

# Molekulární biologie

## 11. Molekulární podstata nádorových onemocnění

### Osnova

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

### *Hlavní zdroje:*

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

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

# Rakovina - Úvod

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

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

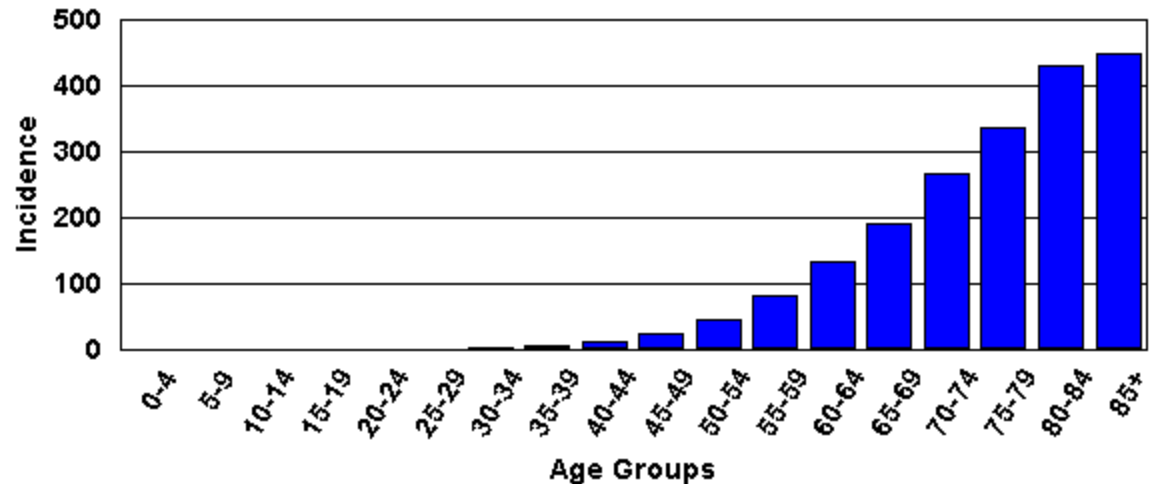
**Nádor** (tumor, neoplazma, novotvar)

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

**Kancerogeneze = Karcinogeneze**

Proces vzniku a vývoje nádoru

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



# Rakovina - Úvod

## Benigní nádor

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

## Maligní nádor

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

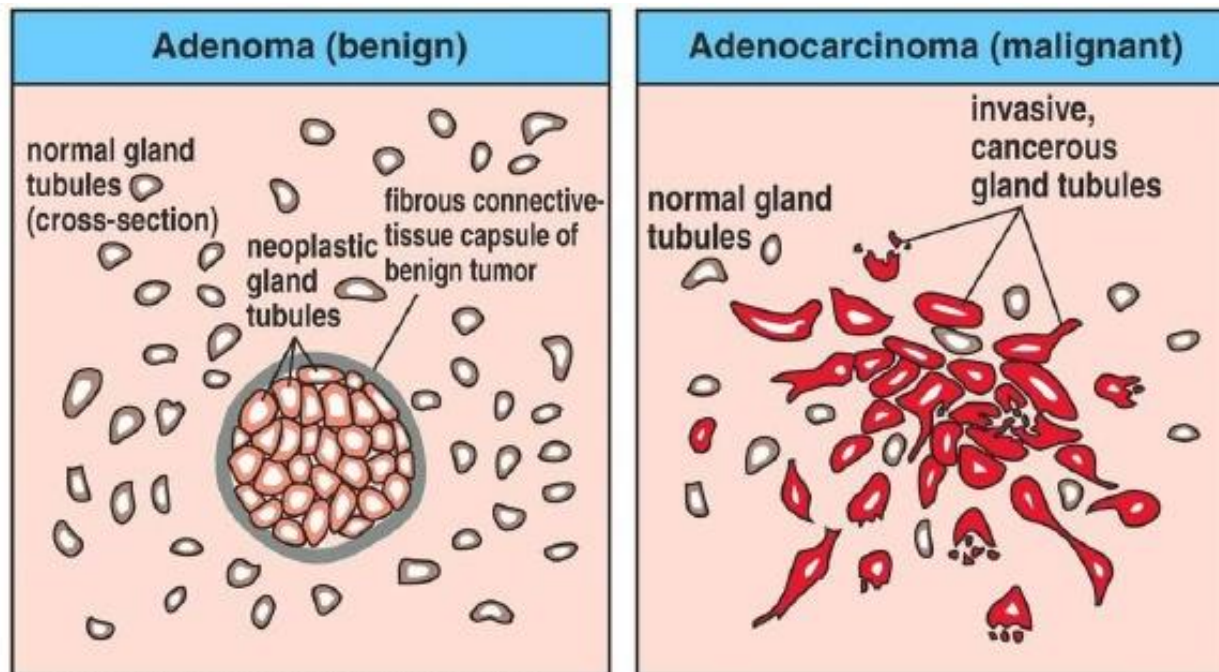


Figure 12-35 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

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

# Rakovina - Úvod

## Typy

### 1. (Adeno) Karcinomy

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

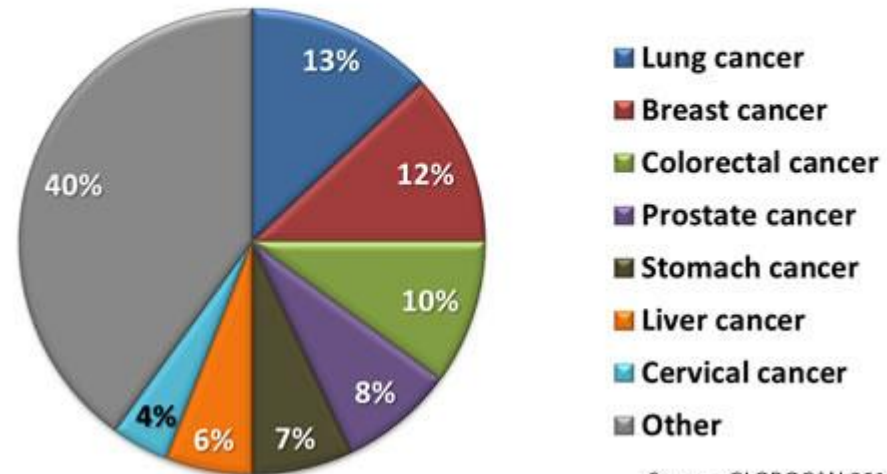
### 2. Sarkomy

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

### 3. Krevní a lymfatické

- nevyskytují se jako pevné útvary
- lymfomy a leukémie

**Most Common Cancers Worldwide in 2012**

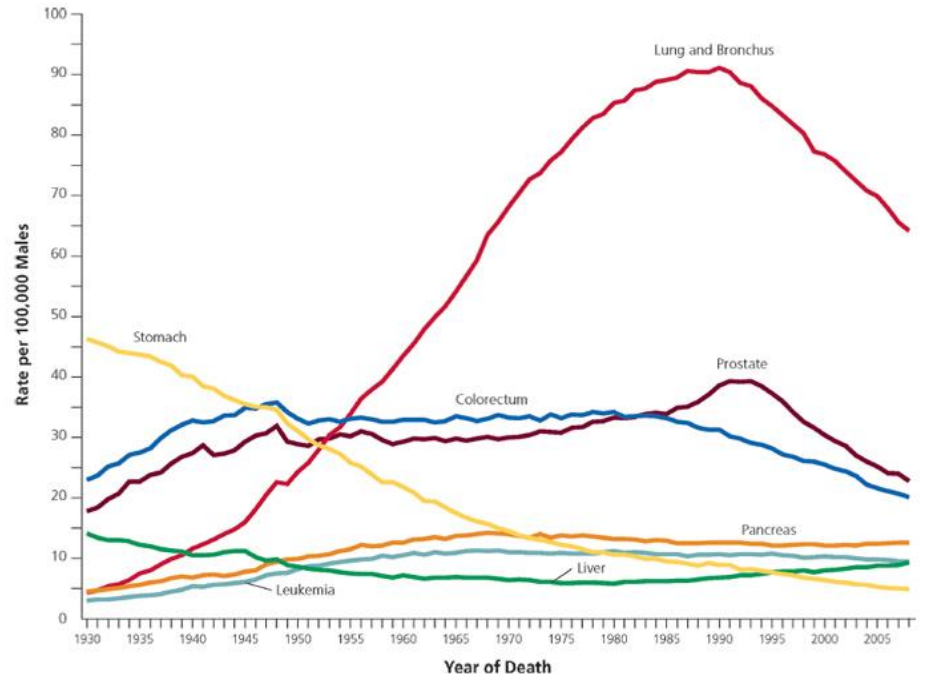
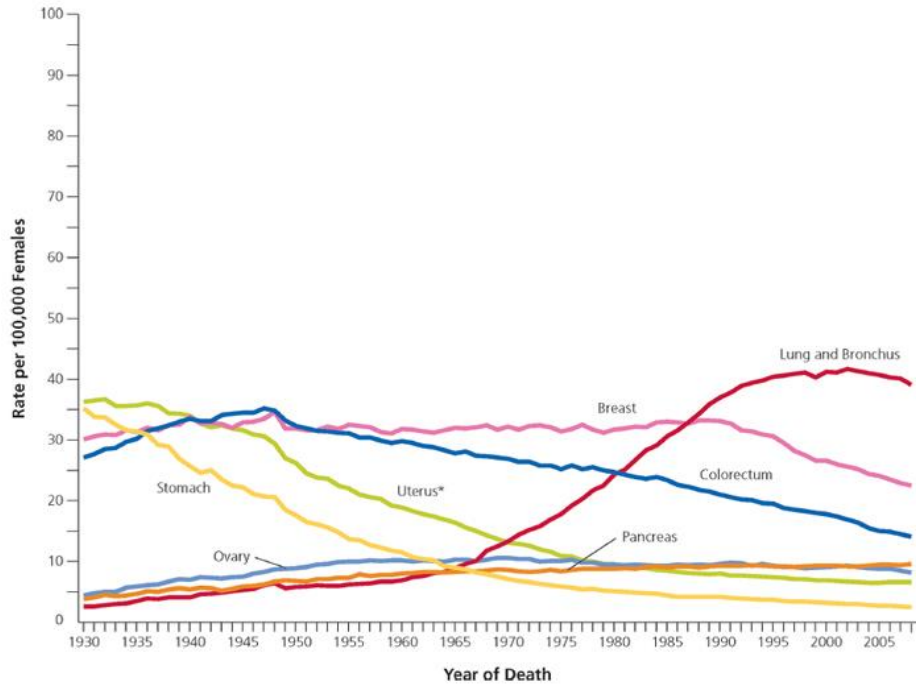


Source: GLOBOCAN 2012

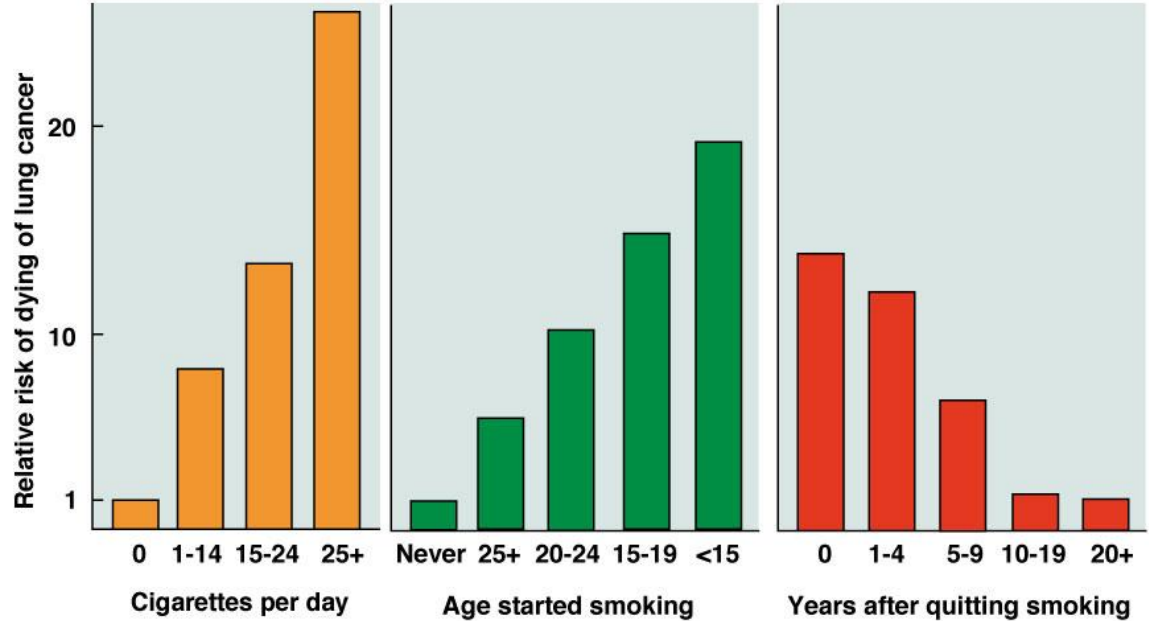
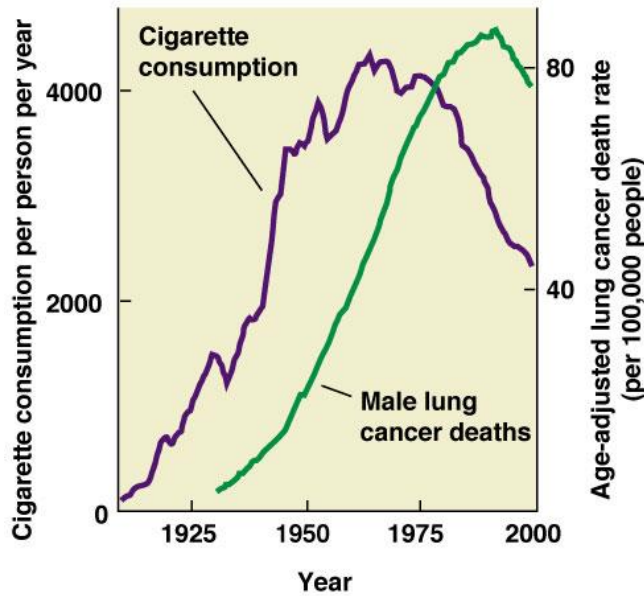
**Epitel** kryje vnější nebo vnitřní povrchy organismu a má žláзовou funkci. *Fylogeneticky nejstarší typ tkáně. Vzniká ze všech 3 zárodečných listů.*

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

# Roční úmrtnost na vybrané typy rakoviny



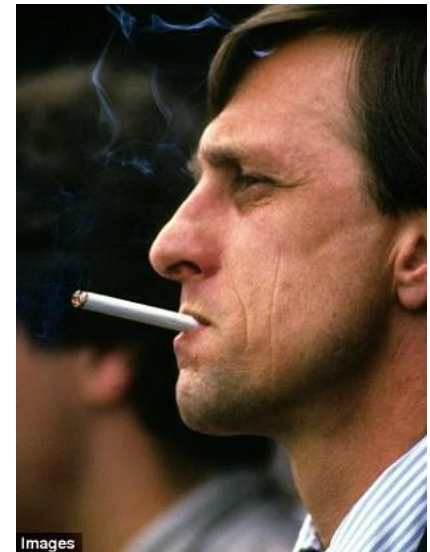
# Cigaretty a rakovina



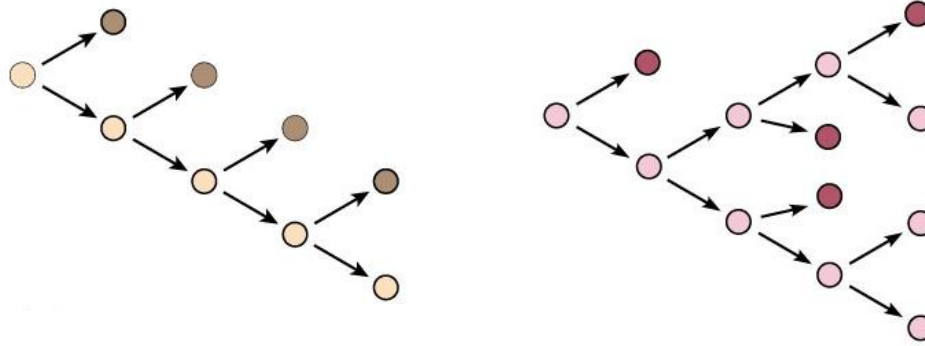
© 2012 Pearson Education, Inc.

**Johan Cruyff (24.3.2016)**

A long-term smoker of around 20 cigarettes a day. Quit smoking in 1991.

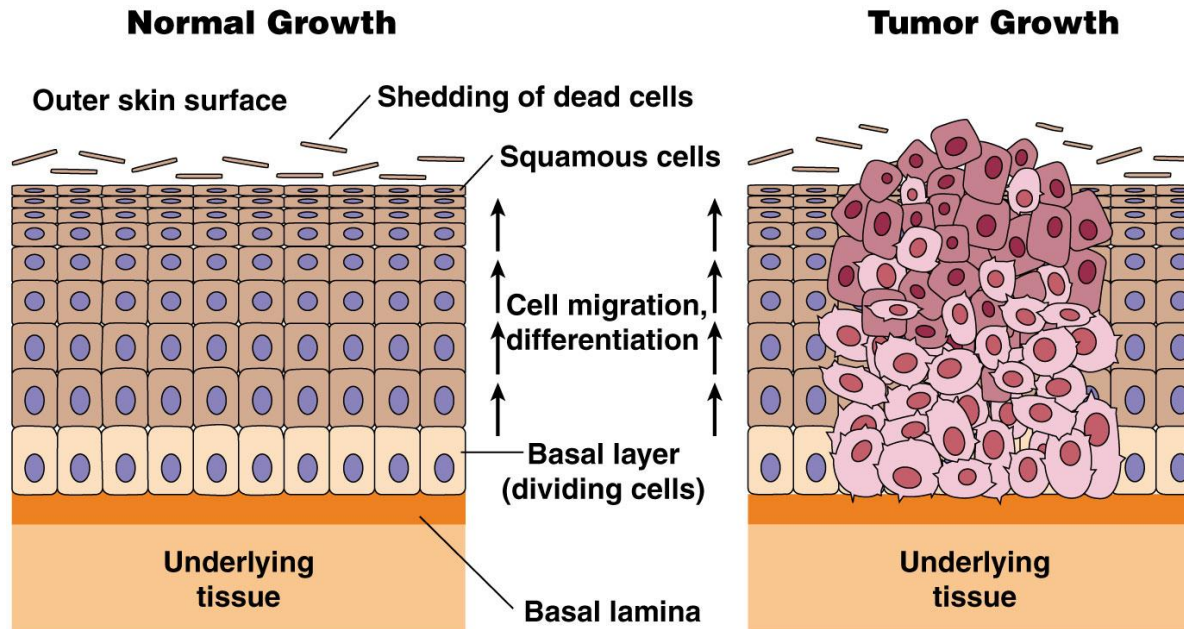


Tumory vznikají nekontrolovaným dělením při ztrátě rovnováhy mezi proliferací a diferenciací



## Rakovina kůže

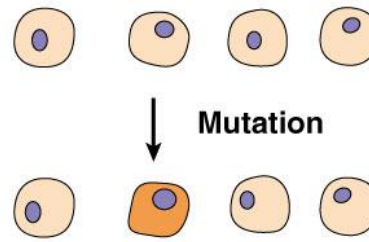
- vrstva epiteliálních buněk z bazální vrstvy začne přerůstat okolní buňky a tvoří tumor
- defektní mechanismy kontroly buněčného cyklu



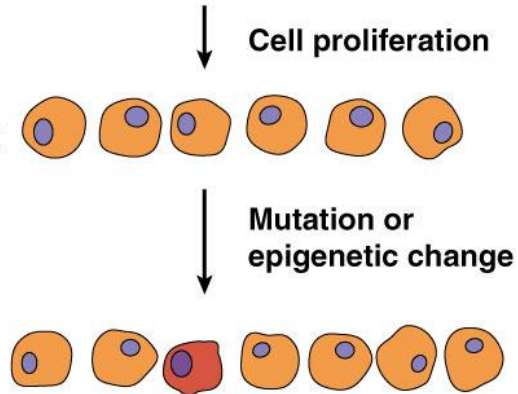


# Stádia rakoviny

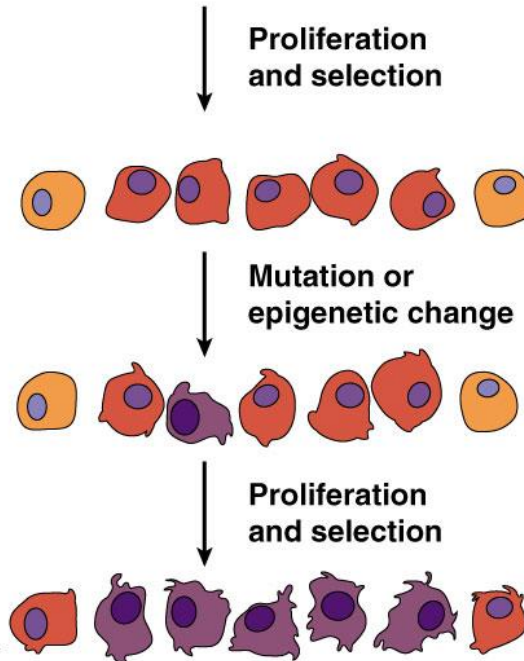
## 1 Initiation



## 2 Promotion



## 3 Tumor progression

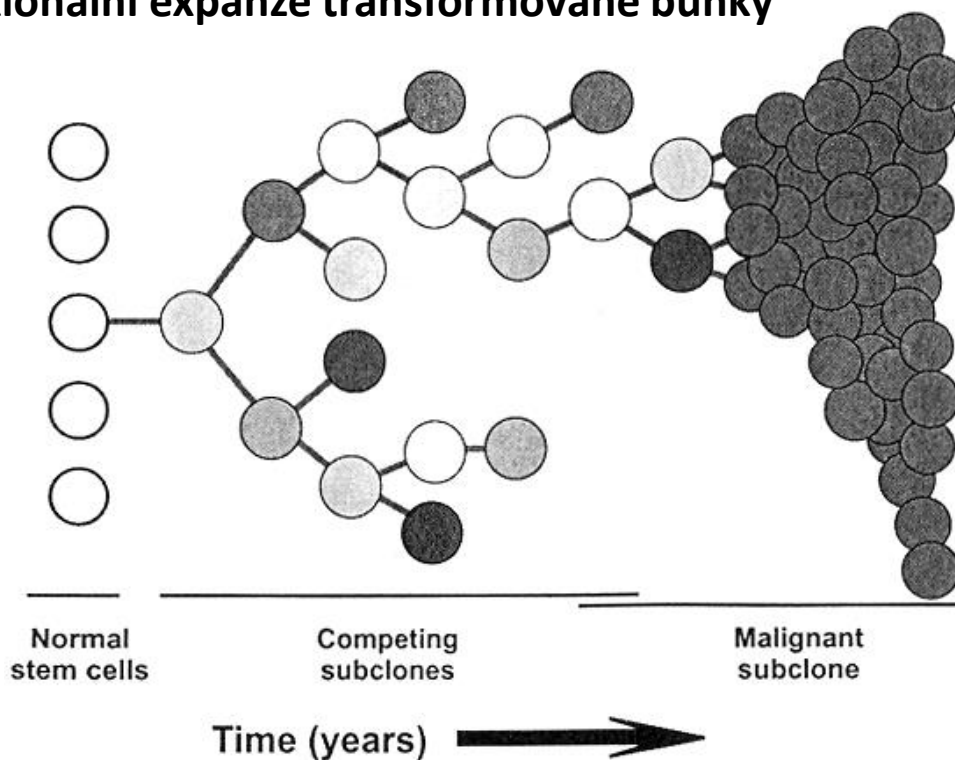




## Rakovina není monogenní onemocnění

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

### Klonální expanze transformované buňky



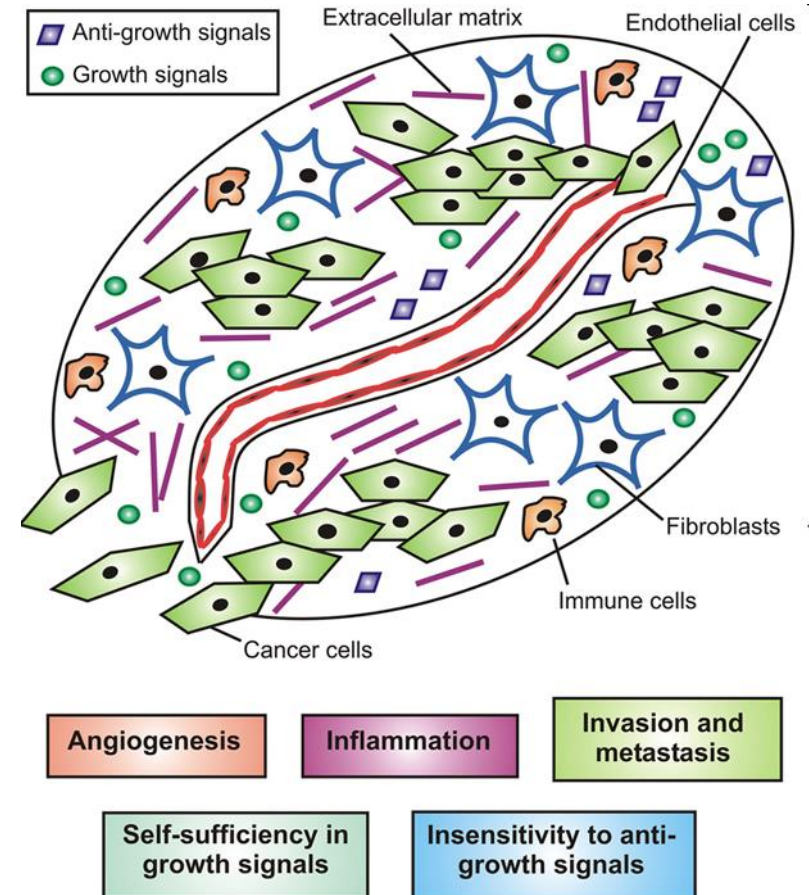
# Nádor je komplexní tkáň

## 1. Nádorové stroma:

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

## 2. Nádorový parenchym:

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



## Obecné vlastnosti nádorové buňky

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

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

# Speciální vlastnosti nádorové buňky při *in vitro* kultivaci

## 1. Nepotřebují ukotvení

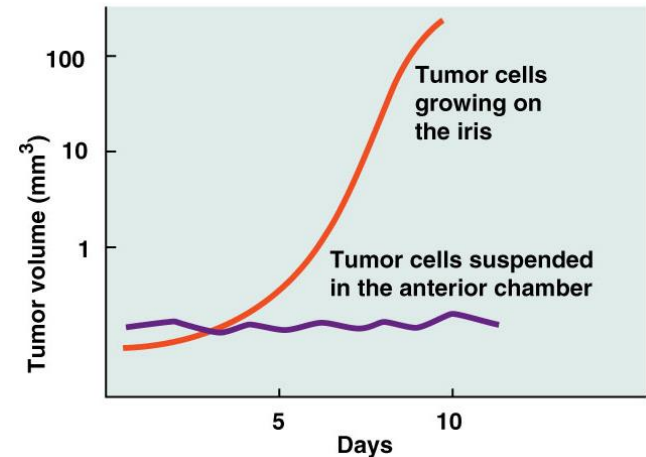
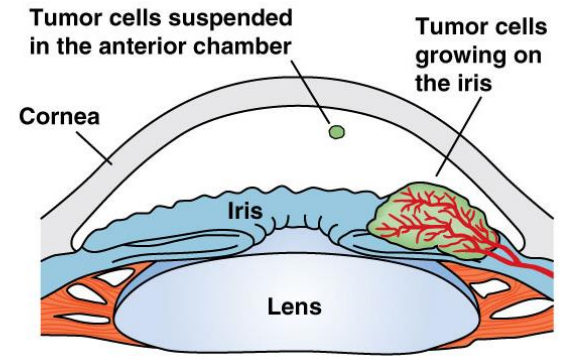
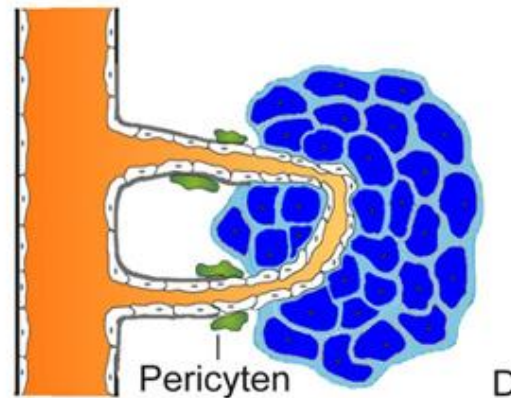
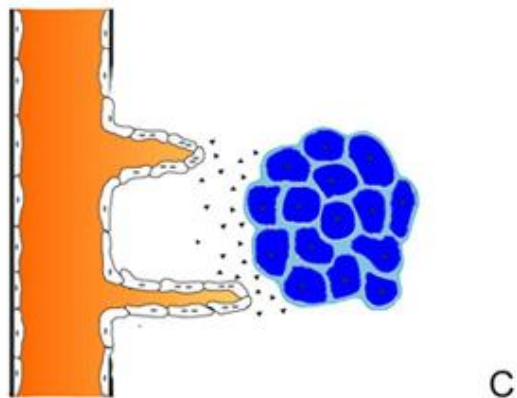
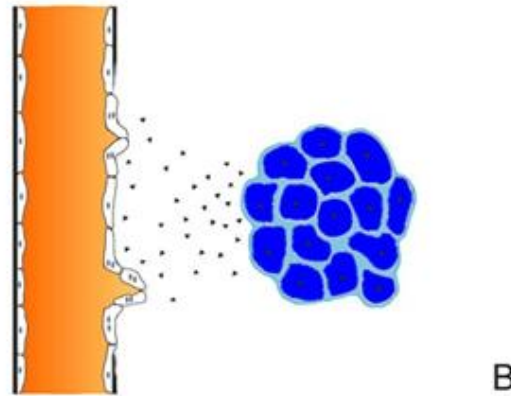
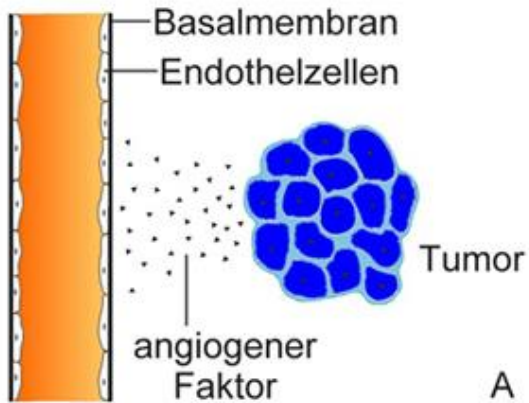
- většina zdravých buněk potřebuje podklad a v kultuře tvoří monolayer
- rakovinné buňky dokážou růst v suspenzi

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

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

# Angiogeneze

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



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

# Metastáze a invaze

- primární nádory lze odstranit chirurgicky

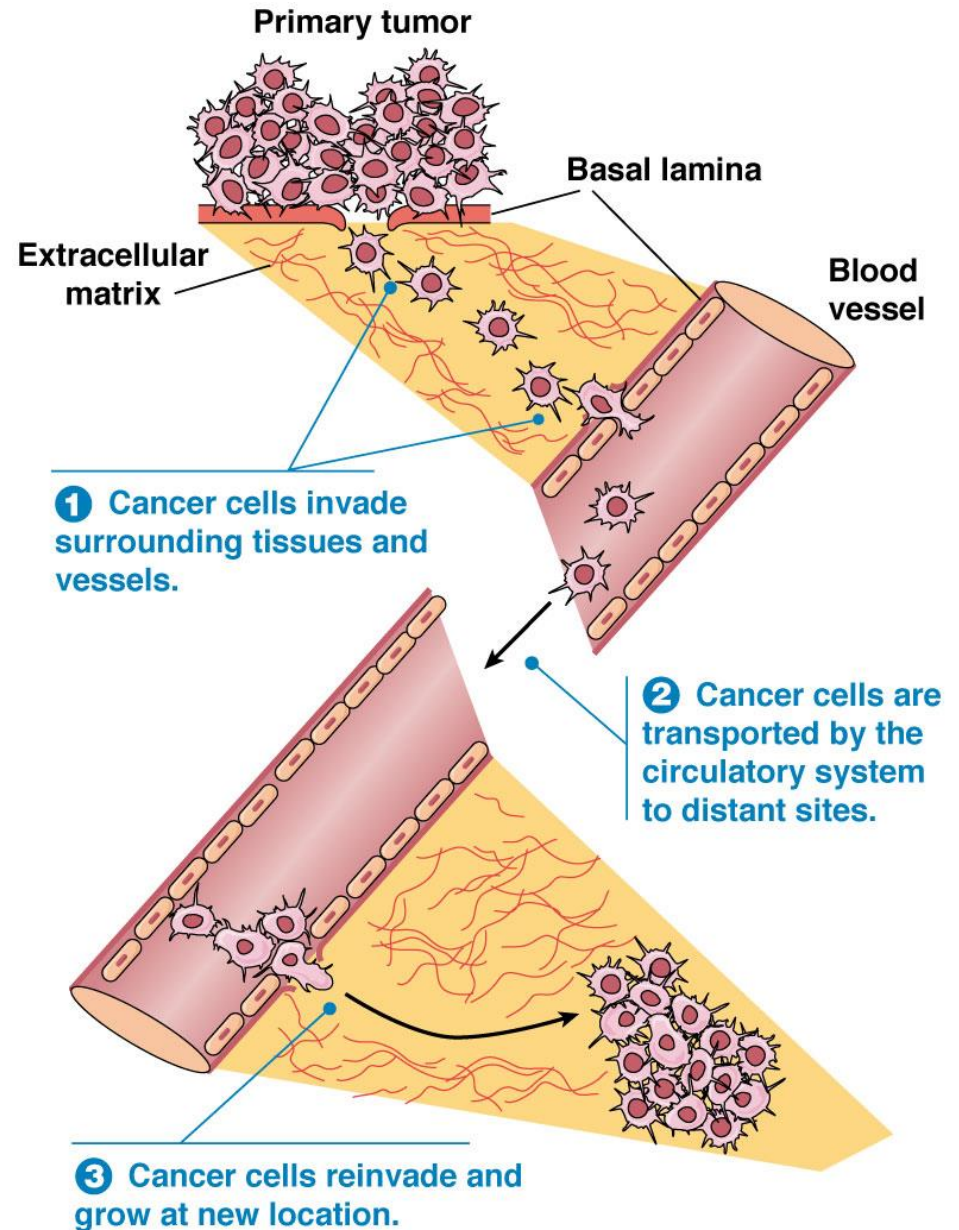
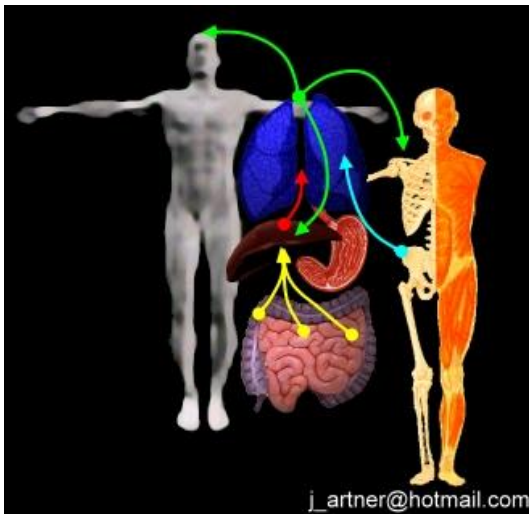
## Invaze

migrace a penetrace rakovinných buněk do sousední tkáně

## Metastáze

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

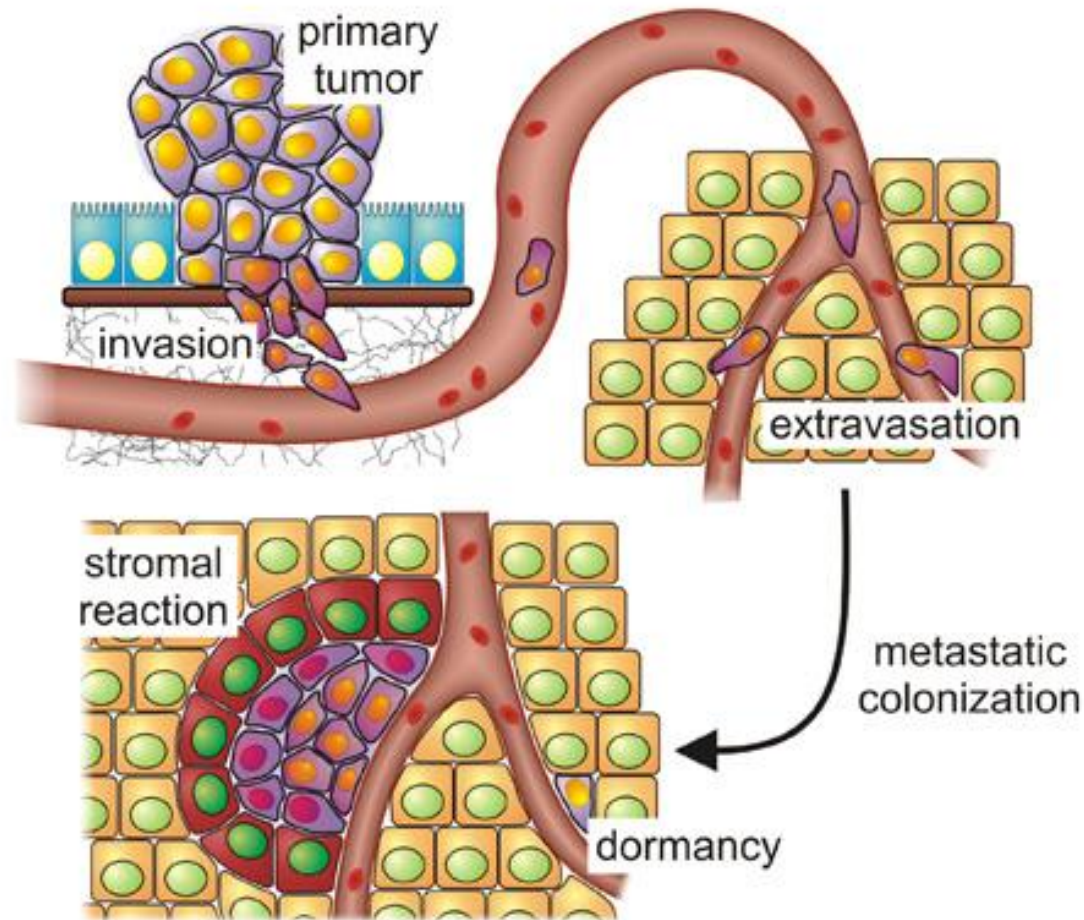
- změny adheze a produkce proteáz, degradujících proteiny bazální laminy





## Metastáze a invaze

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



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



# Neomezený replikační potenciál rakovinných buněk

## Telomery

Opakující se sekvence na konci každé chromatidy

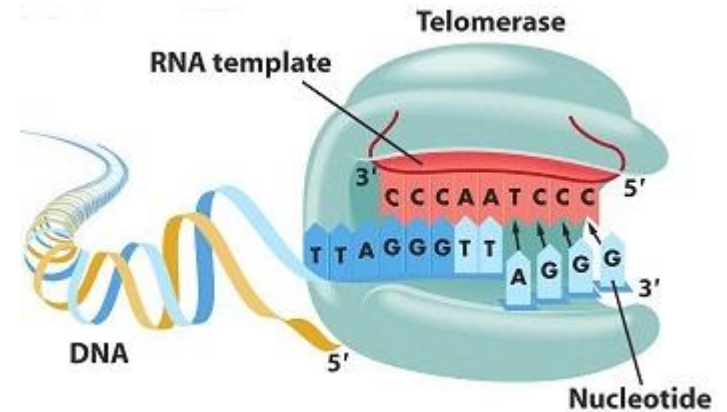
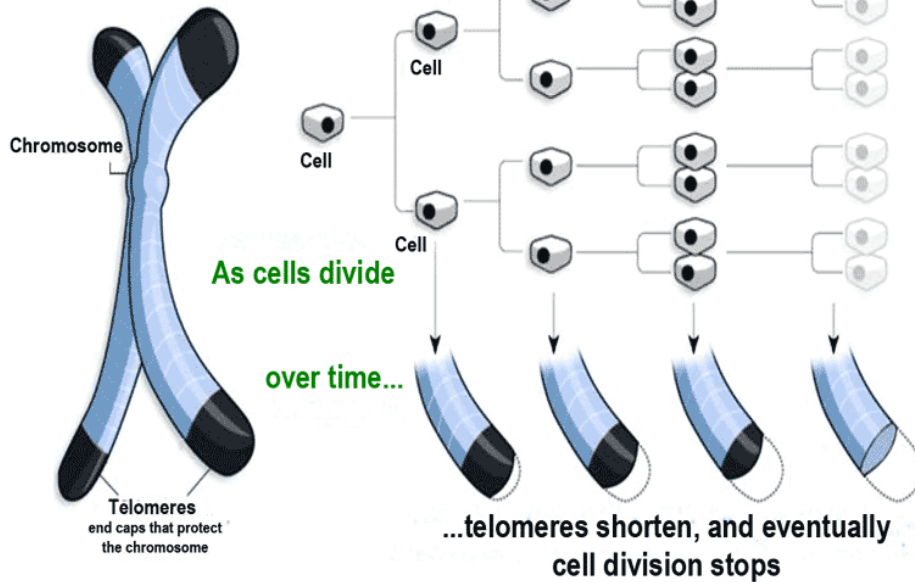
Pro obratlovce: sekvence TTAGGG (opakuje se asi 2500x u lidí)

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

U většiny lidských somatických buněk telomeráza není aktivní

Aktivní telomeráza znakem nádorových a kmenových buněk – až 90%

## What We Lose With Age



# Molekulární podstata rakoviny

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

## 1. Proto-onkogeny

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



## 2. Tumor-supresory

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



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

## 1. Růstové faktory

- např. PDGF, EGF...

## 2. Receptory pro růstové faktory

- např. PDGFR, EGFR...

## 3. Nitrobuněčné přenašeče

- např. Ras, Src...

## 4. Transkripční faktory

- např. Myc, Fos...

## 5. Regulátory apoptózy

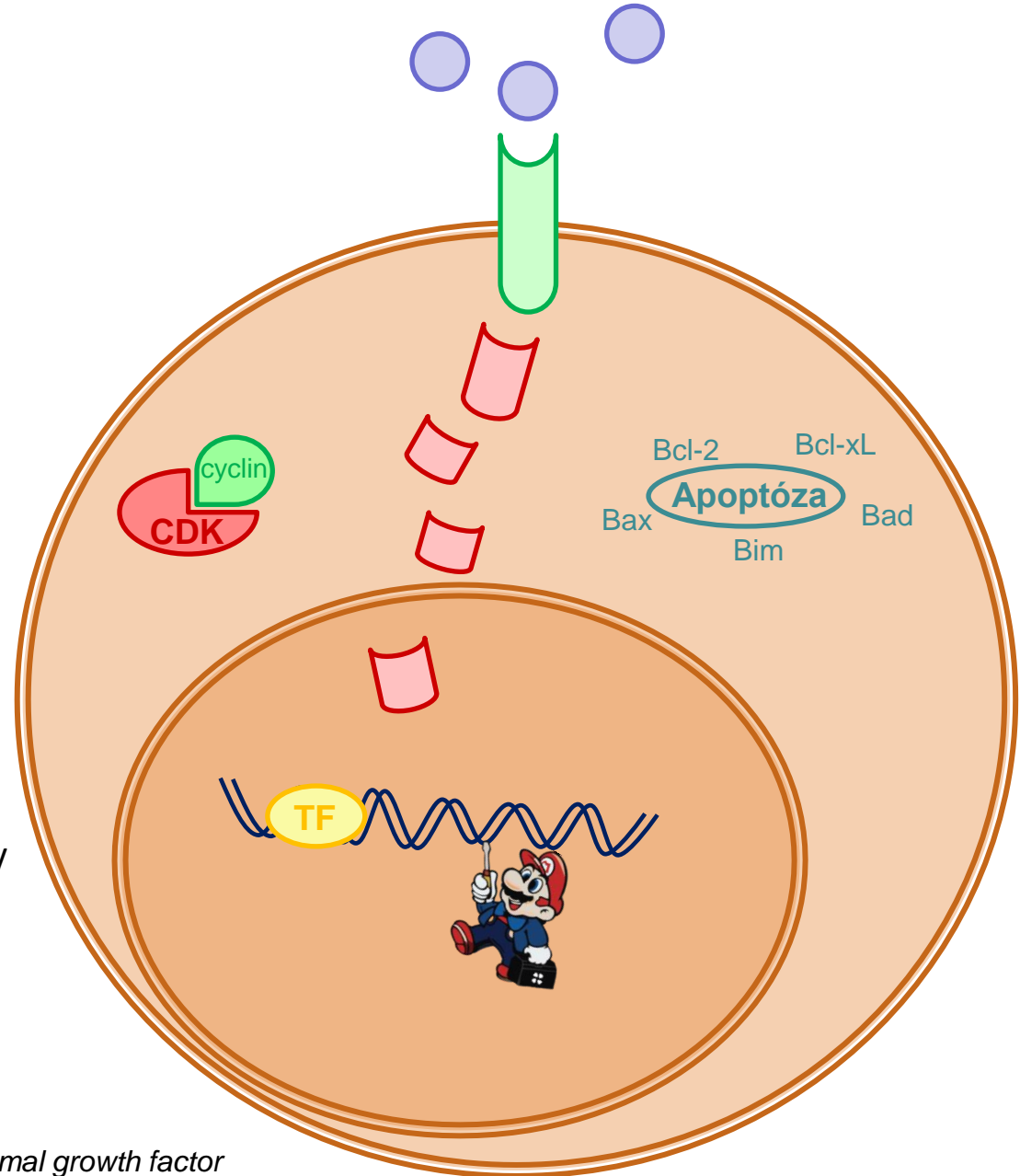
- např. proteinové rodina Bcl2

## 6. Proteiny řídící buněčný cyklus

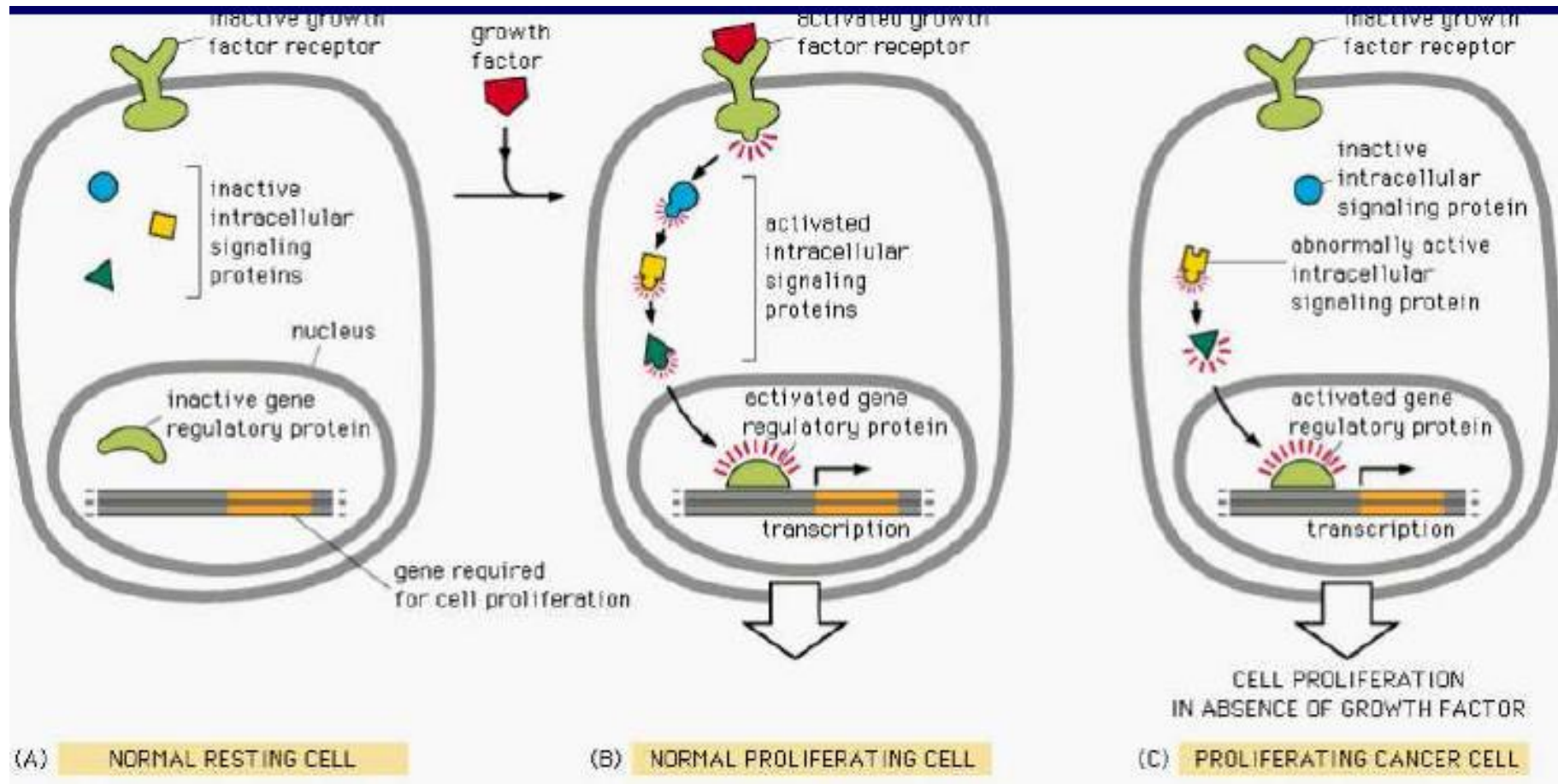
- např. cykliny a cyklin-dependentní kinázy

## 7. Proteiny zapojené do oprav DNA

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



# Patologická aktivace protoonkogenů



# Buněčný cyklus

## Interfáze

**G1 fáze** - období růstu buňky

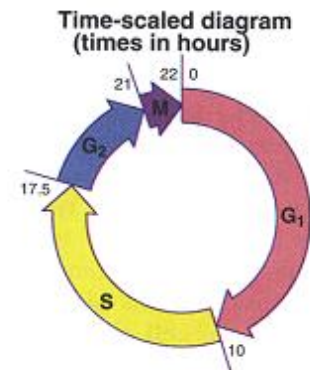
postup fází G1 je řízen dvěma kontrolními body:

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

**S fáze** – replikace DNA

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

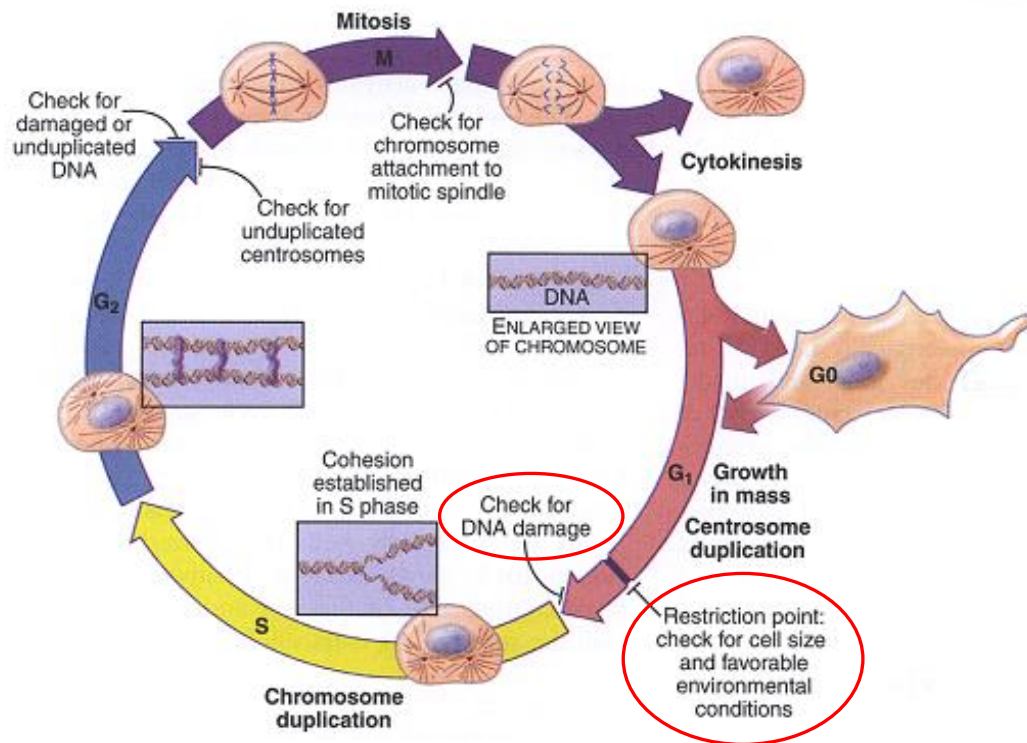
kontrolní bod G2 sledující poškození DNA - kontrola struktury DNA



## Mitóza

### M kontrolní bod

- kontrola sestavení mitotického vřeténka

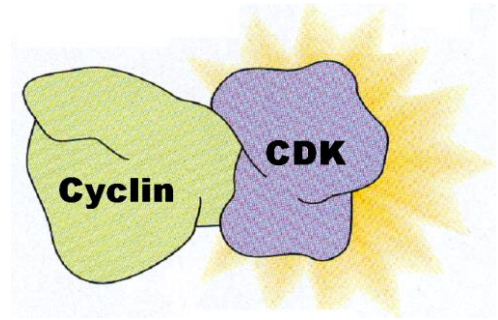




# Řízení buněčného cyklu

## CDK- cykliny

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



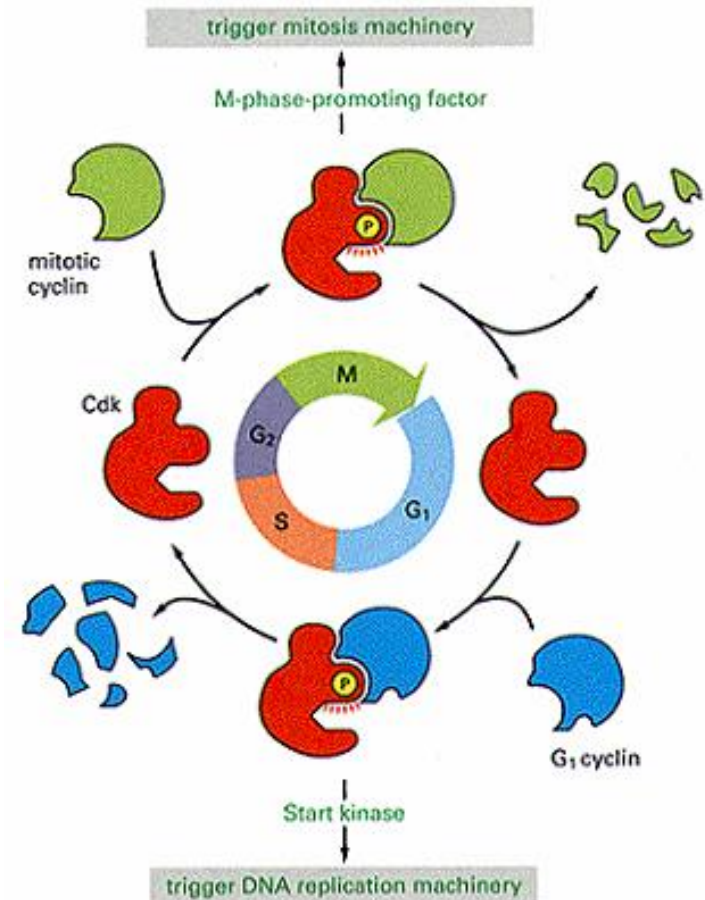
## Cykliny

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

## CDK (Cyklin dependentní kinázy)

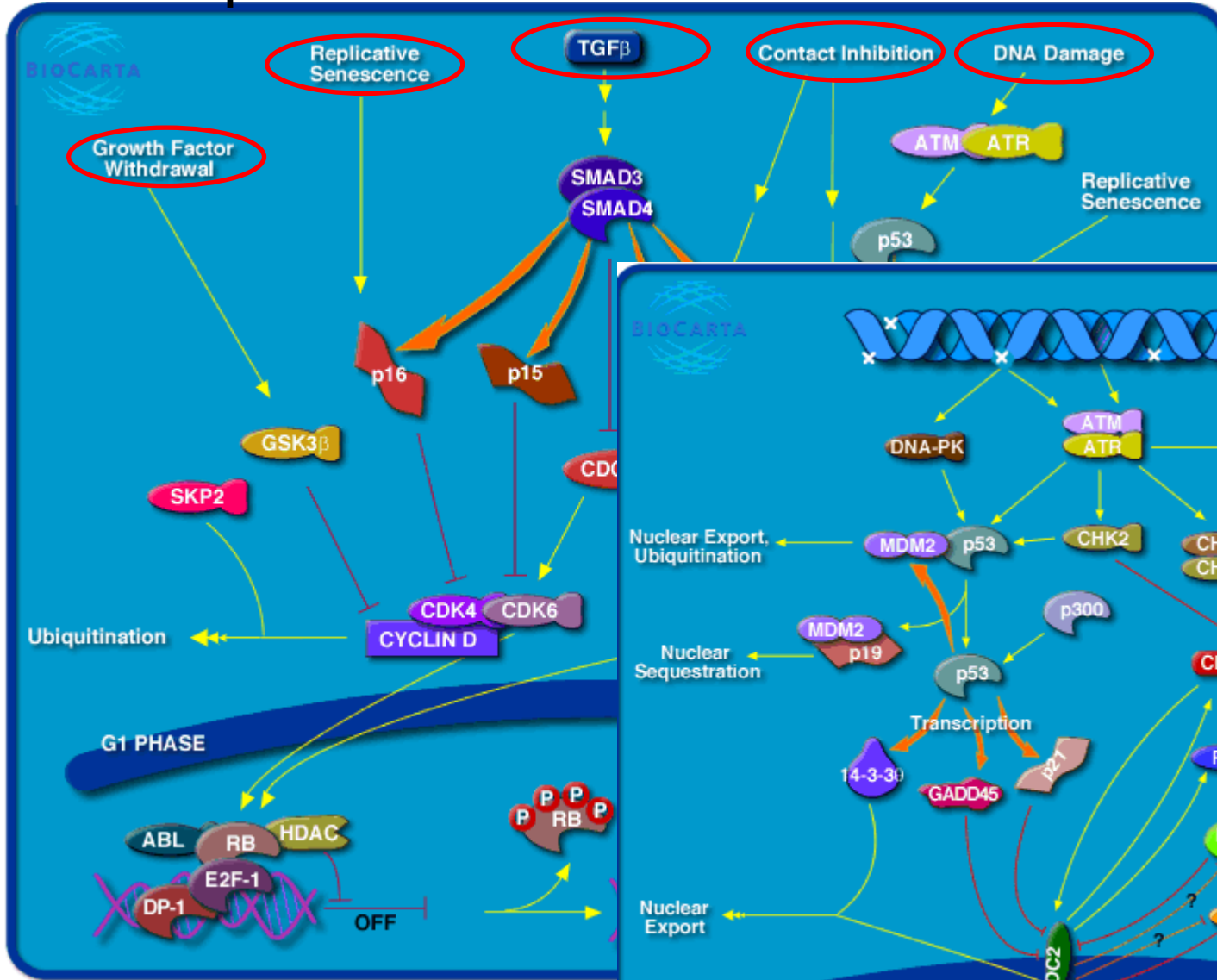
- katalytické podjednotky komplexu  
aktivovány ve spojení s cykliny  
aktivita (nikoli koncentrace) během cyklu kolísá

## Inhibitory CDK

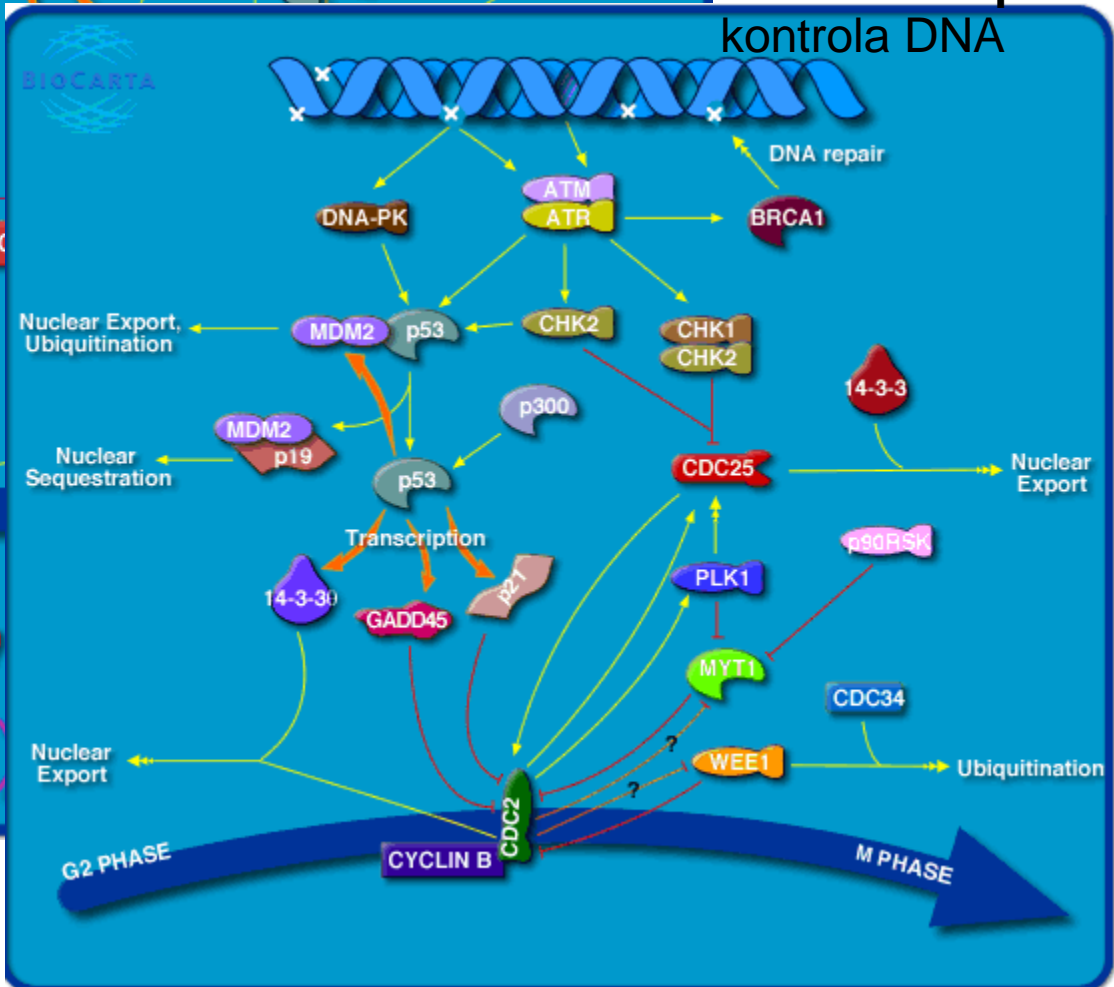


# Antiproliferační signálizace (RB inhibuje cyklus v G1 vazbou na E2F)

## G1/S Checkpoint



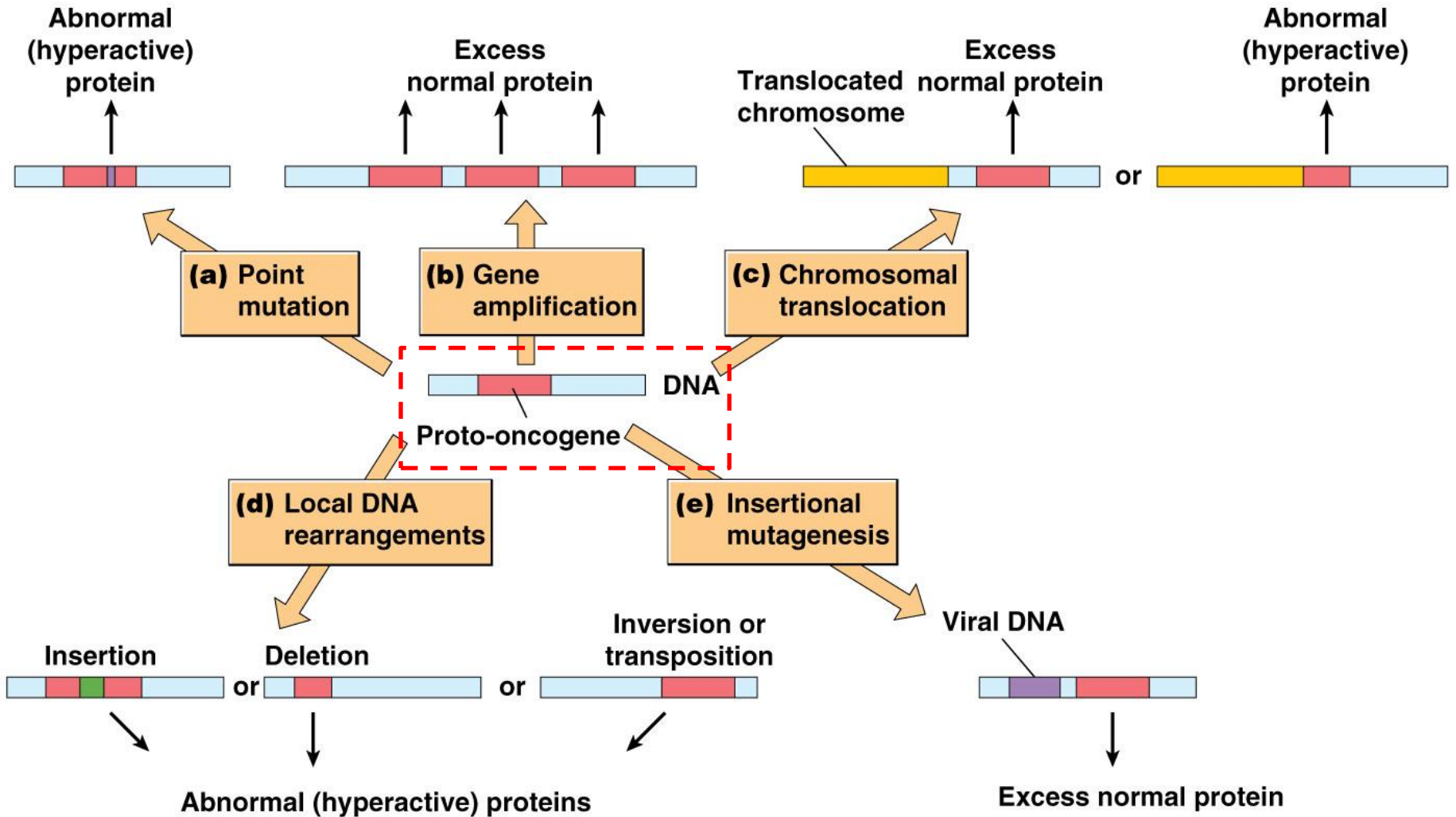
## G2/M Checkpoint kontrola DNA



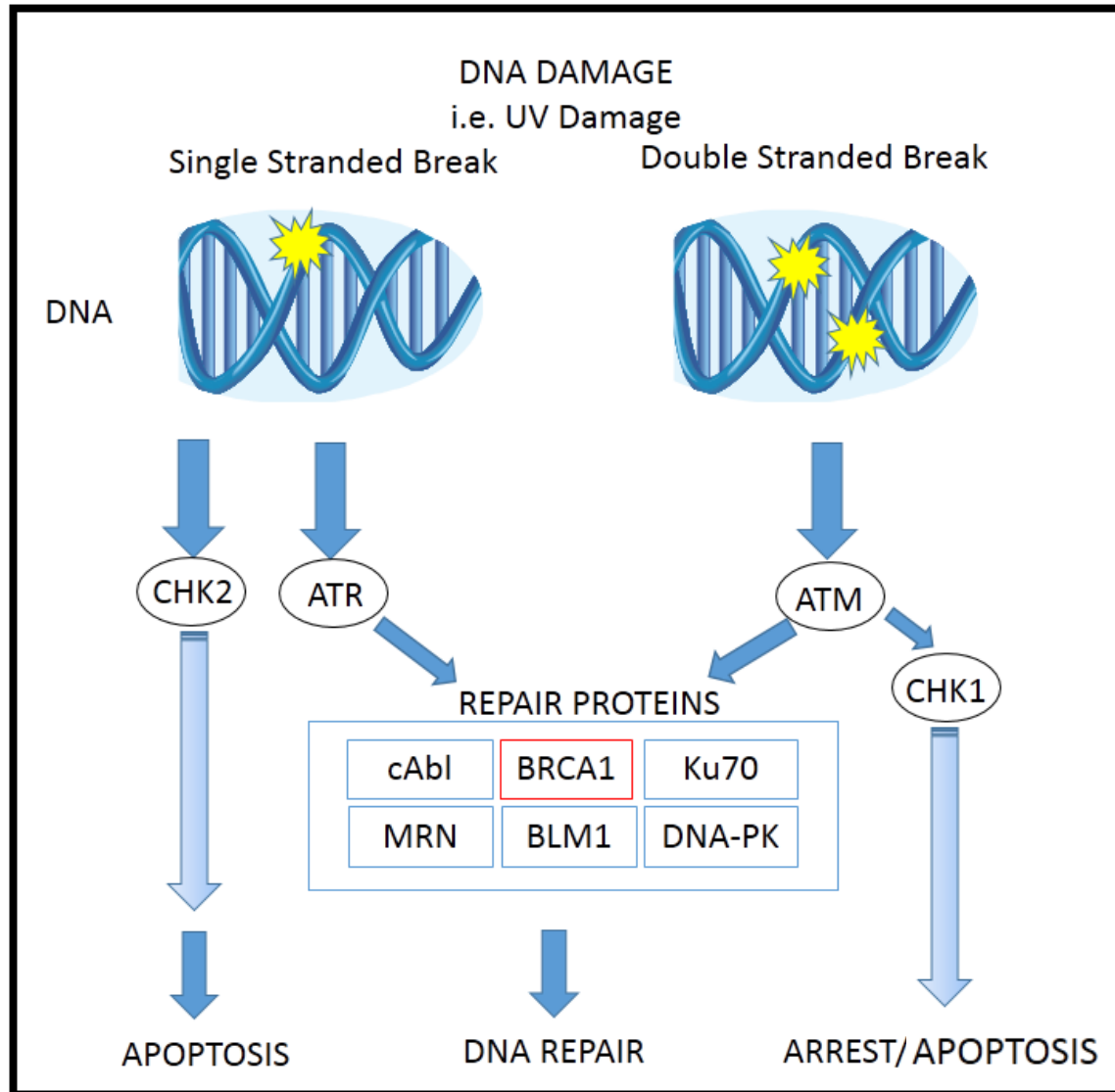


# Typy mutací

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



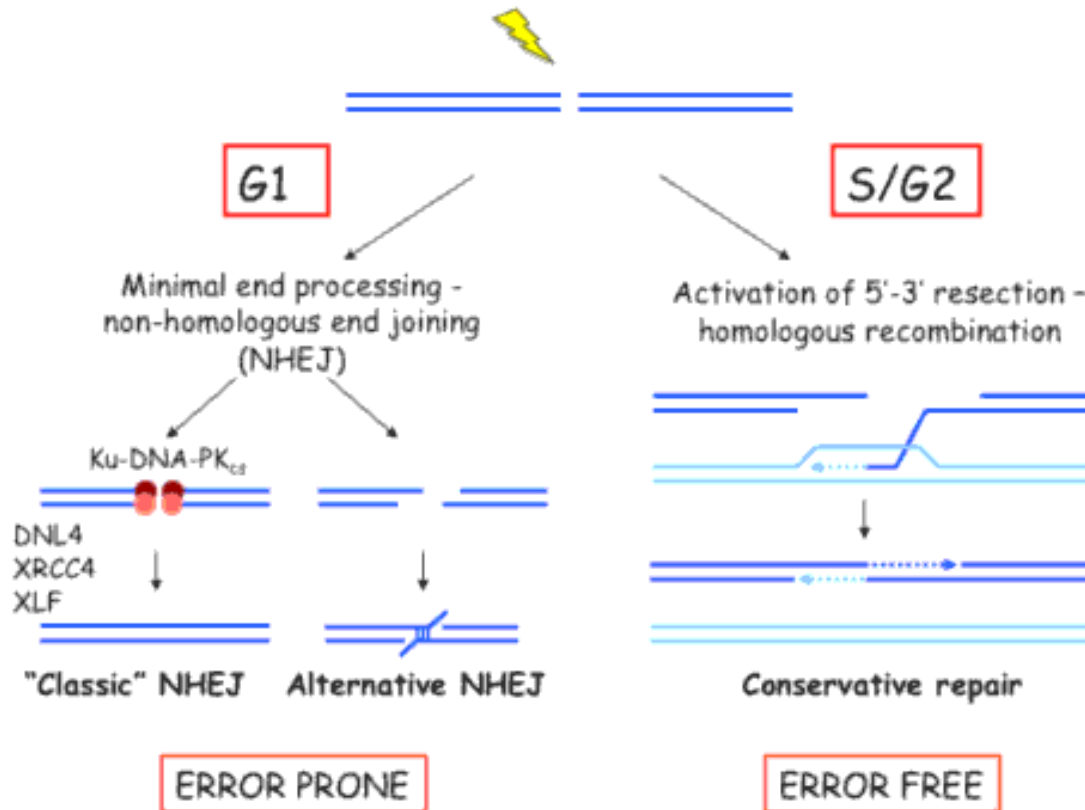
# Oprava DNA



# Oprava DNA

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

## Two mechanisms to repair DSBs



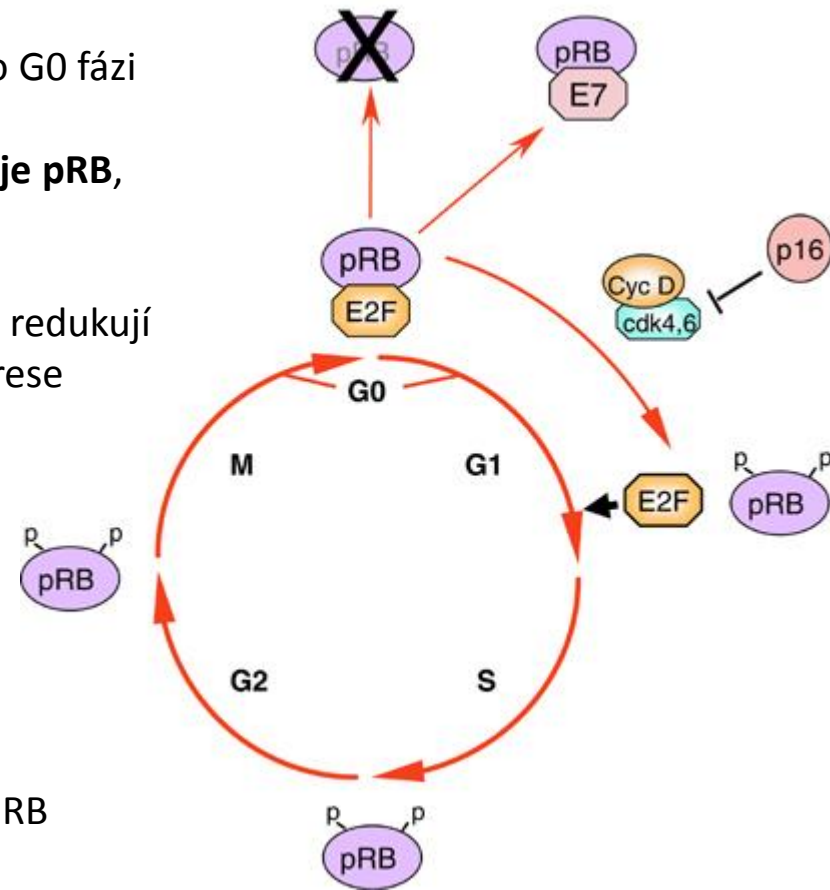
## Tumor-supresor RB

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

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

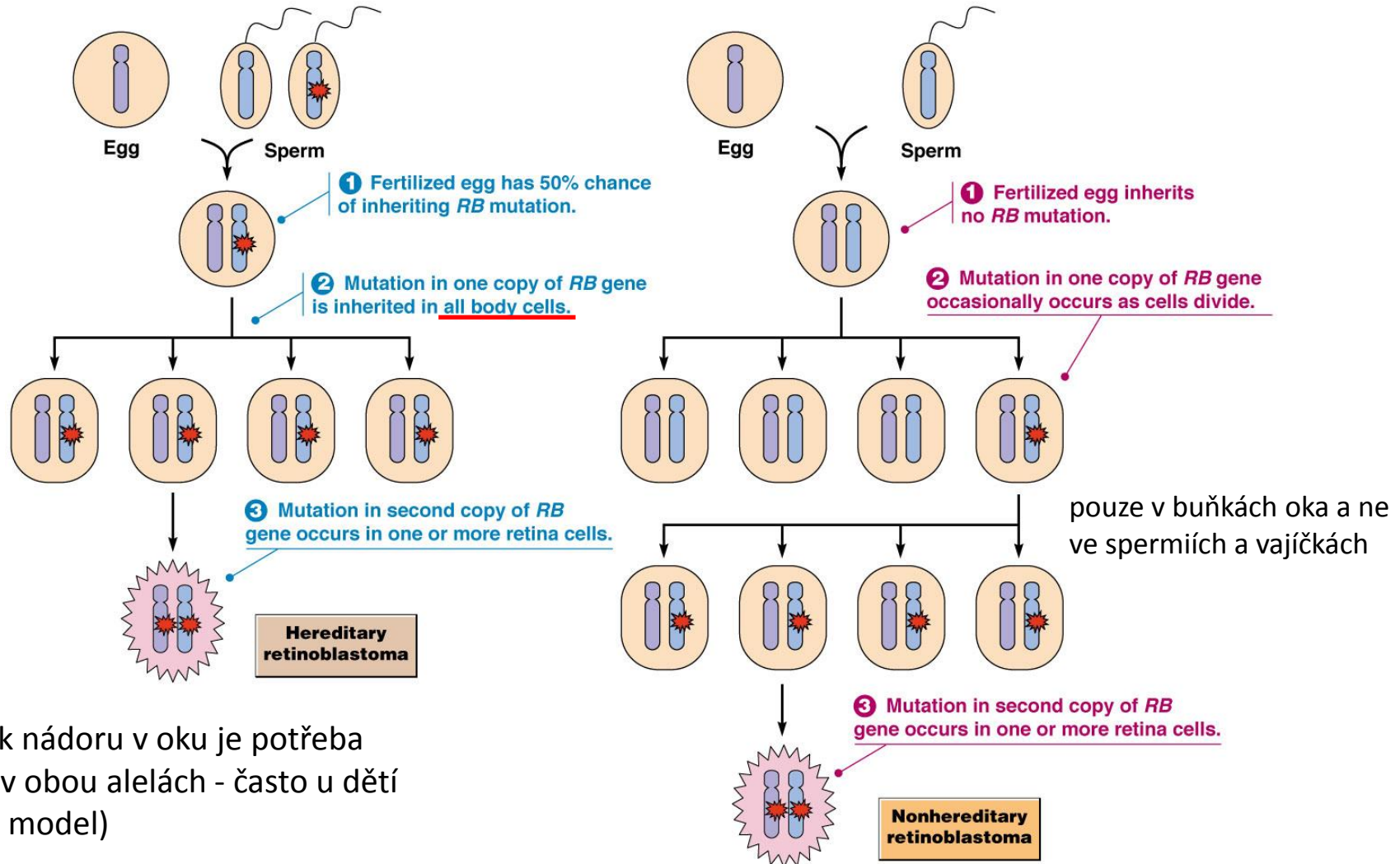
**V nádorových buňkách** pRB často nefunguje a E2F je stále volný → neregulovaná proliferace

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



# Dědičné typy rakoviny - mutace RB

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



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

## Two-hit model

*Pro vznik retinoblastomu je potřeba dvou genetických změn*

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

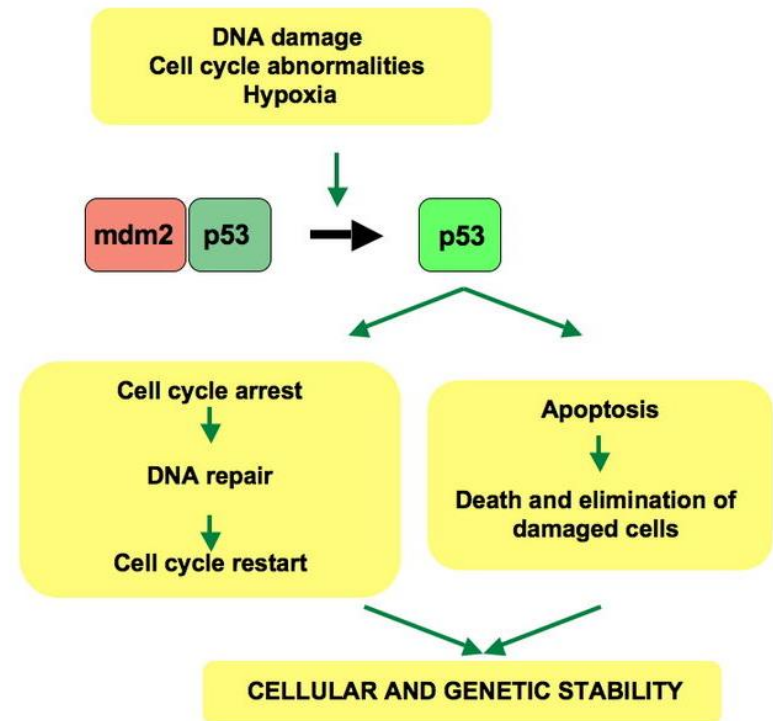
*"Very often we learn fundamental things from unusual cases." (A. Knudson)*

	Familiální	Sporadický
Frekvence	1:1	1:30 000
Počet nádorů	mnoho	jeden
Postižené oči	obě	jedno
První detekce	brzká	pozdní

# Tumor-supresor p53

*The guardian of the genome*

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



*HDAC - Histon deacetylázy*  
*HAT - Histon acetyl transferázy*

*potlačují expresi*  
*aktivují expresi*

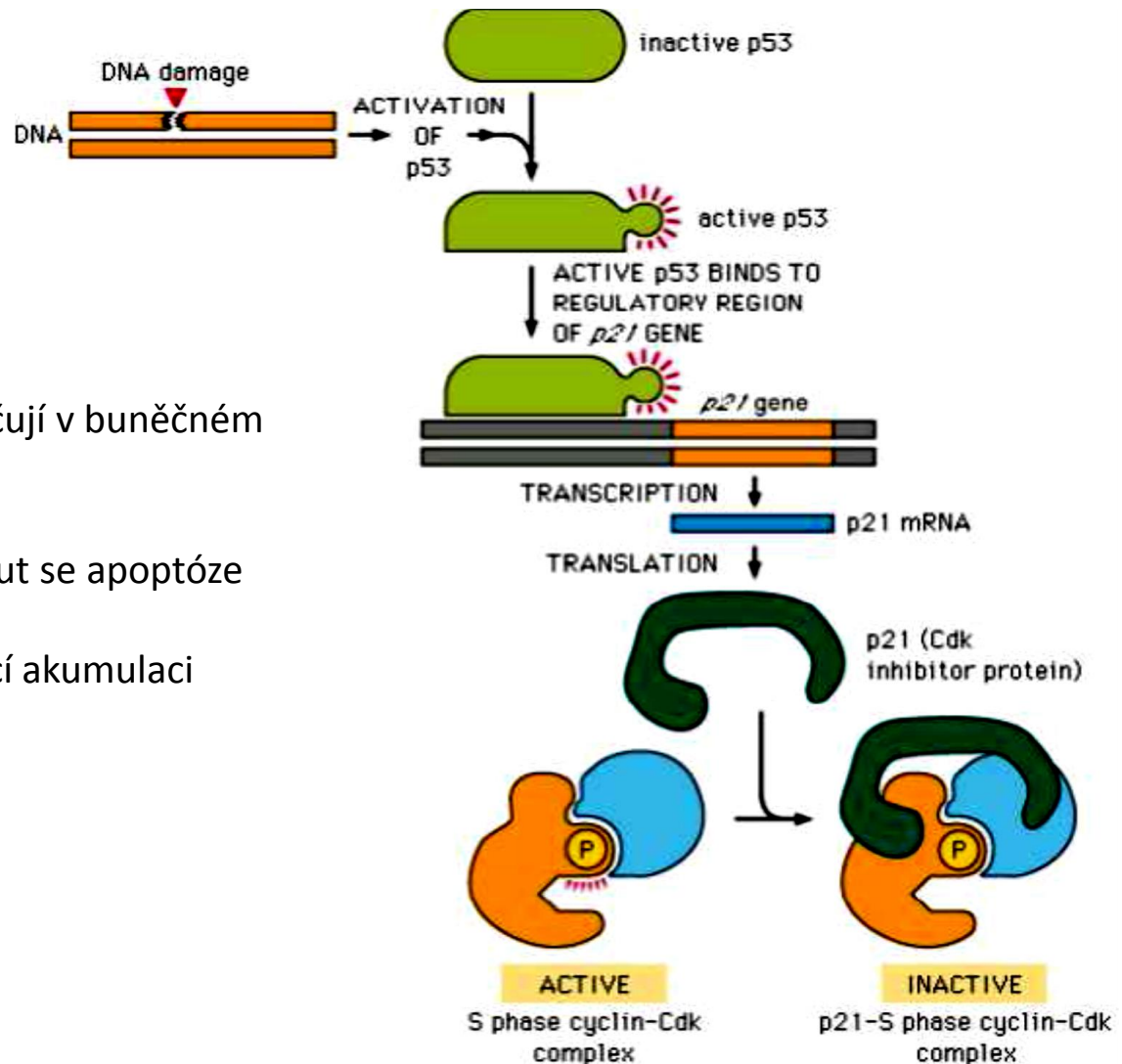
*HDAC1, HDAC2, HDAC3...*  
*Gcn5, p300/CBP, PCAF, SRC-1, ACTR, ESA1, MOZ...*



# Tumor-supresor p53

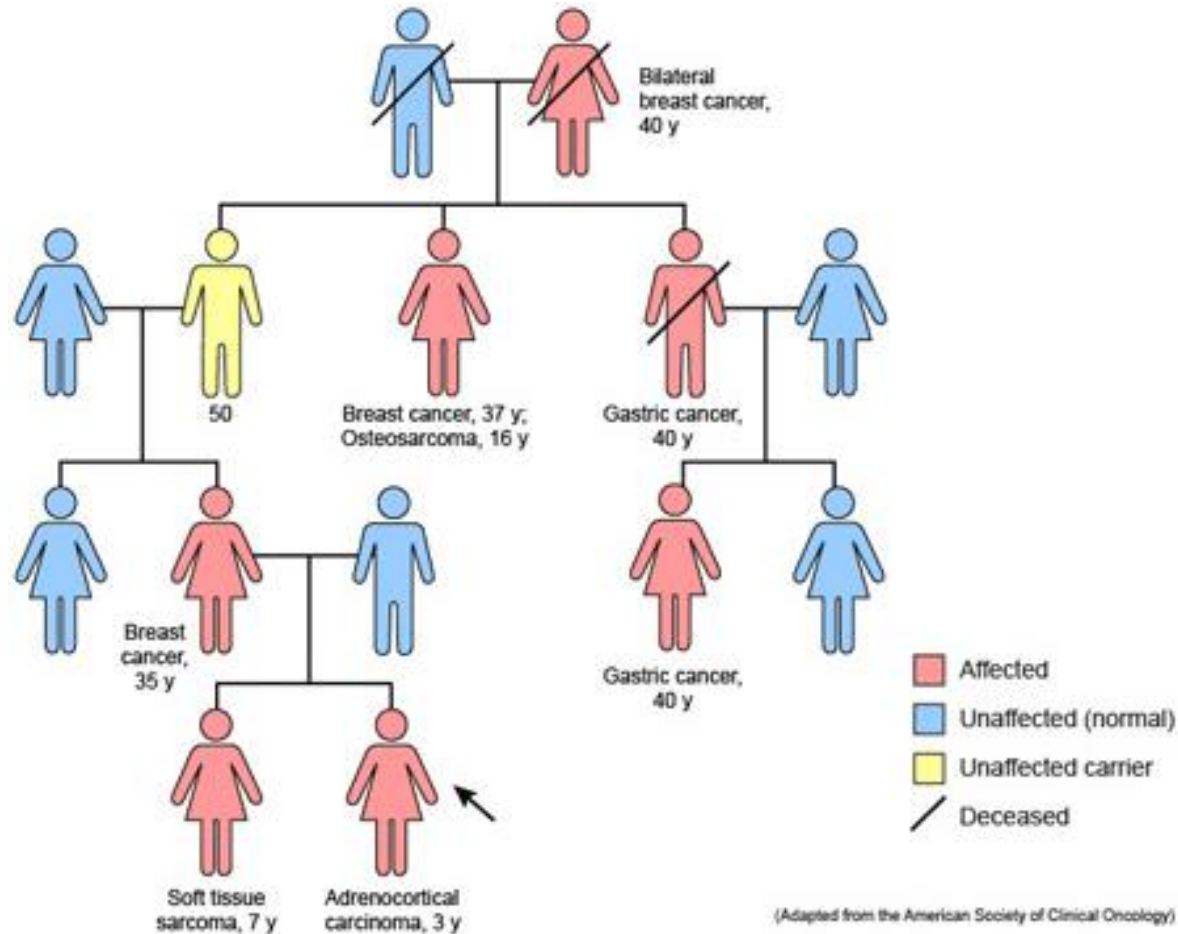
brzda vstupu do S-fáze zástava BC v G1 fázi umožňuje přestávku nutnou k opravám DNA

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



# Li-Fraumeni syndrom

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



# Koordinace tumor-supresorů RB a p53

- dvě hlavní dráhy zajišťující buněčnou odpověď na potenciální onkogenní stimuly

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

## 1. dráha p53

Indukce ARF, které oddělí MDM2 od p53

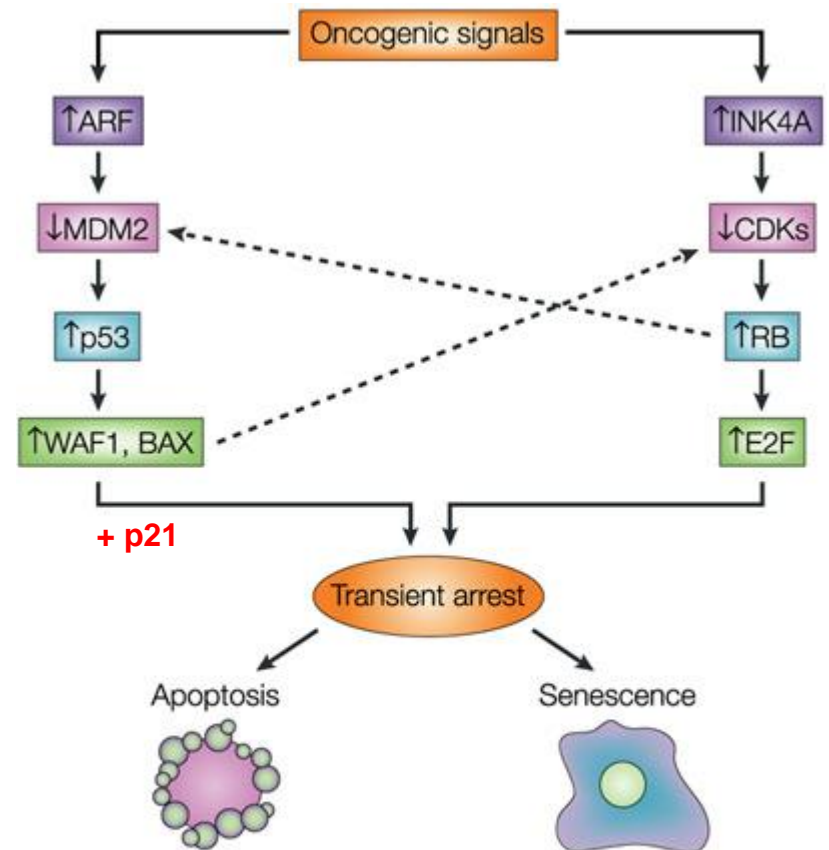
- aktivní p53 reguluje řadu genů, mj.:

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

## 2. dráha RB

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

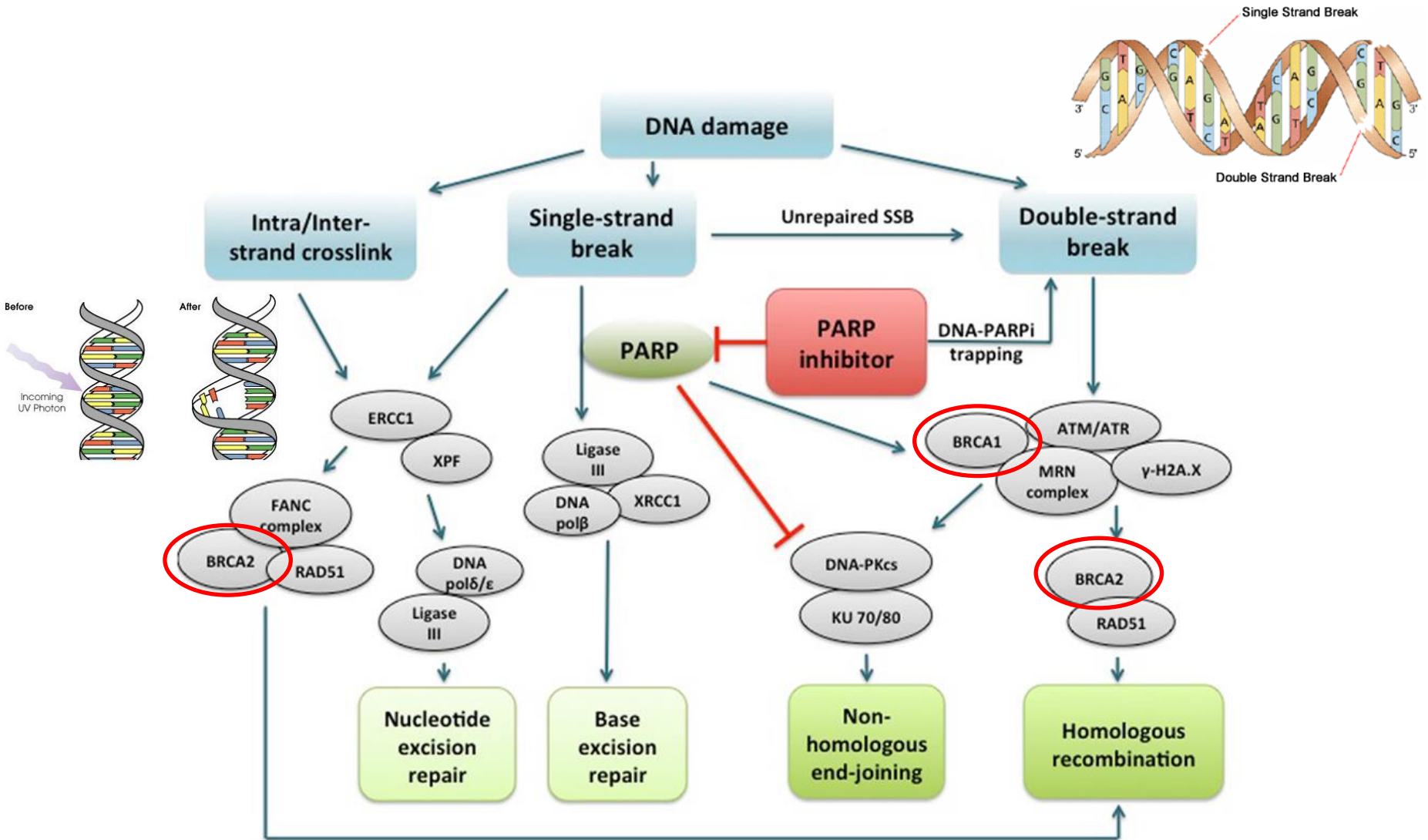
RB se též může vázat na MDM2-p53 a regulovat aktivitu p53



# Tumor-supresory BRCA1 a BRCA2

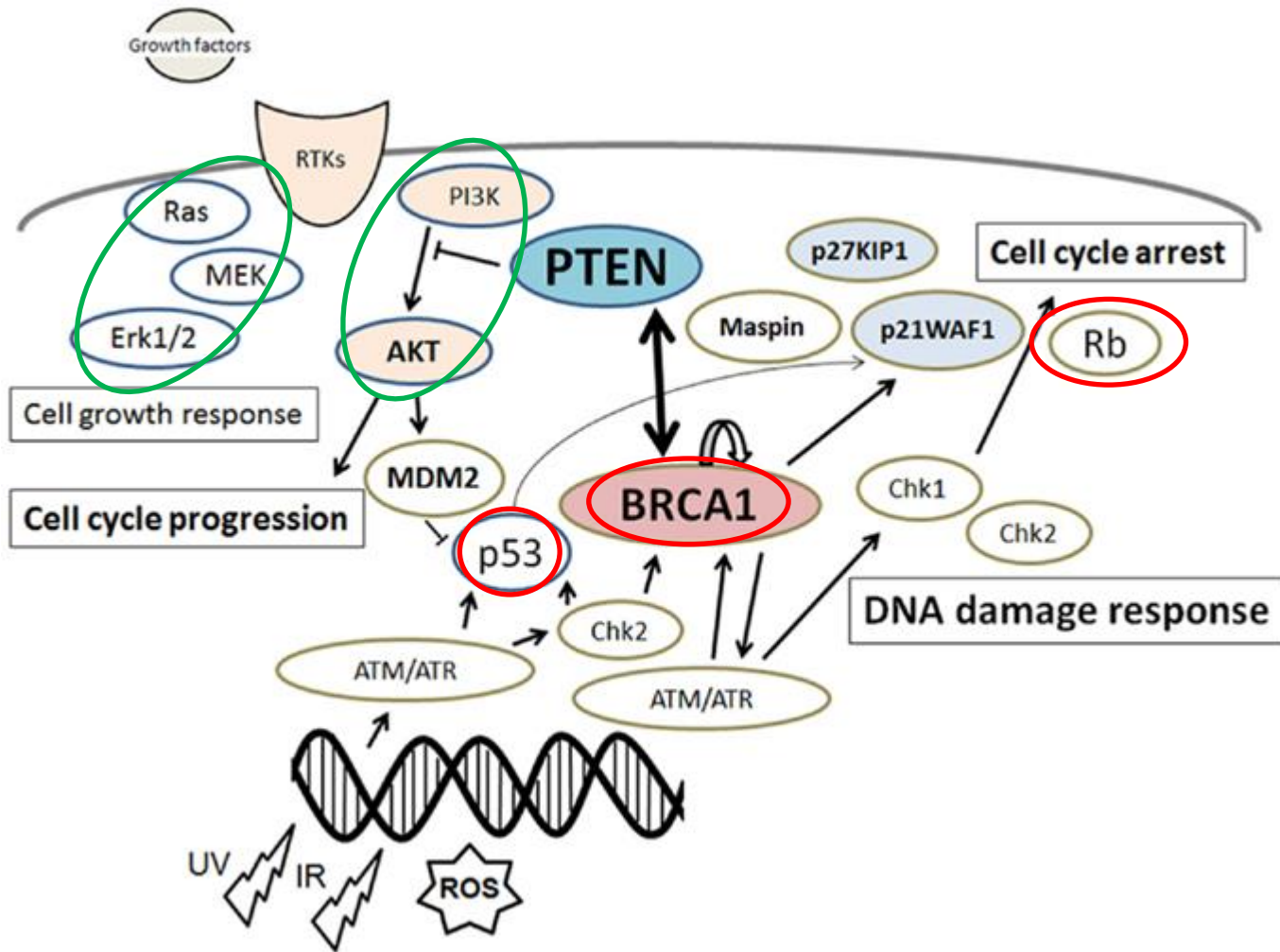
*BR*east *C*ANcer 1 a 2 geny

- pomáhá opravovat poškození DNA, zejména DSBs (dvojlzomy)



## Tumor-supresory BRCA1 a BRCA2

- jen 5-10% rakoviny prsu je zapříčiněno mutací v BRCA
- nebezpečná mutace v BRCA zvyšuje vznik rakoviny prsu a vaječníku (ne všechny mutace jsou nebezpečné)

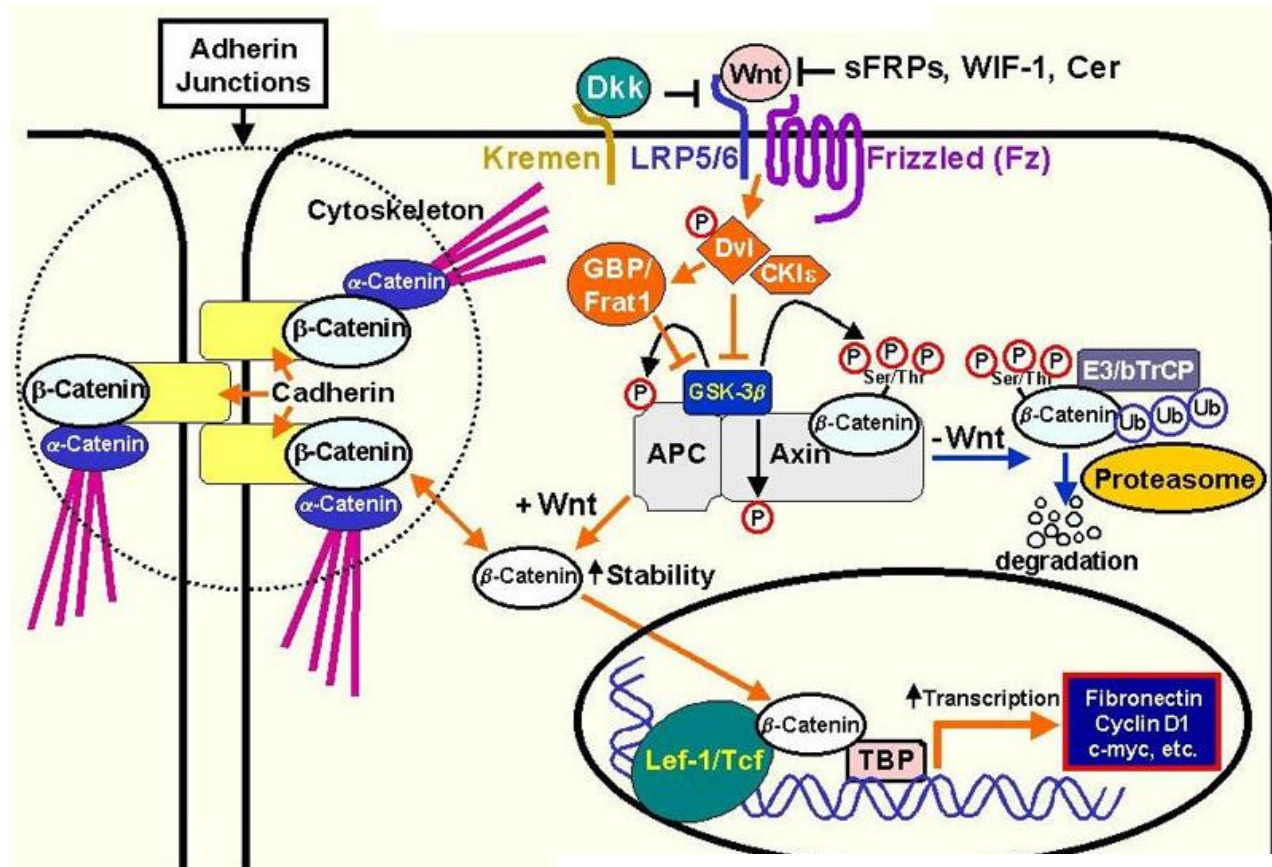




# Proto-onkogeny - signální dráha Wnt

postupná přeměna zdravé buňky tlustého střeva v nádorovou

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



## Nádory tlustého střeva:

p53 mutace v 70%

APC mutace v 70%

APC je negativní regulátor β-kateninu

# Proto-onkogeny - receptory pro růstové faktory (GFR)

## 1. Konstitutivní aktivita

- vykazují kinázovou aktivitu i bez přítomnosti ligandu

## 2. Overexprese

- zmnožení počtu receptorů

### EGFR

- karcinom prsu, žaludku, kolorekta

### Her2

- karcinom prsu

### c-Kit

- role v hematopoéze

- fyziologicky exprimován hl. na nezralých krevních progenitorech

- rakovina kůže

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

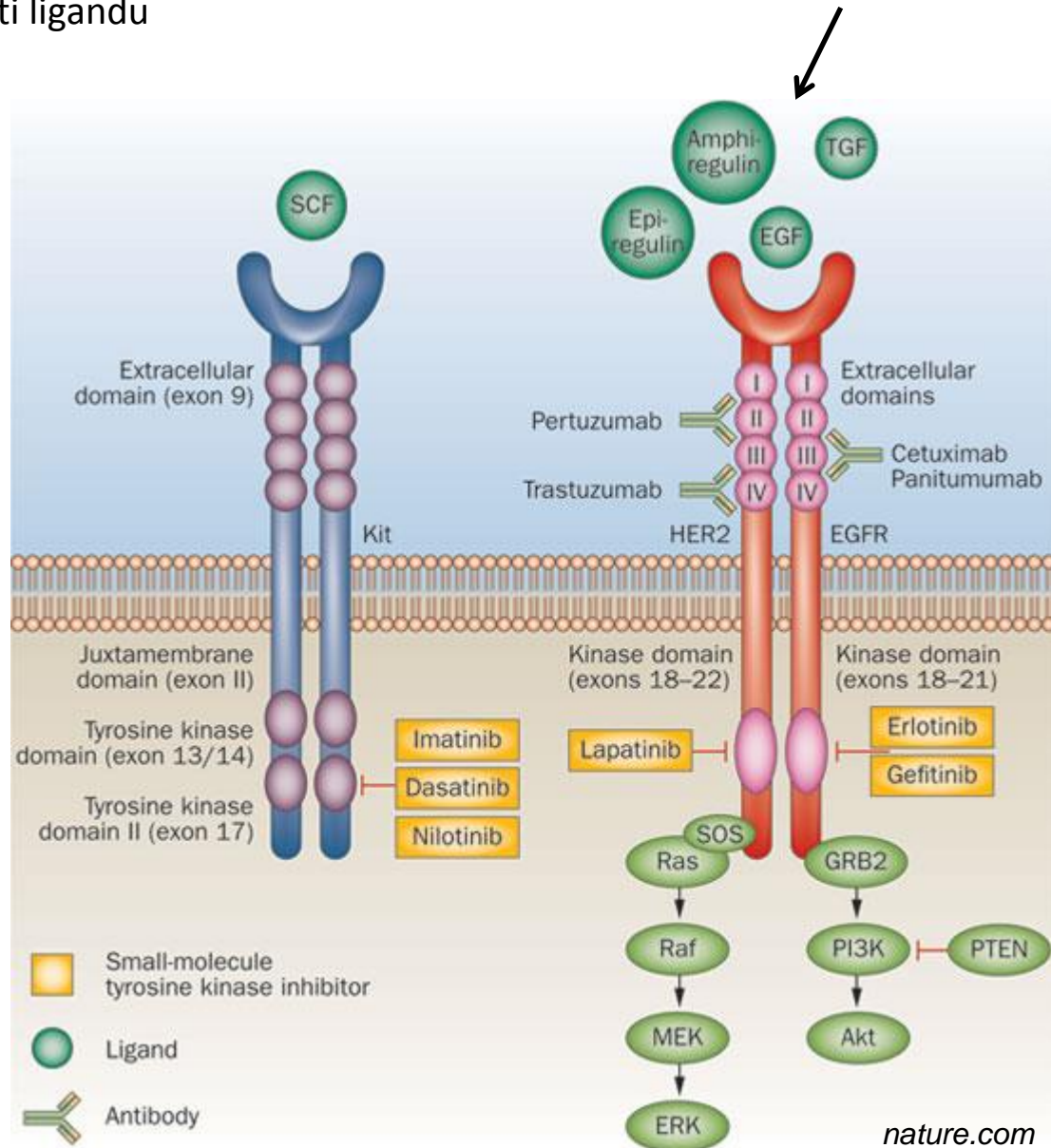
Diagnostika receptorů může predikovat léčebnou odpověď

- *SCF* - stem cell factor; steel factor

- *Trastuzumab* = *Herceptin*

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

## členové rodiny EGF proteinů





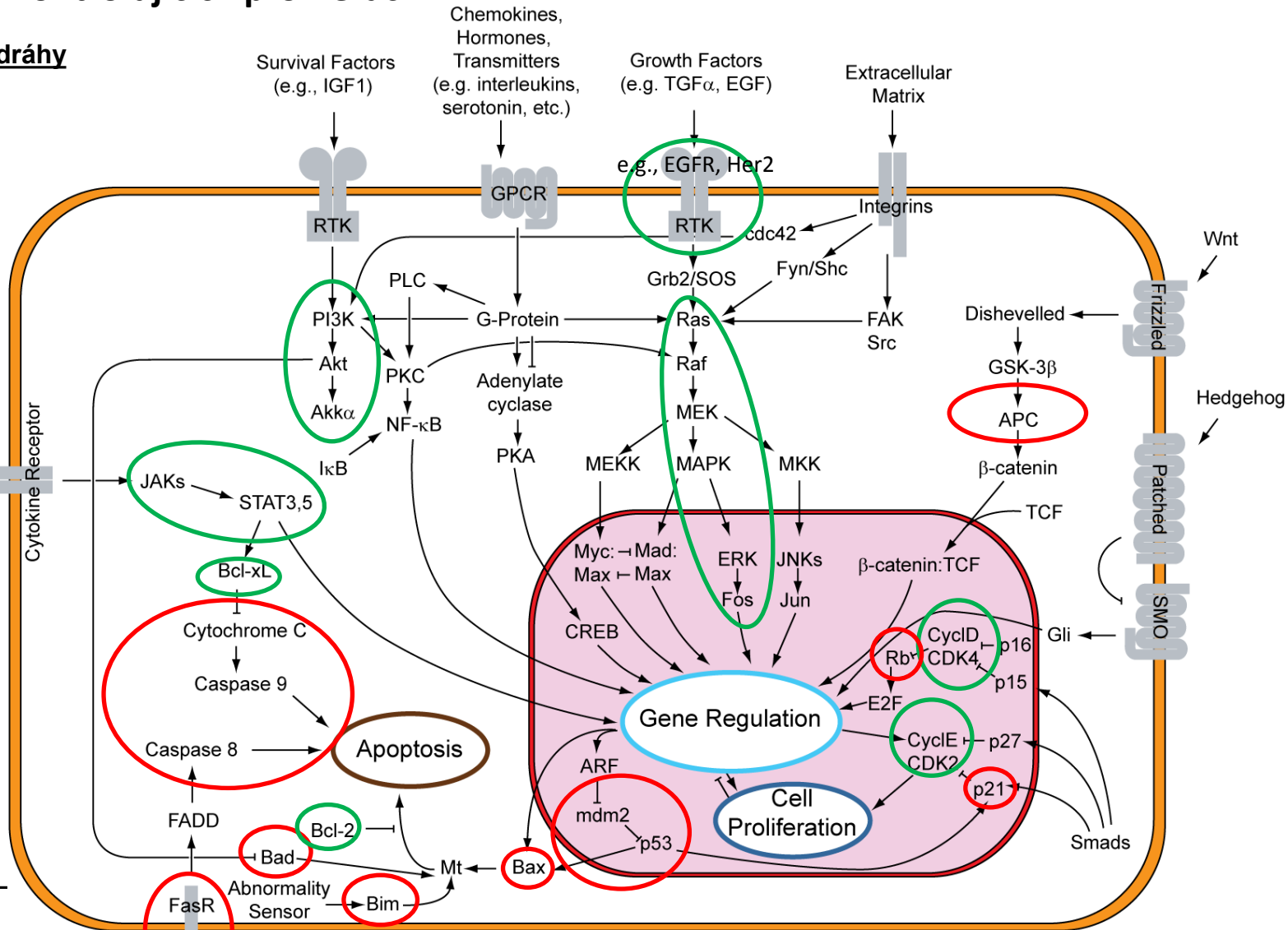
# Přehled faktorů kontrolujících proliferaci

## Hlavní pro-růstové dráhy

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

## Hlavní proti-růstové mechanismy

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



### BCL2 proteinová rodina

reguluje propustnost vnější mitochondriální membrány a tím řídí apoptozu

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

# Karcinogeny

*Faktory, které způsobují nebo napomáhají karcinogenezi*

## 1. Fyzikální karcinogeny

**Zvýšený výskyt karcinomů a leukemií u:**

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



### **vliv UV záření na vznik nádorů kůže**

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

## 2. Chemické karcinogeny

### Anorganické karcinogeny:

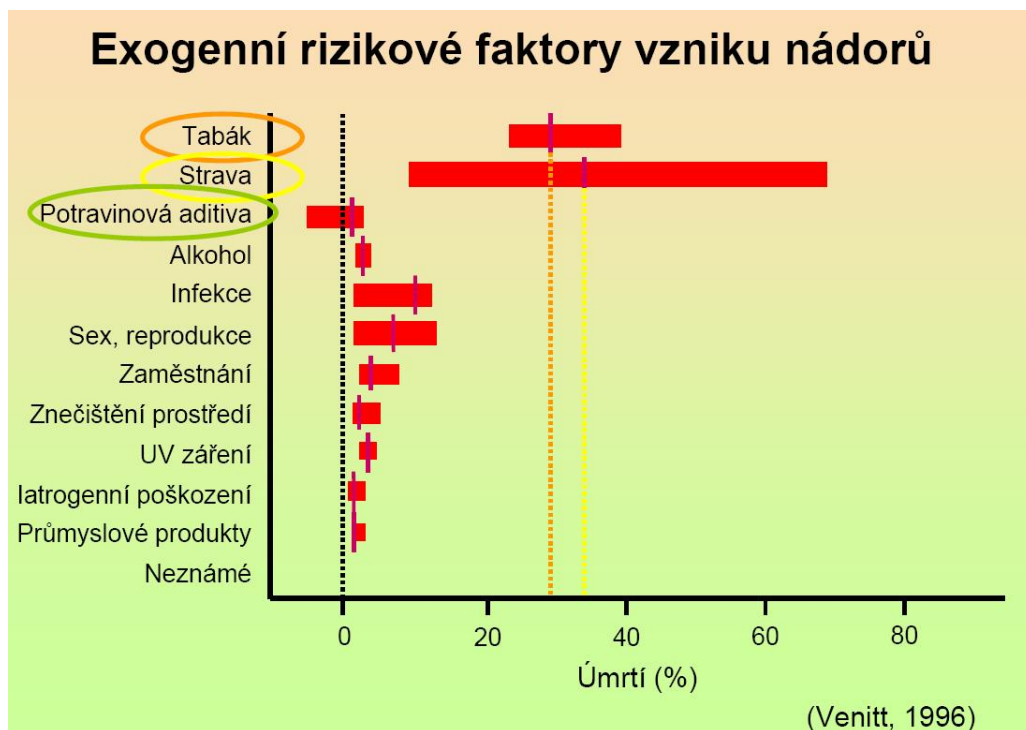
azbest, chrom (6+)

### Organické karcinogeny:

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

### Léčiva:

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



## 2. Chemické karcinogeny - v potravě

### Heterocyklické aminy

- tvoří se v mase jeho dlouhou tepelnou úpravou při vysoké teplotě
- karcinom žaludku a střev

### Nitrosaminy

- vznikají v těle z aminů a dusičnanů
- do uzenin se přidávají dusičnany aby zadržovaly vodu v mase
- obsaženy též v pivu
- karcinom žaludku

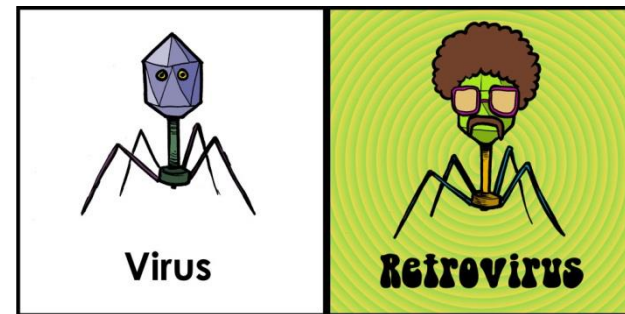


### 3. Biologické karcinogeny: onkogenní (nádorové) viry

#### a) Retroviry (RNA viry):

*Jednořetězcová RNA – využívá reverzní transkripci*

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



#### Oncoviry

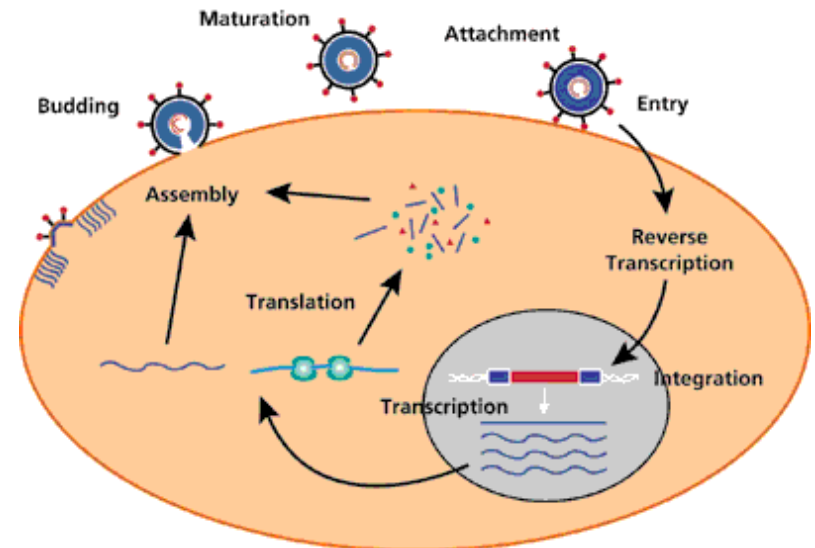
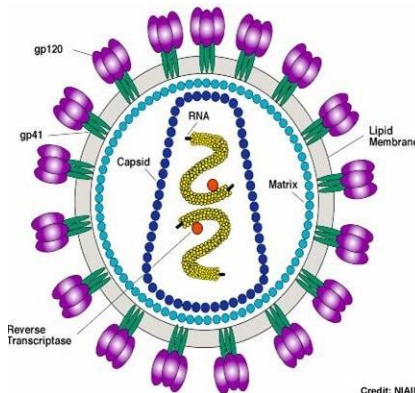
##### lidský lymfotropní virus typu I (HTLV-1)

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

#### Lentiviry

##### viry HIV-1 a HIV-2

nádory spojené s jejich infekcí - lymfomy a sarkomy



### 3. Biologické karcinogeny: onkogenní (nádorové) viry

#### b) DNA nádorové viry

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

*Inaktivace p53 patří ke klíčovým událostem při transformaci buňky DNA viry*

#### **Virus hepatitidy B (HBV)**

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

#### **Herpes viry - EB (Epstein Barrové virus)**

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

#### **Papilomaviry (HPV xx)**

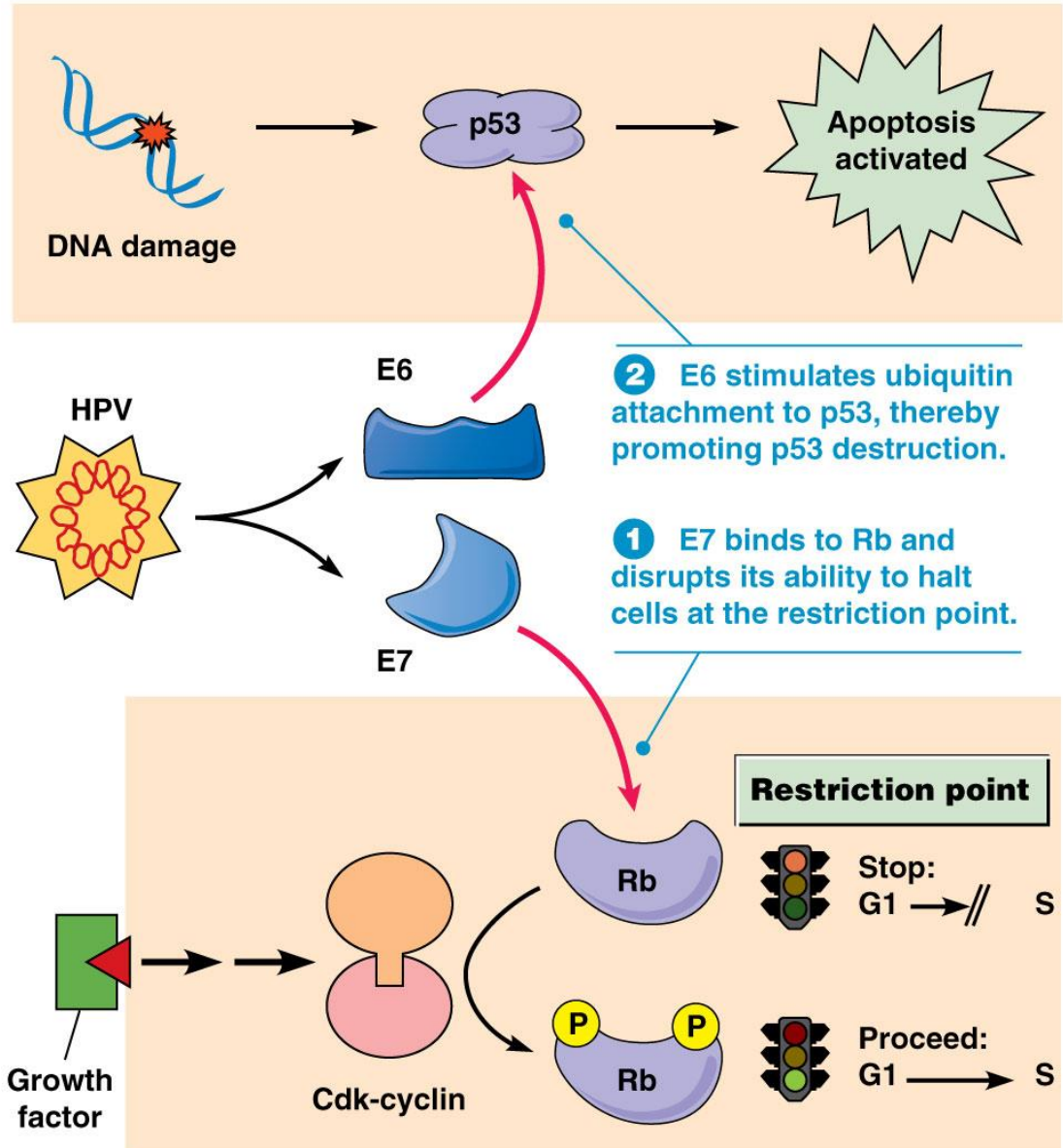
- způsobuje rakovinu děložního čípku
- v benigních nádorech – ve formě episomů, v maligních integrace do genomu
- popsáno asi 100 odlišných typů papilomavirů - dělí se na „high-risk“ a „low-risk“ typy podle prognózy



# Lidský papiloma virus ovlivňuje RB a p53

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

- E6 → p53
- E7 → RB



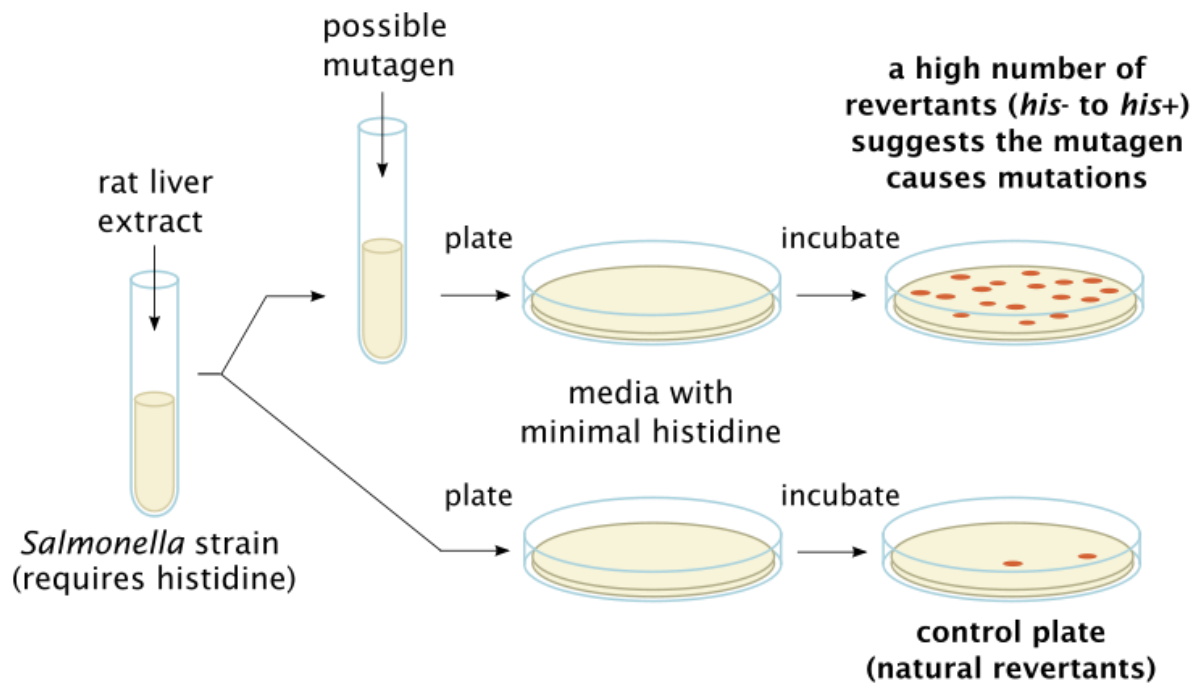
# Amesův test

Základní test na stanovení mutagenního potenciálu chemických sloučenin

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



Bruce Ames



- bakterie *Salmonella typhimurium*
- auxotrofní mutant

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

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

- čím karcinogennější látka - tím více mutací - více kolonií

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

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

# Léčba rakoviny

## 1. Konvenční chemoterapeutika

cíl proliferující buňky, nespecifická, vždy stejné % proliferujících buněk

### Cíle:

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

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

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

## 2. Cílená terapie

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

### Nevýhody:

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

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

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

# Mechanismy působení konvenčních cytostatik

## 1. Alkylační látky

- atakují negativní náboj DNA a způsobují zlomy v DNA - zabraňují replikaci
- mohou indukovat vznik sekundárních leukemií
  
- *Chlorambucil (lymfomy, CLL)*
- *Cyklofosfamid - nejpoužívanější*
- *Busulfan - předtransplantační myeloablace, CML*
- *Cisplatina - DNA damage, interkalace, aktivní intracelulárně, nefrotoxicita*

## 2. Antimetabolity

- zasahují do syntézy nukleových kyselin
- cílí hlavně na proliferující buňky
  
- *Metotrexát - blok syntézy purinu inhibicí dihydrofolátreduktázy (osteosarkom)*
- *Fludarabin - blok purinů - substituce adenosinu - fragmentace DNA, (AML, CLL)*
- *5-fluoruracil - integrace do RNA*
- *Hydroxyurea - blok ribonukleotidreduktázy, inhibice pyrimidinu, CML*

# Mechanismy působení konvenčních cytostatik

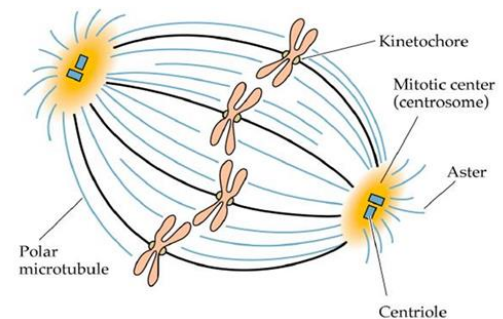
## 3. Protinádorová antibiotika\*

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

## 4. Rostlinné alkaloidy

blokují tvorbu vřeténka vazbou na mikrotubuly

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



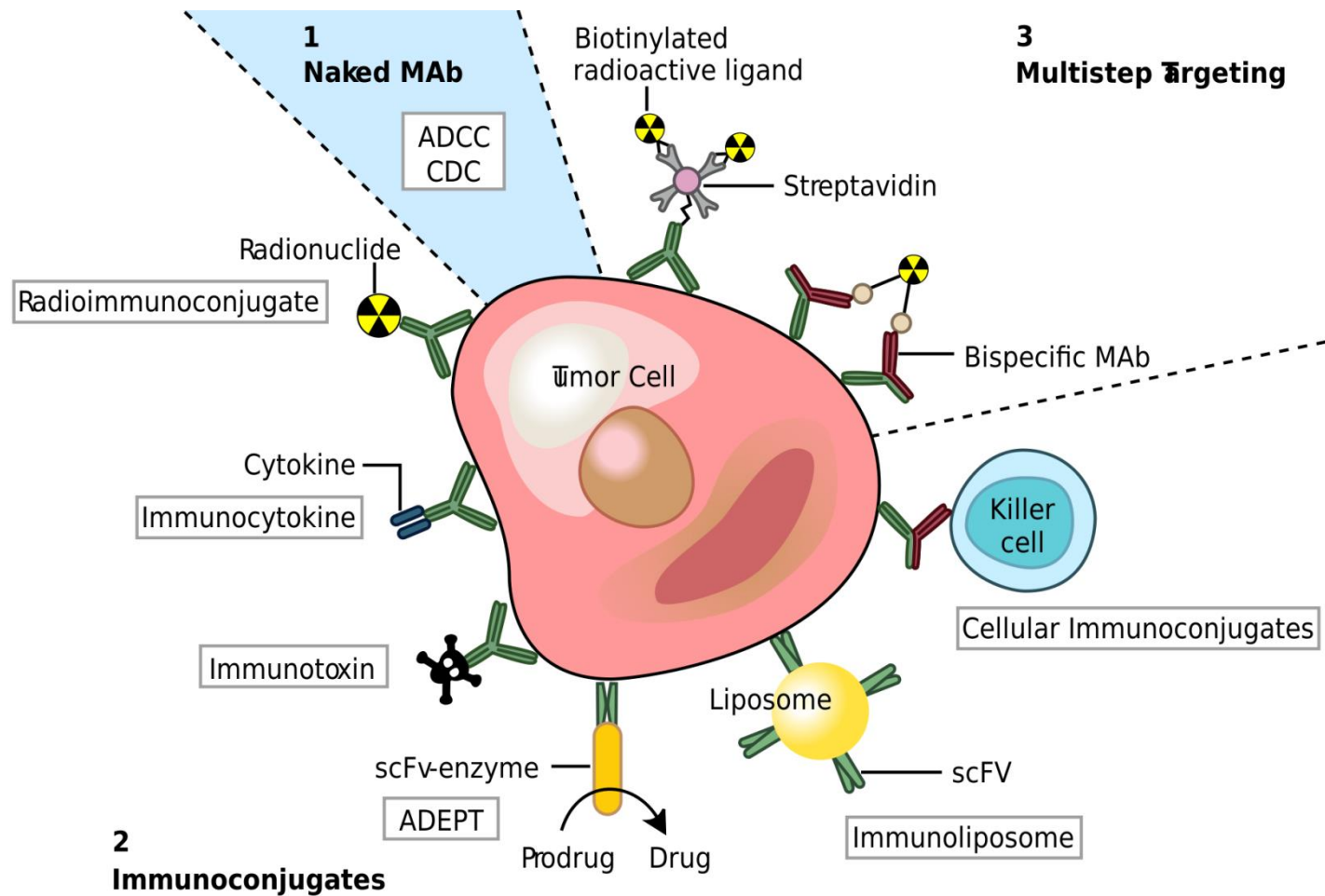
*\*protinádorová antibiotika v tomto kontextu neoznačují antibakteriální látky  
topoisomerasa: rozmotává DNA při replikaci*

# Cílená terapie - příklady

## Monoklonální protilátky

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

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



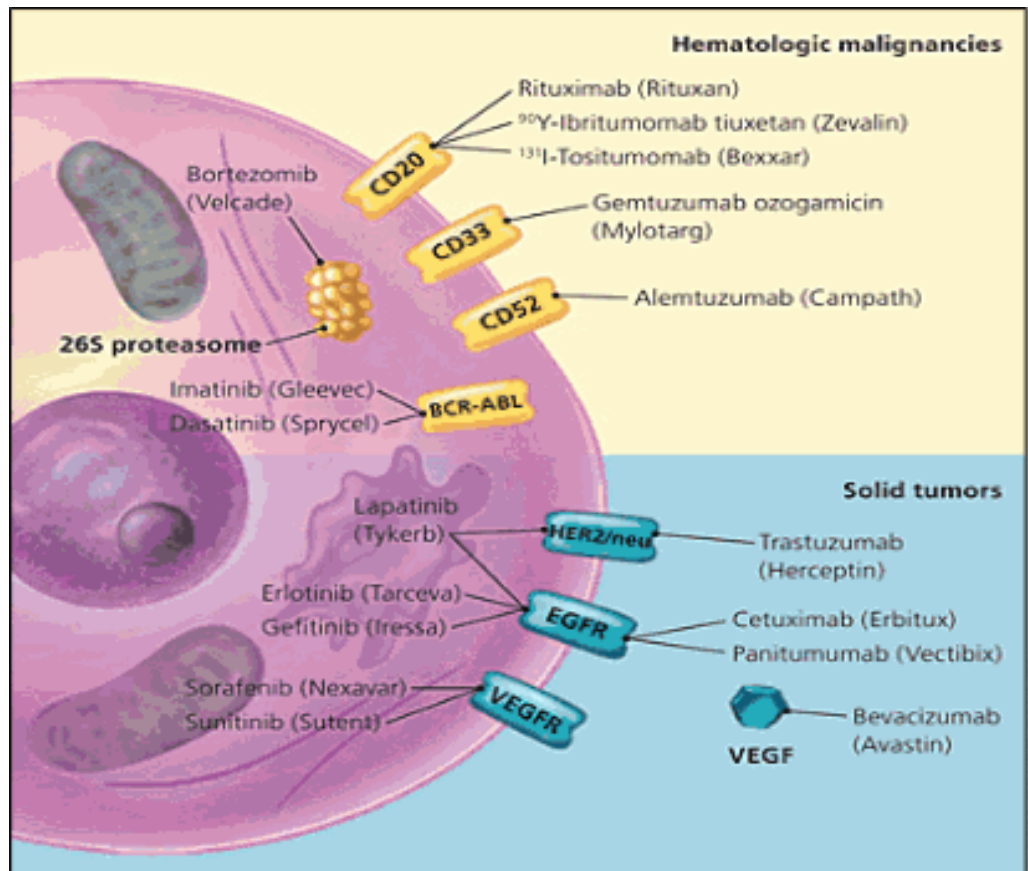
**MAb** - monoclonal antibody  
**ADCC** - antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity  
**CDC** - complement-dependent cytotoxicity



# Cílená terapie - příklady

## Monoklonální protilátky

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



## 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)

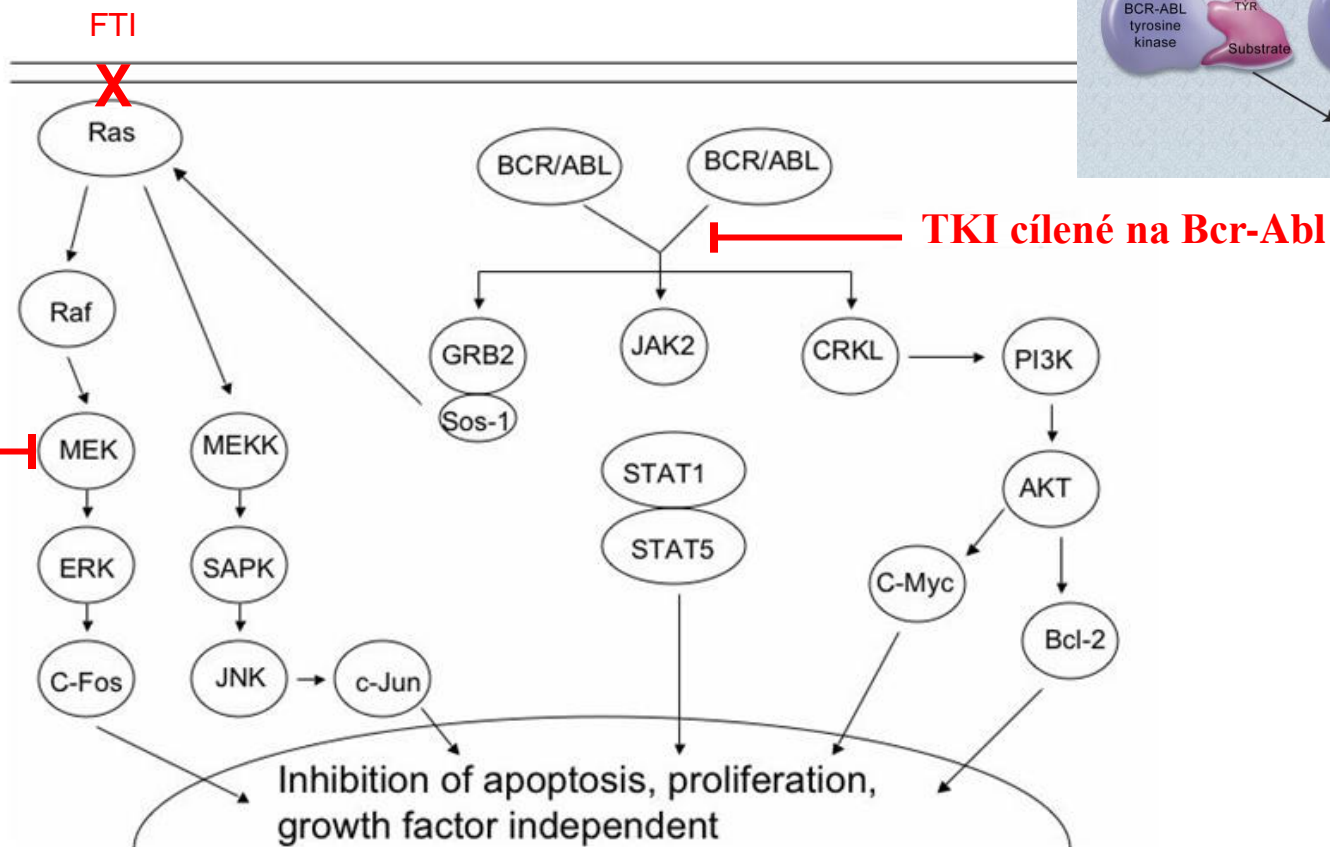
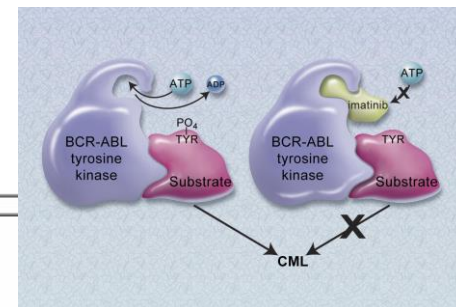
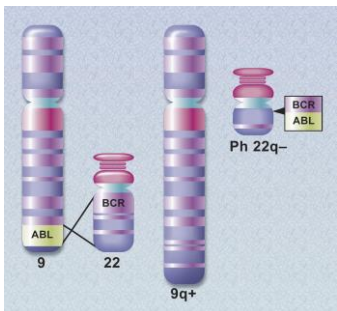
inhibice funkce Ras (trvale zapnutý v nádorech)

- *Lonafarnib, Tipifarnib, BMS-214662*

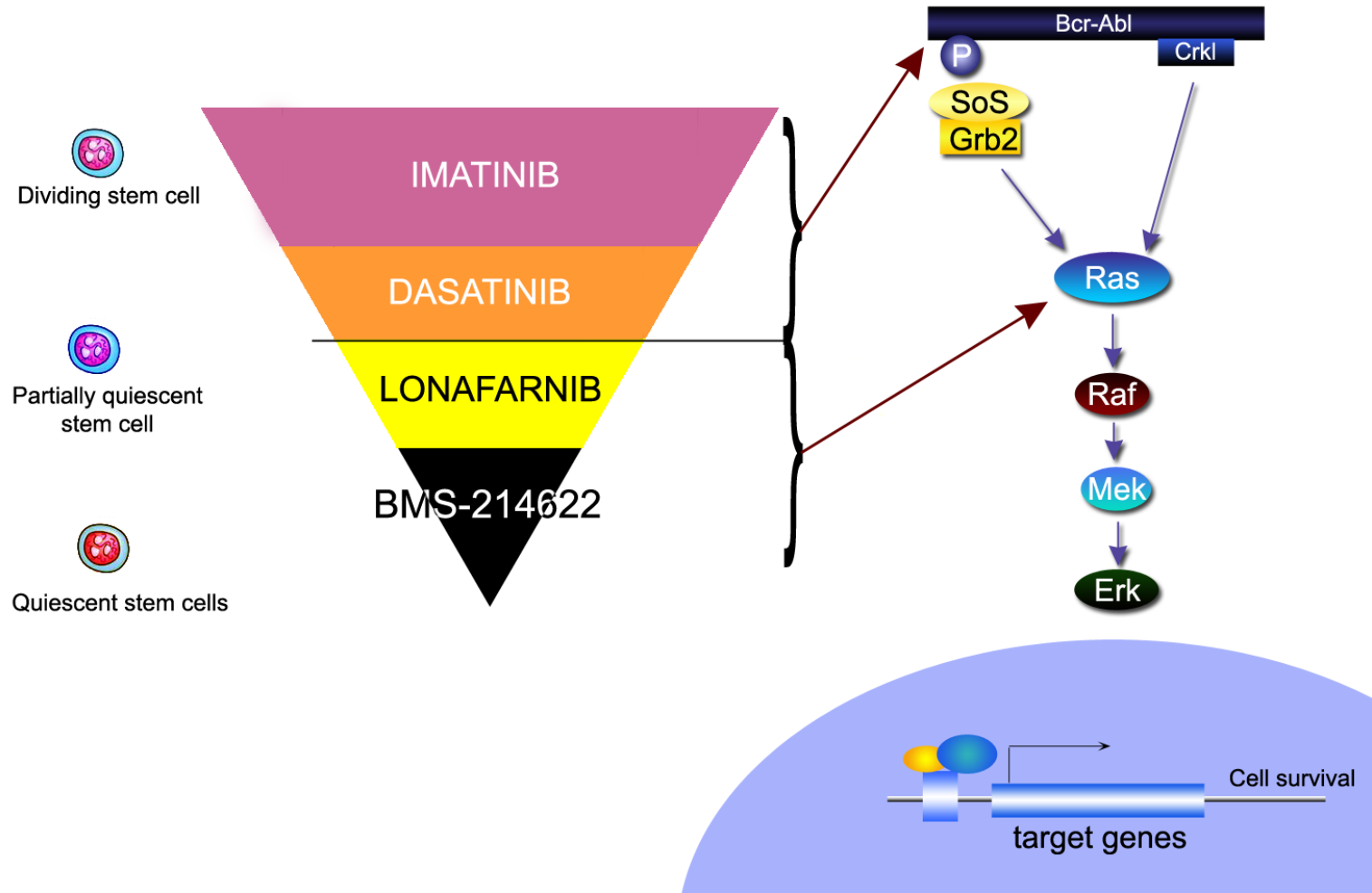
# Cílená terapie Chronické Myeloidní Leukemie (CML)

Over-exprese tyrozinkinázy Bcr-Abl v CML způsobuje:

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



# Cílená terapie CML



# Quiescentní kmenová buňka zodpovědná za relaps

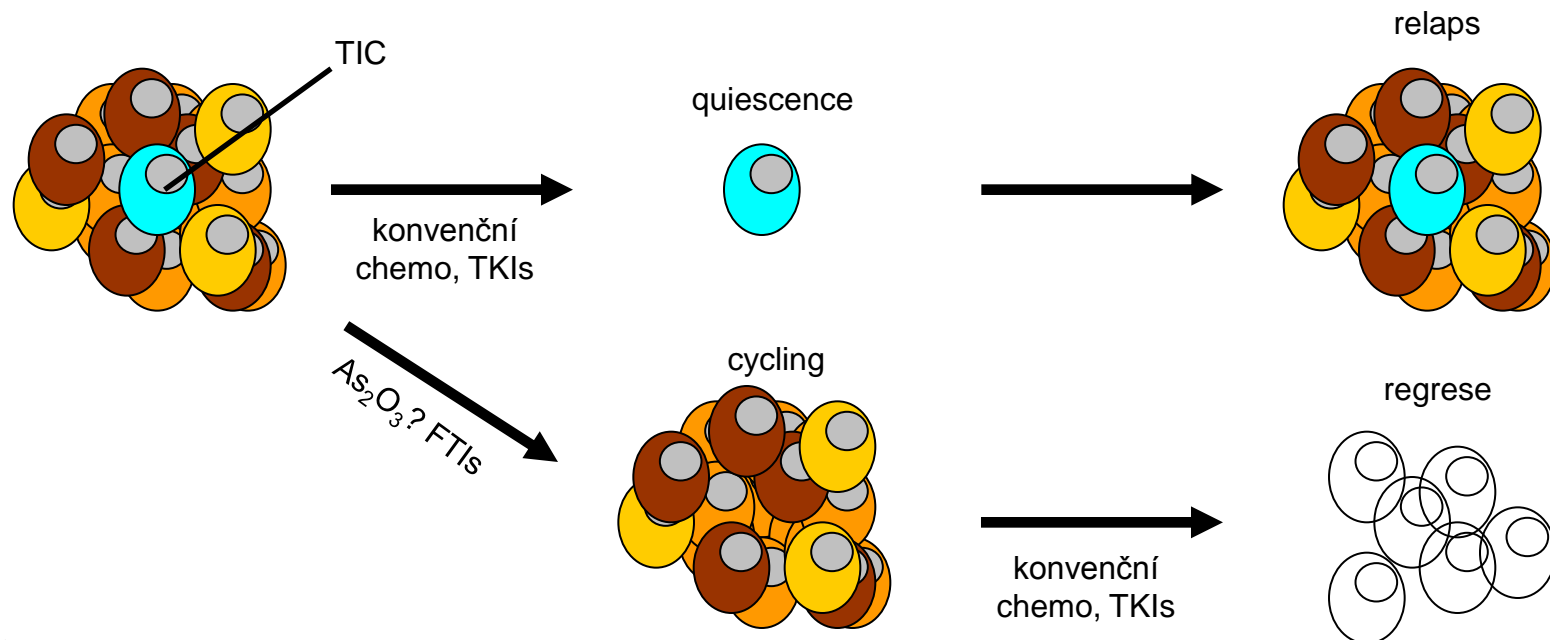
## Indukce vstupu quiescentní kmenové buňky do b. cyklu

*V kombinaci s konvenční chemoterapií*

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

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

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



## Vybrané mutace v nádorových onemocněních:

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

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