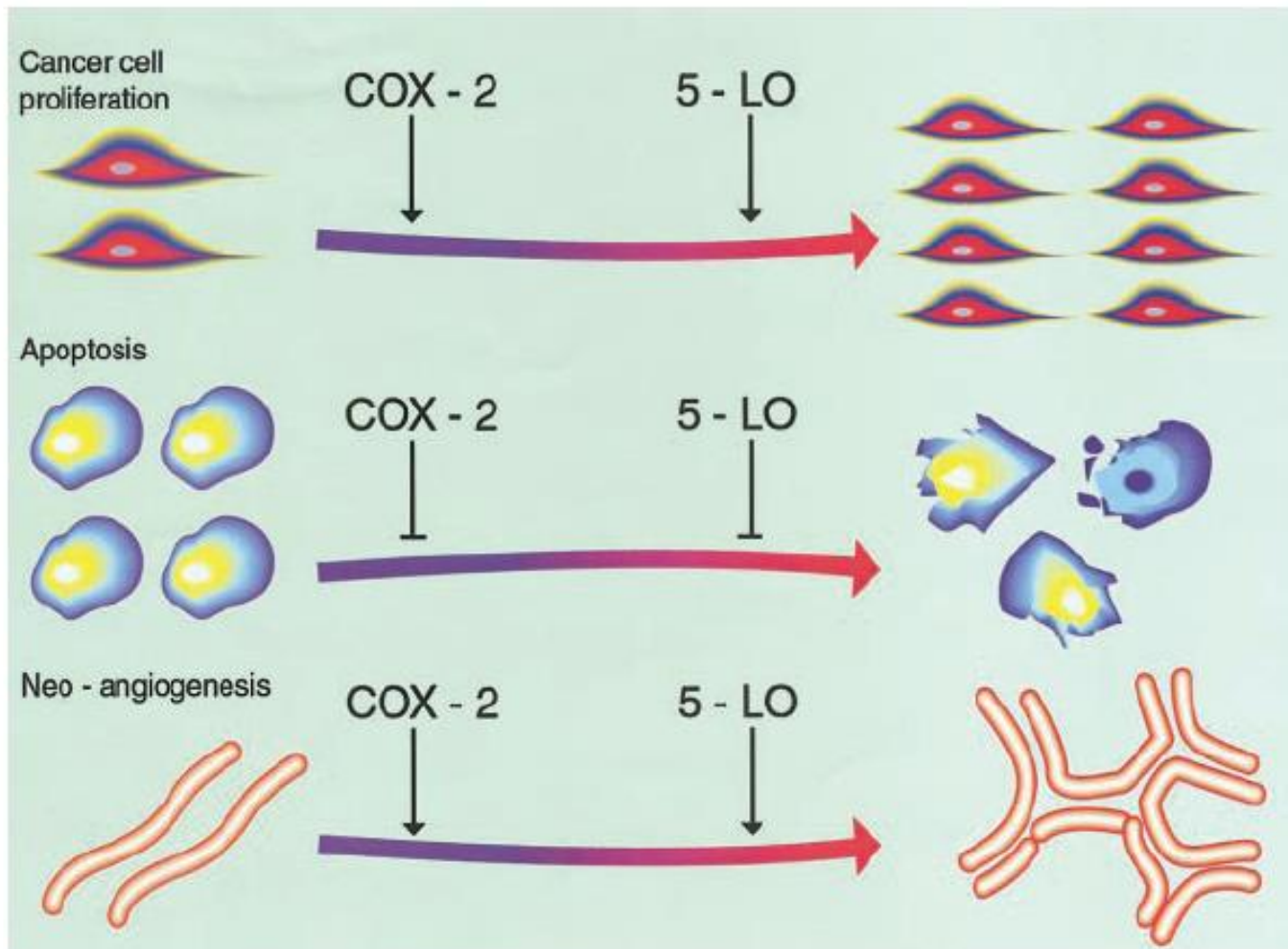
The Microbiota, Chemical Symbiosis, and Human Disease

Journal of Molecular Biology, Volume 426, Issue 23, 2014, 3877–3891

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jmb.2014.09.011>

The vast surface area of 250 m² of the intestinal compartment is colonized by a diverse community of trillions of commensal bacterial cells (orange) and lined by mucosal epithelia (mucosa) unique in structure and function to each region of the GI tract. Local exchange across the mucosa is indicated by small arrows. Distinct from the other major mucosal tissues presented here, materials absorbed from the intestinal compartment pass via the portal vein to the liver (red) prior to potentially reaching systemic circulation. Furthermore, this compartment is also distinct in having two major input sources, the food and other materials from the oral cavity, and the liver-generated bile (blue) and other secretions from the local organs such as the pancreas and gall bladder. Features associated with the microbiota and diet and obesity, cardiovascular disease (CVD), inflammation, and drug toxicity are highlighted. Some links to the unique roles the bile and liver play in sending and receiving, respectively, material from the GI are noted. As indicated, the GI microbiota also impact the other compartments considered via the immune system.

COX-2 i 5-LPO stimulují buněčnou proliferaci, inhibují apoptózu a indukují neoangiogenezi



ÚLOHA COX-2 V ANGIOGENEZI

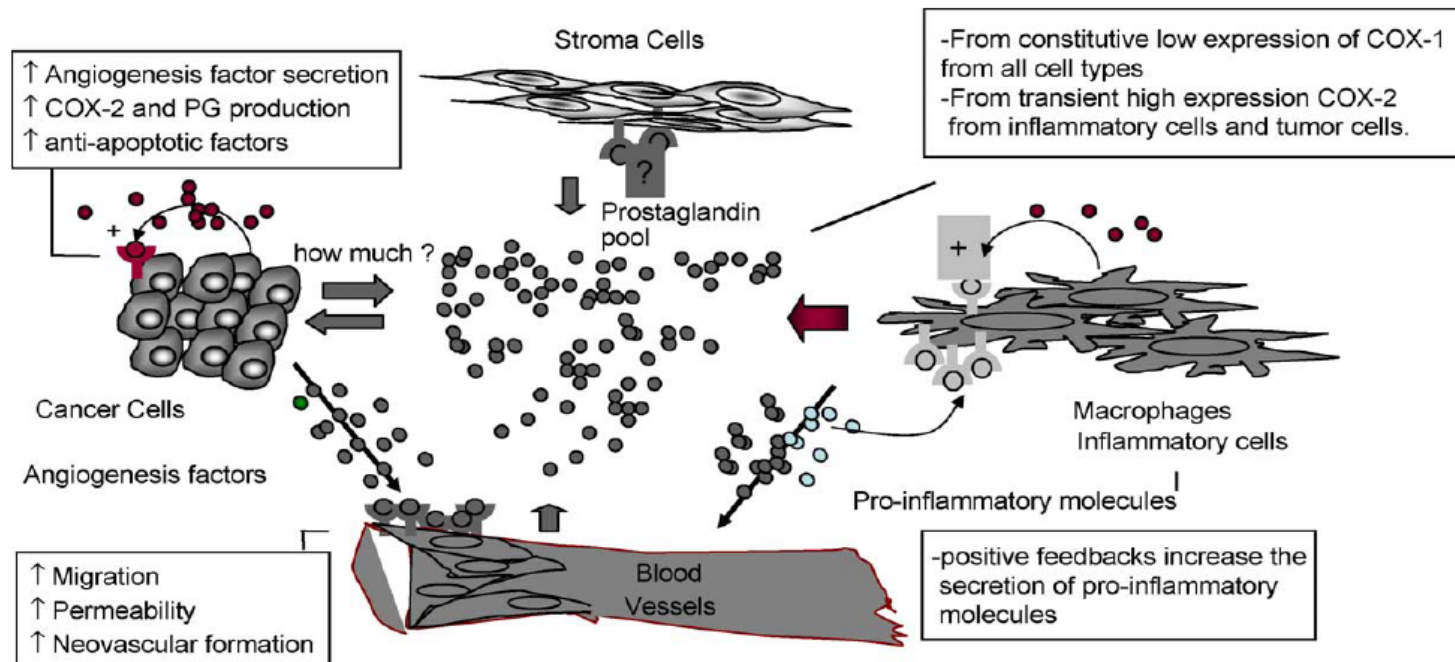


Fig. 1. COX-2 in angiogenesis. This figure models the interactive relationship among cancer cells, endothelial cells and infiltrating inflammatory cells at the site of tumorigenesis. The prostaglandin pool is contributed to by all three different cell types and occasionally stromal cells. The positive feedback through prostaglandin receptors increases COX-2 expression and ensures the continued generation of prostaglandins. In the cancer cell, prostaglandin signaling also results in the production of multiple angiogenesis factors, through which they stimulate neovascular formation at the site of tumorigenesis. In inflammatory cells, prostaglandin signaling stimulates the generation of pro-inflammatory molecules such as IL-2, which further recruits additional circulating monocytes and amplifies the inflammatory response. As a response to increased levels of prostaglandins, angiogenesis factors and pro-inflammatory molecules, endothelial cells proliferate, migrate and undergo tubal formation, providing additional nutrients for oncogenesis as well as a potential route for metastasis.

Interakce mezi nádorovými buňkami, endoteliálními buňkami a infiltrujícími buňkami imunitního systému při zánětu v místě nádoru. Pozitivní smyčka přes EP receptory zvyšuje expresi COX-2 a produkci PGs. Ty zvyšují produkci proangiogenních faktorů – neovaskularizace. V zánětlivých buňkách PG stimuluje produkci prozánětlivých cytokinů – IL-2 – amplifikace zánětlivé odpovědi. Podpora proliferace a migrace endoteliálních buněk – vytváření cesty pro invazi.

Mechanismy účinků COX-2 na vývoj kolorektálních nádorů:

Účinky nezávislé na produkci prostaglandinů (PGE₂):

Aktivace karcinogenů

- Produkce malondialdehydu
- Redukce hladiny volné AA

Účinky závislé na produkci PGE₂:

- Indukce buněčné proliferace
- Inhibice apoptózy
- Indukce angiogeneze
- Zvýšení buněčné motility
- Zvýšené metastatického potenciálu
- Indukce lokální imunosuprese

Komunikace mezi různými typy buněk se zvýšenou expresí COX-2 podporuje karcinogenezi

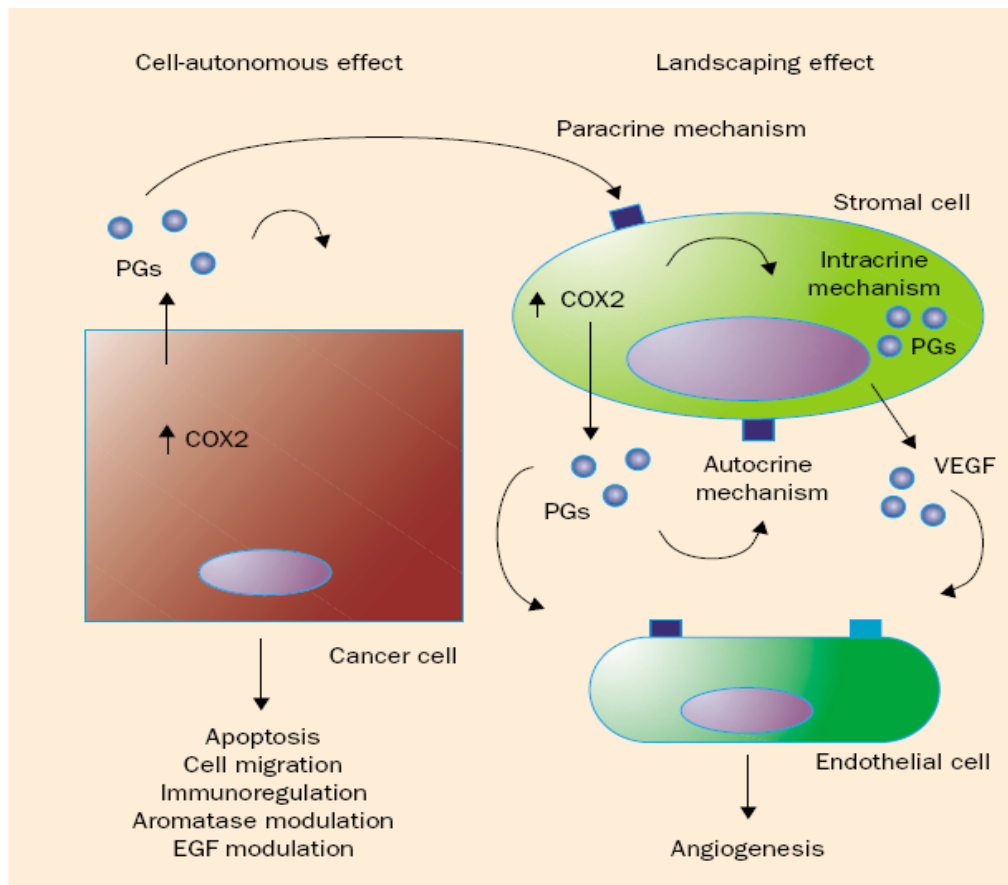
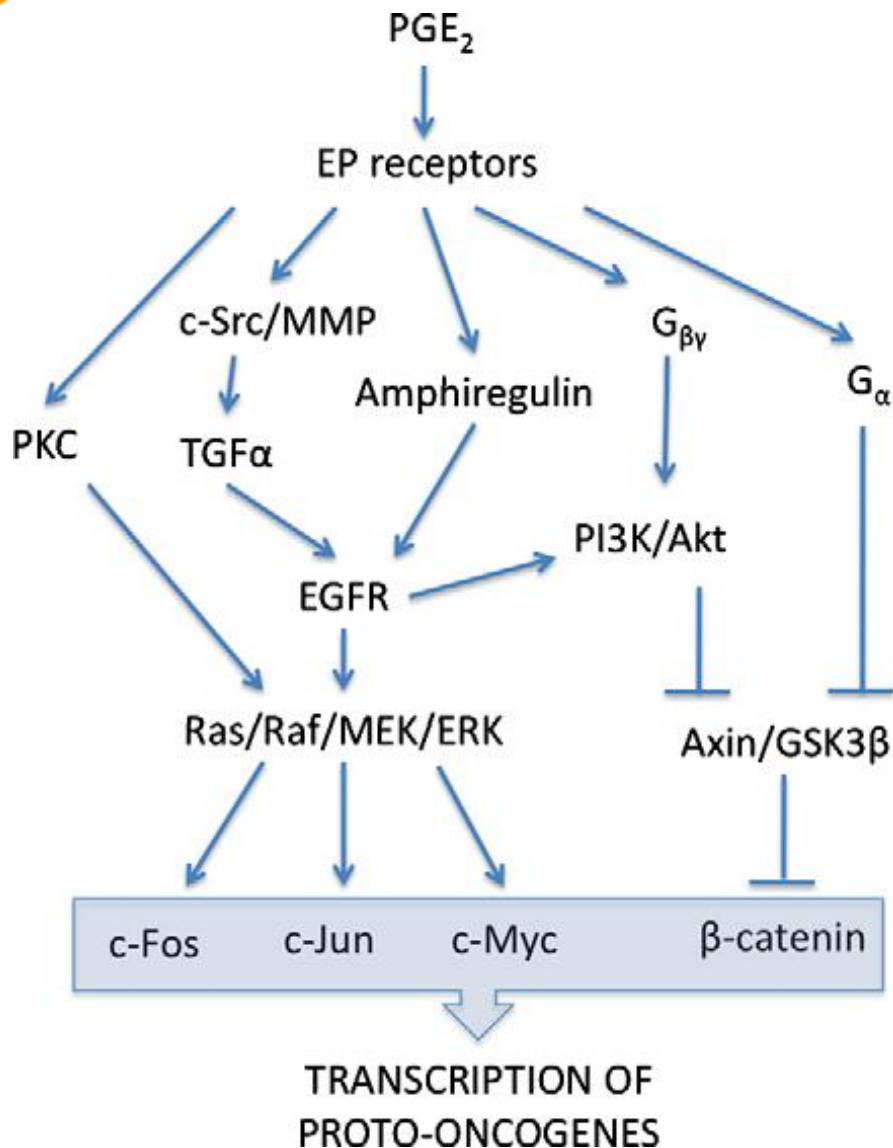


Figure 3. COX2 is overexpressed in several cell types, such as macrophages, synoviocytes, fibroblasts, osteoblasts, tumour endothelial cells, and "activated" endothelial cells, and may contribute to tumour growth through several mechanisms: COX2-dependent prostaglandins can stimulate intracellular receptors (intracrine mechanism), self-prostaglandin membrane receptors (autocrine mechanism), and prostaglandin membrane receptors of different cells, such as endothelial cells, with proangiogenic effects (paracrine or landscaping effect).

Zvýšená exprese COX-2 u řady buněčných typů – makrofágy, fibroblasty, osteoblasty, endoteliální b. – podporuje růst nádoru řadou mechanismů:

PGs závislé na COX-2 stimulují

- vnitrobuněčné receptory (intrakrinní mechanismus),
- PG receptory (autokrinní mechanismus) a
- PG receptory jiných buněk - endoteliální b. – proangiogenní efekty (parakrinní mechanismus)



Známé signální dráhy související s onkogenními účinky PGE₂

3 hlavní dráhy aktivované PGE₂:

- transaktivace EGFR
- fosforylace ERK závislá na PKC
- indukce beta-kateninu

Předpokládaný mechanismus účinků zvýšené exprese EP receptorů

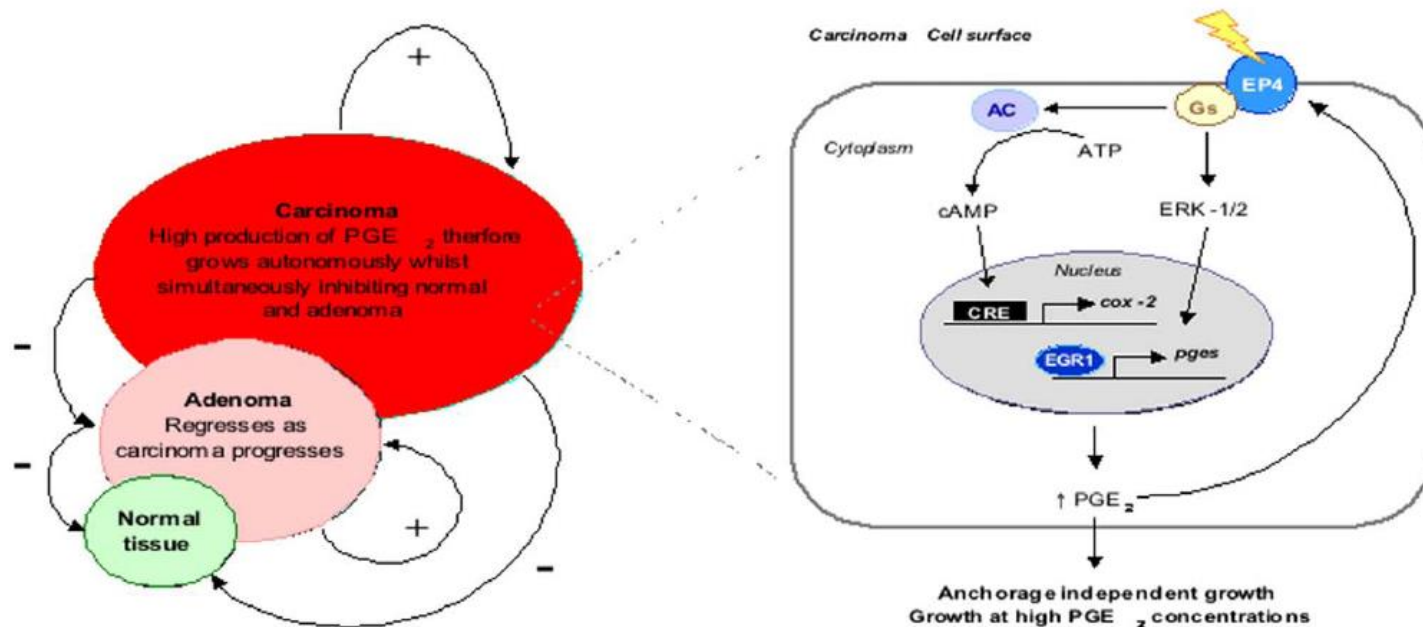


Fig. 8. A proposed mechanism for how increased expression of a specific EP receptor may facilitate colorectal tumorigenesis, possibly via a positive feedback loop involving enhanced COX-2 expression. We have previously observed that when low COX-2 expressing colorectal tumour cells (such as adenoma cells) are exposed to high doses of PGE₂ their growth is inhibited, whilst high COX-2 expressing carcinoma cells are growth stimulated [152]. This could suggest that a more normal colorectal epithelial cell EP receptor expression profile is biased toward growth inhibitory signals at higher PGE₂ levels. However, in order to proliferate in response to increasing doses of PGE₂, cells require a predominant growth signal (such as EP4-mediated ERK-1/2 activation). It is therefore possible that increased EP4 receptor expression/signalling (possibly via transcriptional upregulation, activating mutation or chromosomal amplification), may not only be required for PGE₂-mediated growth responses in colorectal carcinoma cells, but may also be responsible, at least in part, for PGE₂ upregulation. This may result in a positive feedback loop, applying a selective pressure for the survival of those cells with the highest EP4 receptor expression, and hence perpetually accelerating carcinoma growth in an autonomous manner whilst simultaneously inhibiting normal or adenoma cell growth. It is therefore interesting to note the positive correlation between the stage of an intestinal tumour, the level of its COX-2 and mPGES expression, and its capacity to produce PGE₂.

Zvýšená exprese specifických receptorů pro PG (EP4) usnadňuje kolorektální karcinogenezi - vznik pozitivní zpětné smyčky zvyšující expresi COX-2.

Normální b. – nízká exprese EP, nízká exprese COX-2, - inhibice růstu při vysoké konc. PGE₂

Nádorové b. – zvýšená exprese EP4, zvýšená exprese COX-2 a tvorba PGE₂ – růstová stimulace

Přenos signálů receptorů EP2 a EP4

Aktivace adenylát cyklázy přes G proteiny – stimulace produkce cAMP a PKA, aktivace transkr. faktoru CREB – cAMP response-element (CRE) – genová transkripce.

EP2/EP4 aktivují paralelně Tcf/Lef signální dráhu nezávisle na APC.

EP4 aktivuje PI-3-K, Akt a ERK1/2 kinázy a tr. faktor EGR1 regulující expresi genů pro PGE, TNF, cyclinD1.

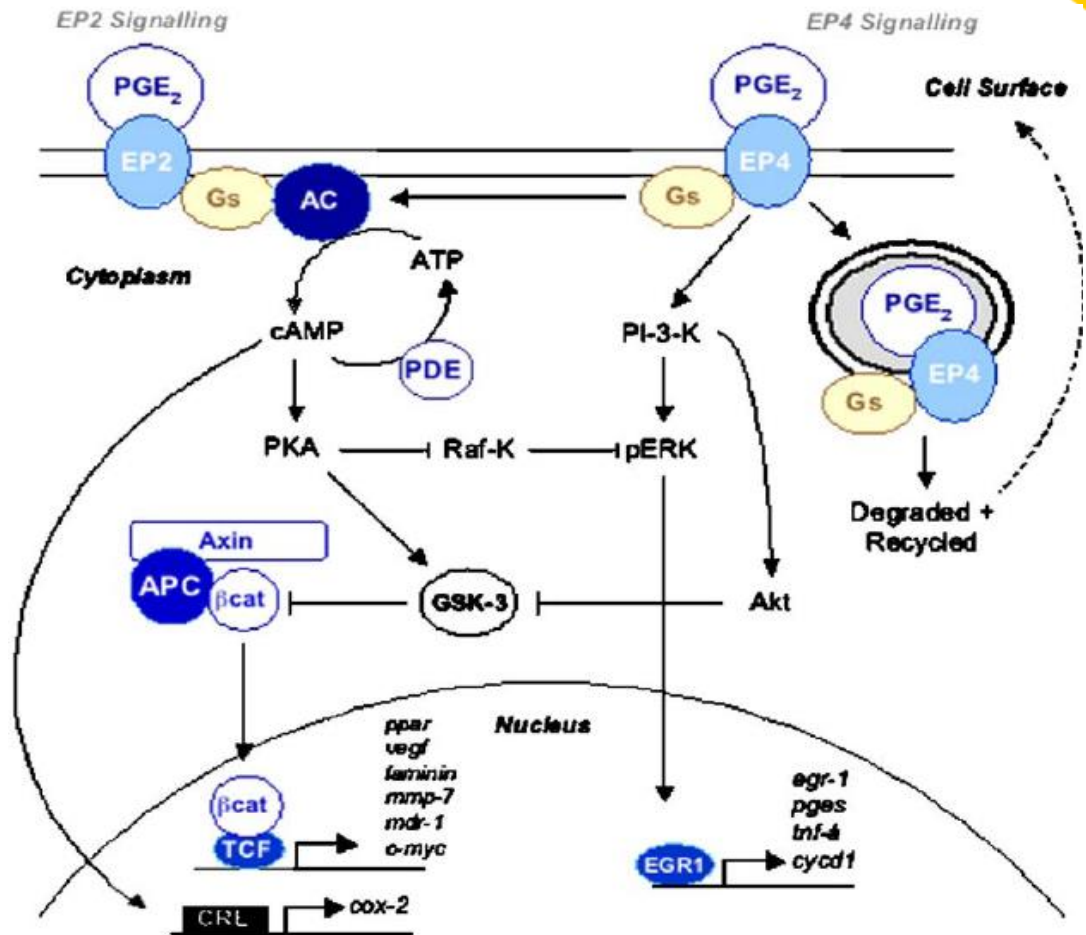


Fig. 6. EP2 and EP4 receptor signal transduction. The EP2 and EP4 receptors activate adenylate cyclase activity through binding Gs proteins. This leads to the stimulation of cAMP production and in turn the activation of the cAMP-dependent protein kinase, PKA. The subsequent activation of the CREB transcription factor induces cAMP-response element (CRE)-dependent gene transcription. In parallel, the EP2 and EP4 receptors can also activate the Tcf/Lef signalling pathway through PKA-dependent and -independent mechanisms, respectively [65,140]. Evidence is also presented that EP2/EP4 receptor activation can stimulate the Tcf/Lef signalling pathway independently of APC [65]. Although it is interesting to note that EP2 receptor mediated cAMP increases (being up to 10 times greater than EP4-mediated cAMP increases to the same doses of ligand [123]) impair MAP kinase activation through direct inhibition of Raf, whereas the EP4 receptor is known to have PI-3-K dependent effects on Akt and ERK-1/2 activation [110]. Unlike EP4 receptor signalling, the EP2 dependent pathway is therefore also thought to inhibit expression of the immediate early genes c-Jun and JunB, an effect thought to be downstream of Raf inhibition, as well as EGR-1, which can regulate the expression of genes including PGES, tumour necrosis factor- α (TNF- α) and cyclin-D1 [110]. Arrows indicate activation by phosphorylation, blocked arrows indicate inhibition of phosphorylation, and dashed arrows indicate translocation. Illustration modified from [110].

Nesteroidní protizánětlivé látky antiflogistika (NSAIDs)

Inhibitory COX-1 a COX-2

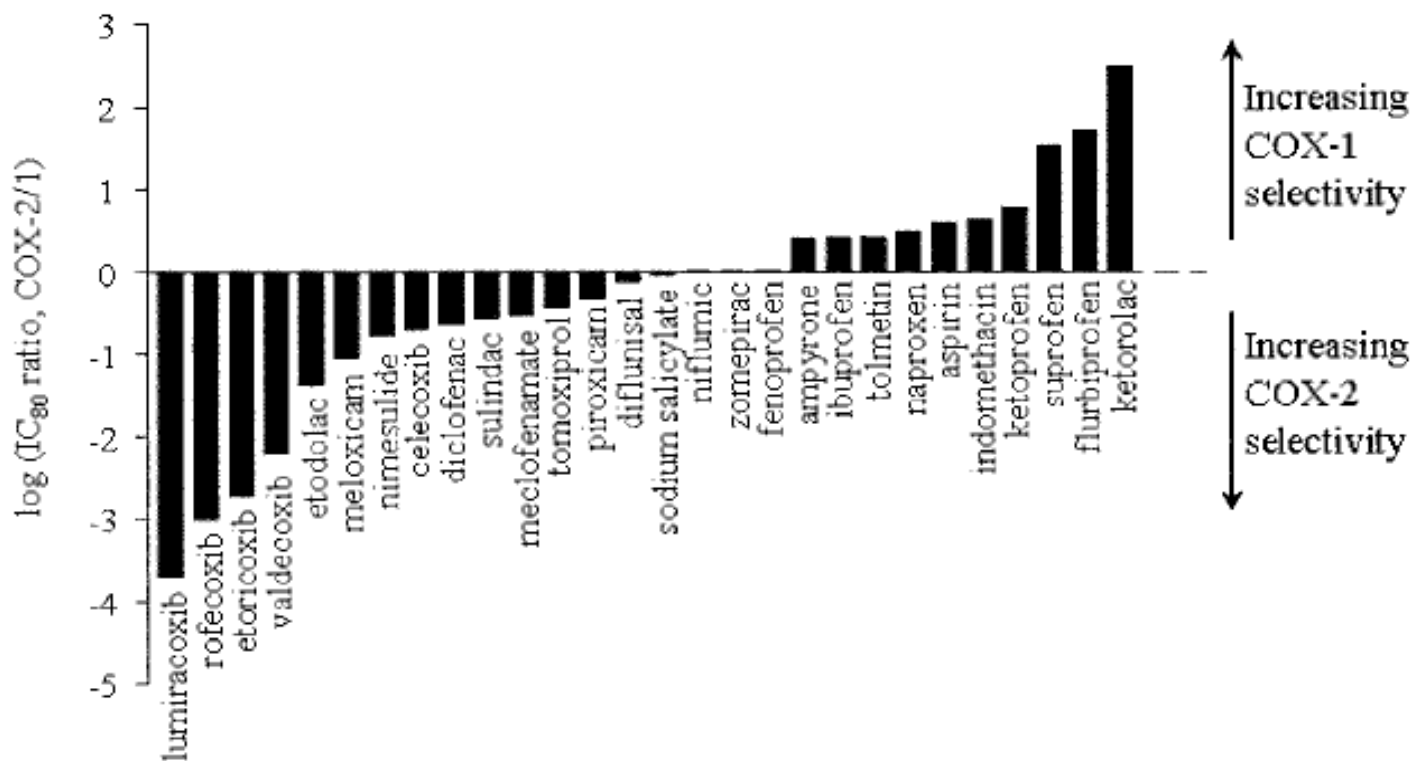
TABLE 1.

Structural class	Members	
	COX-1- nonselective	COX-2- selective
alkanones	nabumetone	
anthranilic acids	meclofenamic acid, mefenamic acid	meclofenamate esters and amides
arylpropionic acids	ibuprofen, flurbiprofen, ketoprofen, naproxen,	
diarylheterocycles	SC560	celecoxib, etoricoxib, parecoxib, rofecoxib, valdecoxib
di-tert-butyl phenols		darbufelone
enolic acids	piroxicam, tenoxicam, phenylbutazone	meloxicam
heteroaryl acetic acids	diclofenac, ketorolac, tolmetin	lumiracoxib
indole and indene acetic acids	indomethacin, sulindac	etodolac, indomethacin amides (and esters)
para-aminophenol derivatives	acetaminophen	
salicylic acid derivatives	aspirin, diflunisal, sulfasalazine	o-(acetoxyphenyl)hept-2-ynyl sulfide (APHS)
sulfanilides		nimesulide, flosulide

Selektivita různých inhibitorů cyklooxygenáz

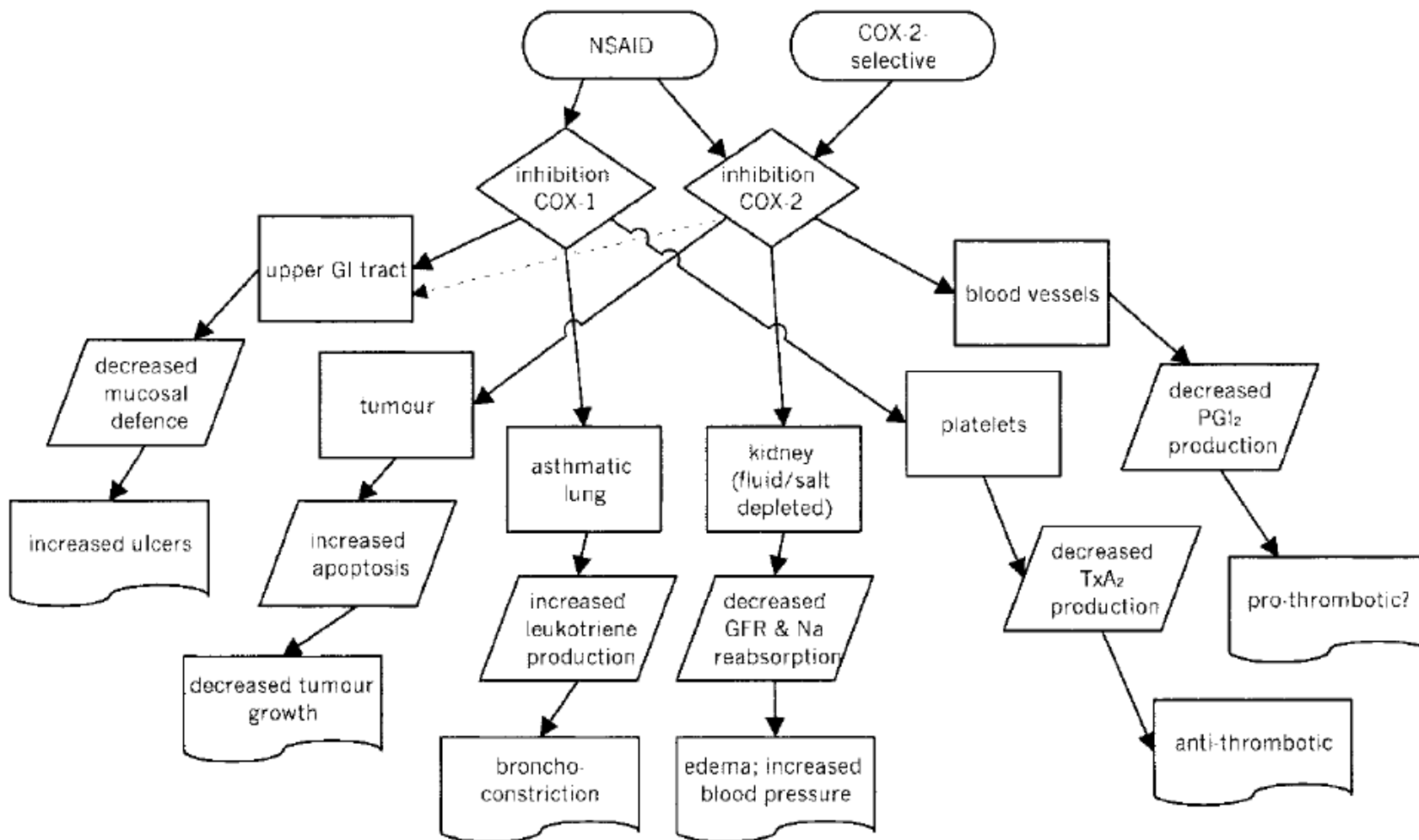
Inhibitory COX-1 i COX-2 (ibuprofen, flurbiprofen, ketoprofen, indometacin, kys. acetylsalicylová – aspirin)

Selektivní inhibitory COX-2 (coxiby – rofecoxib, celecoxib, meloxicam, nimesulide)



(Moore B.C. and Simmons D.L., *Curr Medical Chemistry* 7, 2000:1131-1144)

Schematické dráhy některých funkčních efektů inhibice COX-1 a COX-2



Srovnání účinků selektivních inhibitorů COX-2 s ostatními NSAIDs

TABLE 2.

COX-2-selective agents compared to traditional NSAIDs	
	<i>Therapeutic indication</i>
inflammation pain (arthritic, inflammatory, surgical)	equi-effective equi-effective
	<i>Other beneficial effects</i>
Alzheimer's disease	NSAID benefit shown from epidemiology but no current evidence for effectiveness of COX-2 selectives
Cancer	Both groups reduce development of colon cancer and possibly esophageal cancer; both groups effective in animal models of cancers in lung and pancreas
	<i>Side effect</i>
Asthma	no evidence for COX-2- selectives causing asthma attacks in NSAID-sensitive individuals
gastrointestinal toxicity, minor such as dyspepsia, diarrhoea	similar effects
gastrointestinal toxicity, major such as perforations, obstructions and bleeds	COX-2- selectives produce less than NSAIDs
reproduction	both groups may delay ovulation, implantation, and preterm labor
thrombosis	some suggestion that COX-2- selectives may increase thrombotic events at suprathreshold doses

Mechanismy účinků některých NSAIDs

No	Mechanism	NSAID (concentration)	Cell line system	Reference
1	Accumulation of AA causes apoptosis	Sulindac (200 μ M), indomethacin (300 μ M)	HT29, HEK293	[141]
2	Serve as ligands for PPAR γ	Indomethacin (40 μ M), flufenamic acid (100 μ M), fenoprofen (100 μ M), ibuprofen (100 μ M)	Fibroblast (C3H10T1/2)	[145]
3	Inhibits PED	Sulindac sulfone (165 μ M)	SW480	[140]
4	Inhibits I- κ B kinase β	Aspirin, sulindac sulfide, not indomethacin	HCT16, Cos, etc.	[146]
5	Blocks DNA binding of PPAR δ/β	Sulindac sulfide (100–250 μ M)	HCT116, SW480	[136]
6	Suppresses Bcl-xl	Sulindac (120 μ M)	HCT116	[137]
7	Blocks Akt activation	Celecoxib (25–50 μ M)	PC-3, LNCaP	[147]

Molekulární mechanismy COX-2 a NSAIDs

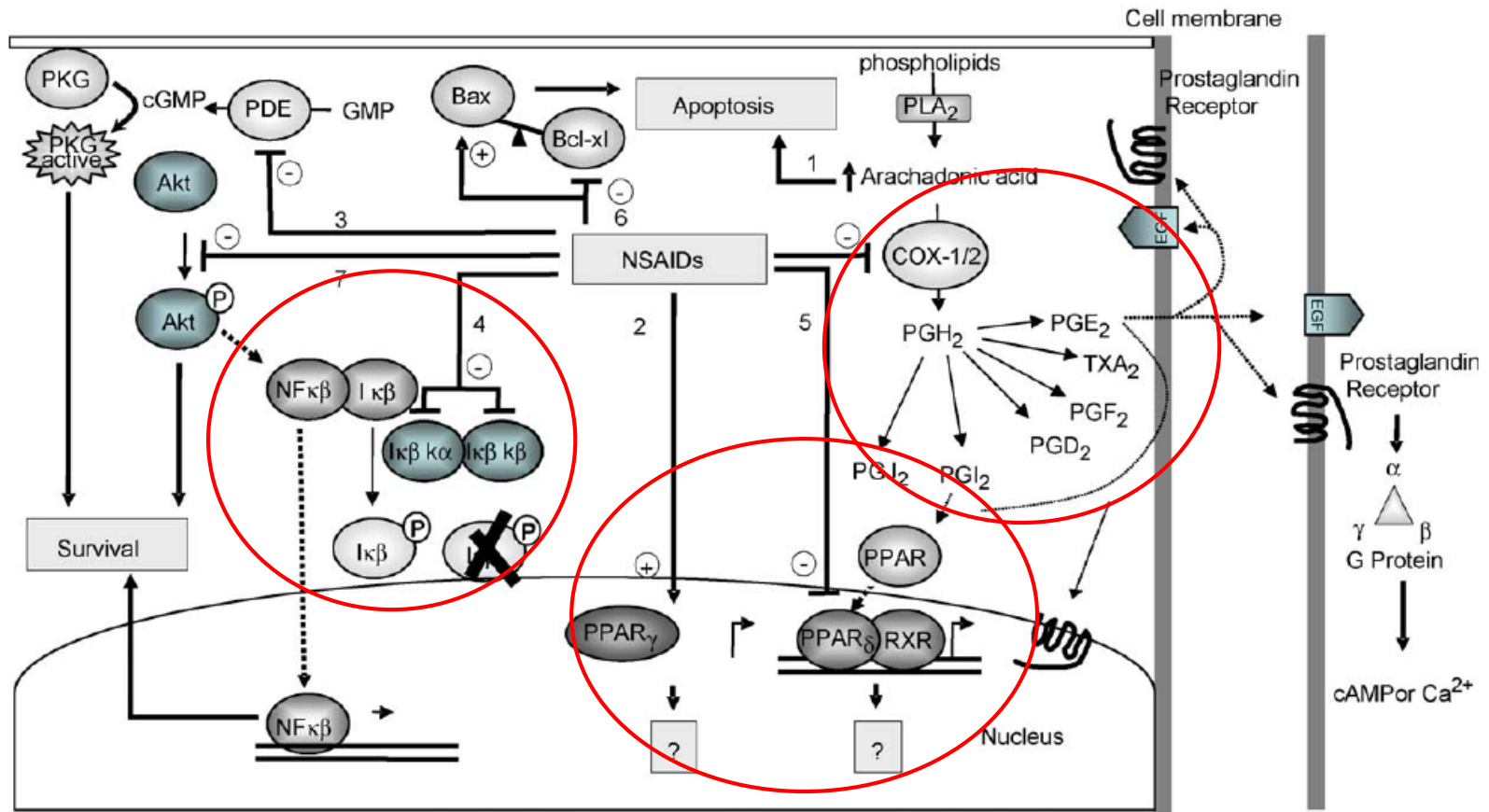


Fig. 4. Molecular mechanisms for COX-2 and NSAIDs. The right part of the model illustrates the prostaglandin synthesis pathway as well as the subsequent receptor signaling—the specific prostaglandin receptors as well as the non-canonical EGF receptor pathway. As the result of inhibiting COX enzymes, accumulation of arachadonic acid would directly promote apoptosis and attenuation of positive feedback to proliferation and survival through receptors. The rest of the figure demonstrates several COX-2 independent mechanisms proposed for NSAIDs. Since, not all NSAIDs are able to act through these mechanisms in every cell type, a brief table is attached to summarize the particular NSAIDs used in each experiment as well as the cell lines involved.

Výukovou pomůcku zpracovalo Servisní středisko pro e-learning na MU

<http://is.muni.cz/stech/>

Technické řešení této výukové pomůcky je spolufinancováno Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky.



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ