Molekulární biologie

12. Molekulární podstata nádorových onemocnění

Osnova

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

Hlavní zdroje:

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

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

Rakovina

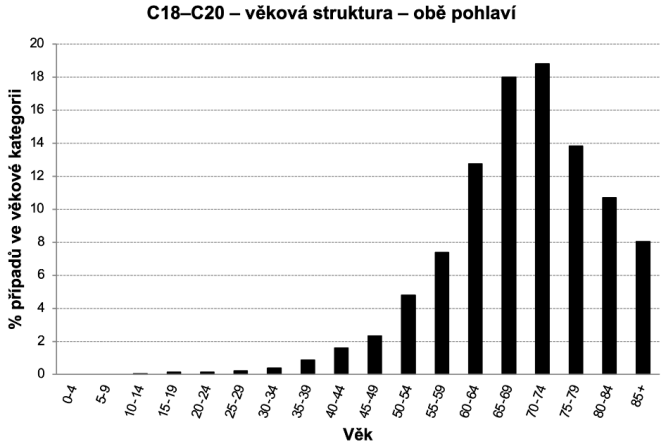
Komplexní onemocnění vycházející z poruch buněčného cyklu.
Způsobena maligním nádorem.

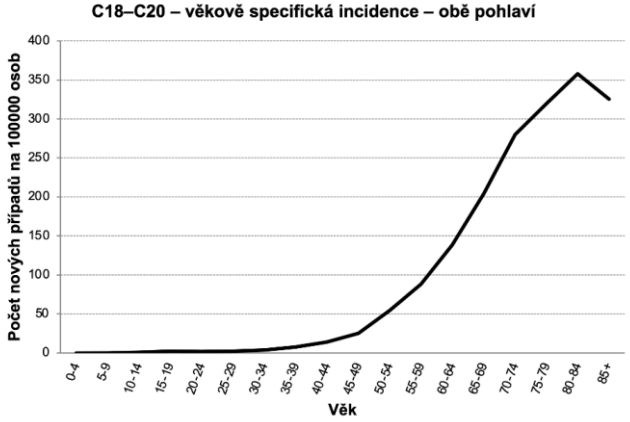
- v civilizovaném světě je šance na vznik rakoviny zhruba u 50 % populace
- druhá nejčastější příčina úmrtí po kardiovaskulárních nemocech
- vývoj rakoviny je postupný proces kumulace změn - vyšší riziko s věkem

Nádor (tumor, neoplazma, novotvar)
- patologický útvar tvořený v tkáni mnohobuněčného organismu, jehož růst se vymkl kontrole
- dělení buněk není omezováno žádným regulačním mechanismem

Kancerogeneze = Karcinogeneze
- proces vzniku a vývoje nádoru

Kolorektální karcinom (C18-C20) ve velké míře postihuje pacienty v produktivním věku. Typický věk českého pacienta s kolorektálním karcinomem sice leží v intervalu 65–74 let, ale téměř 18 % všech nemocných je mladších než 60 let (analyzováno období 2014–2018).





https://www.kolorektum.cz/cs/lekari/epidemiologie-a-vysledky-screeningu/#ceska-republika

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 diferenciace
- tvorba metastáz

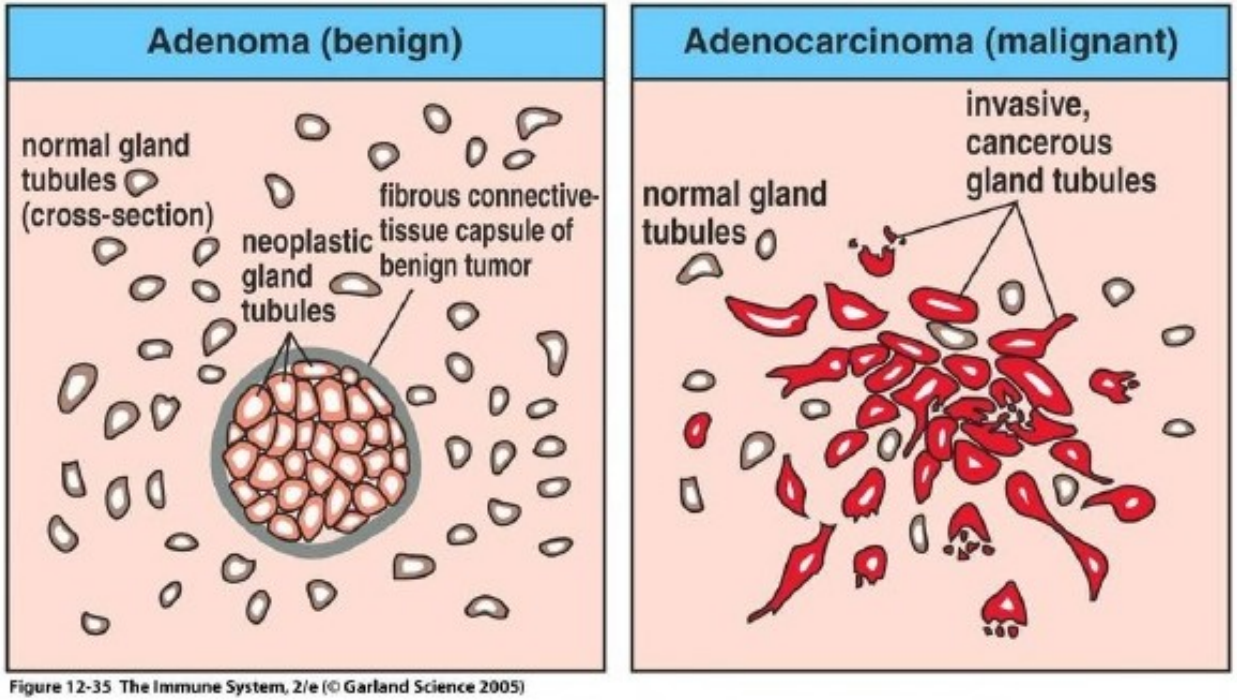


Figure 12-35 The Immune System, 2/e (© Garland Science 2005)

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

Rakovina

Typy

1. (Adeno) Karcinomy

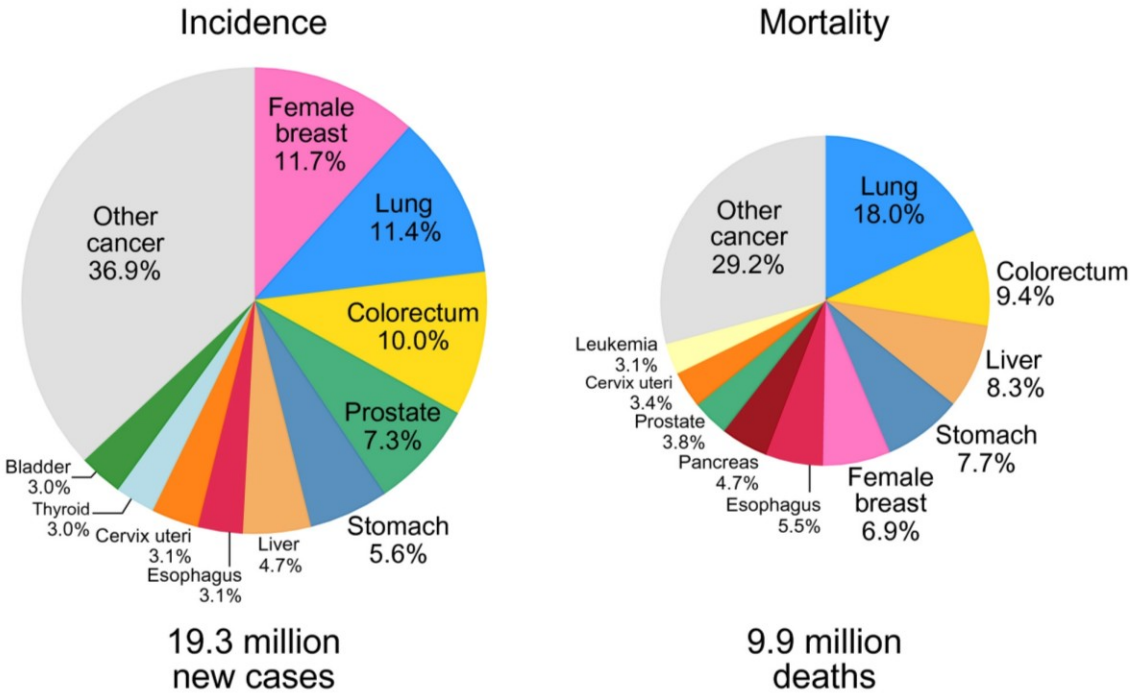
- z epiteliálních buněk
- 90 % všech rakovin
- např. kůže, játra, slinivka, štítná žláza, plíce, prsa, prostata, tlusté střevo, vaječníky, ledviny...

2. Sarkomy

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

3. Krevní a lymfatické

- nevyskytují se jako pevné útvary
- lymfomy a leukémie

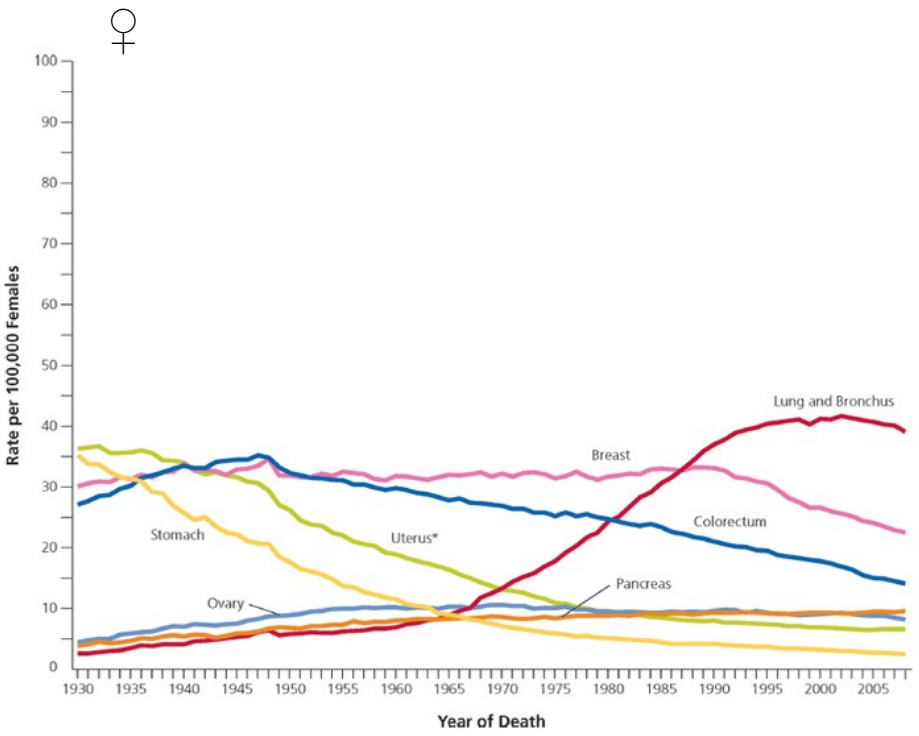


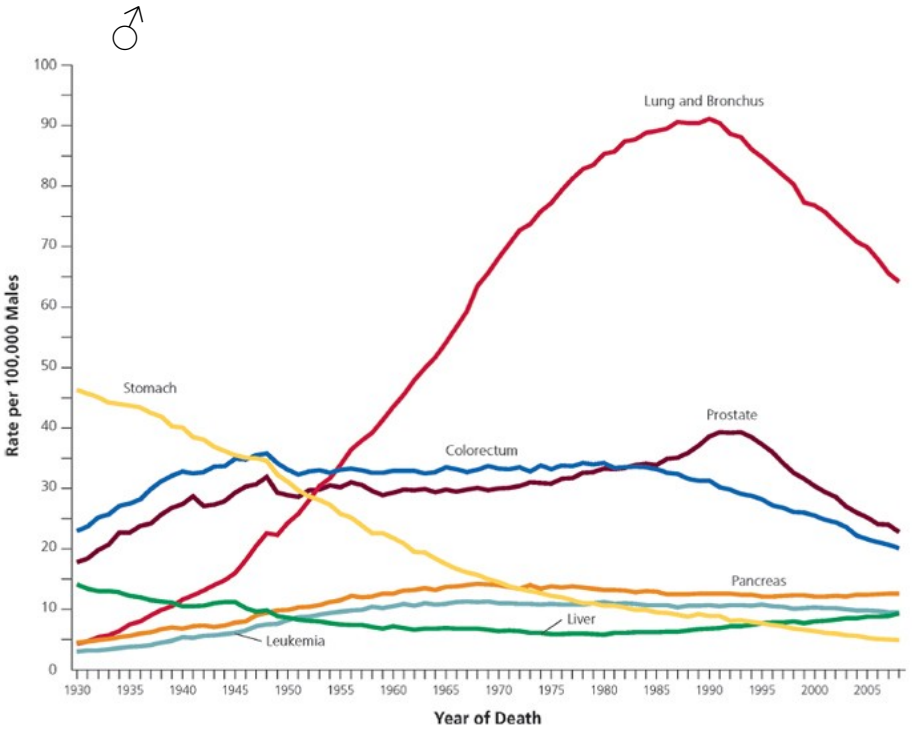
Distribution of Cases and Deaths for the Top 10 Most Common Cancers worldwide in 2020, GLOBOCAN 2020.

Epitel *kryje vnější nebo vnitřní povrchy organizmu a má žlázovou 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.*

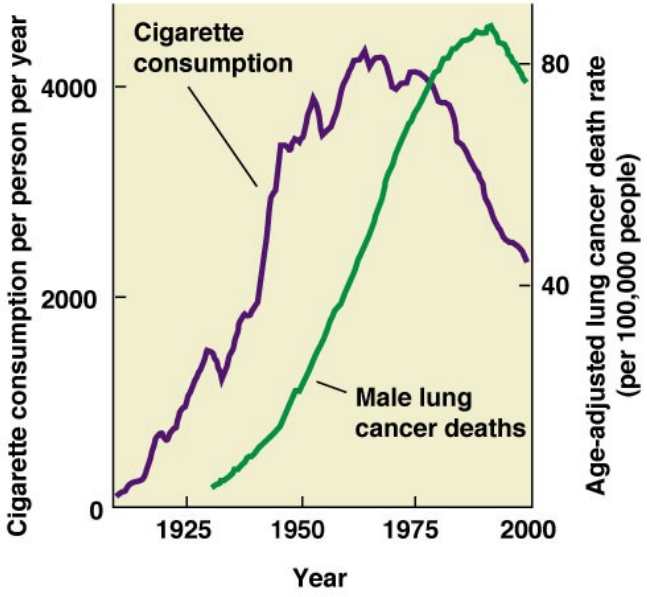
Roční úmrtnost na vybrané typy rakoviny



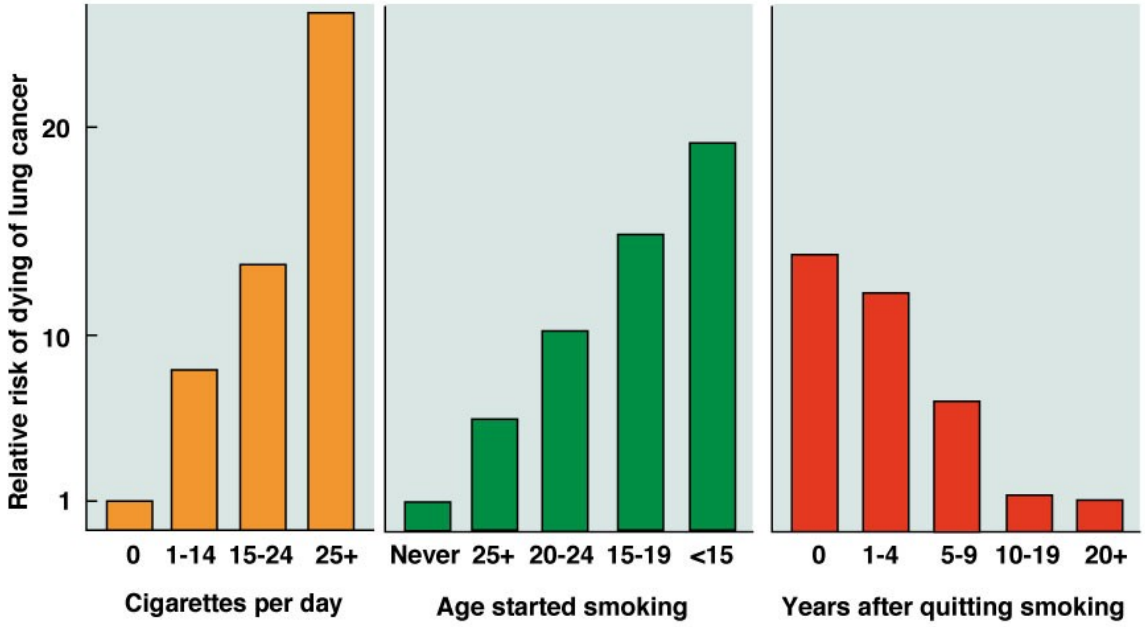


www.clevelandclinicmeded.com

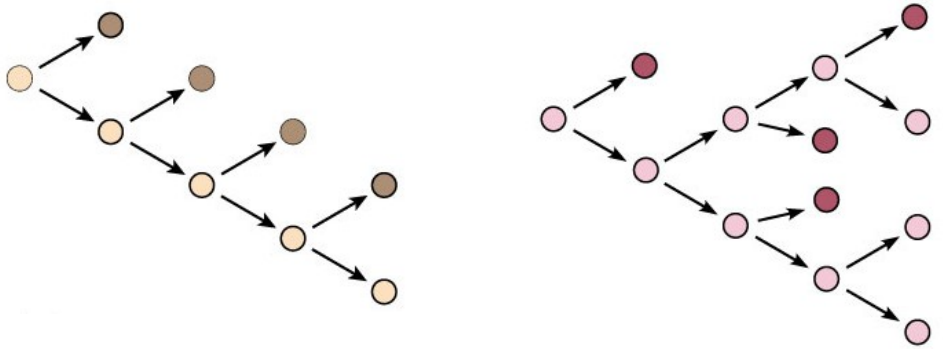
Cigarety a rakovina



© 2012 Pearson Education, Inc.

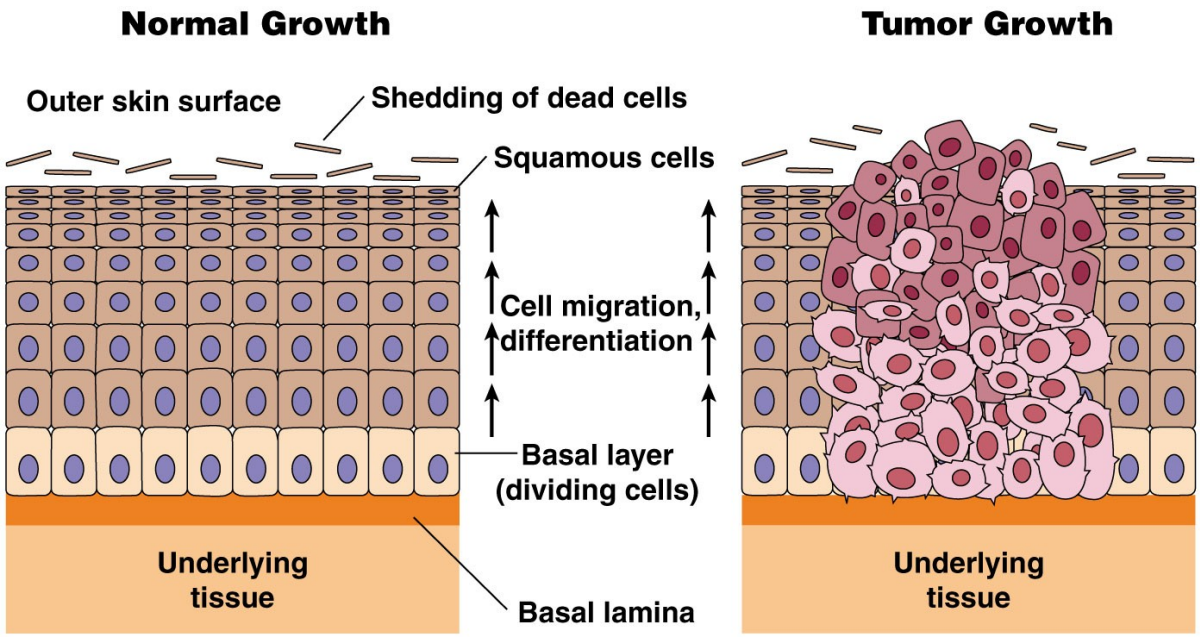


*Tumory vznikají nekontrolovaným dělením při ztrátě rovnováhy mezi **proliferací** a **diferenciací***



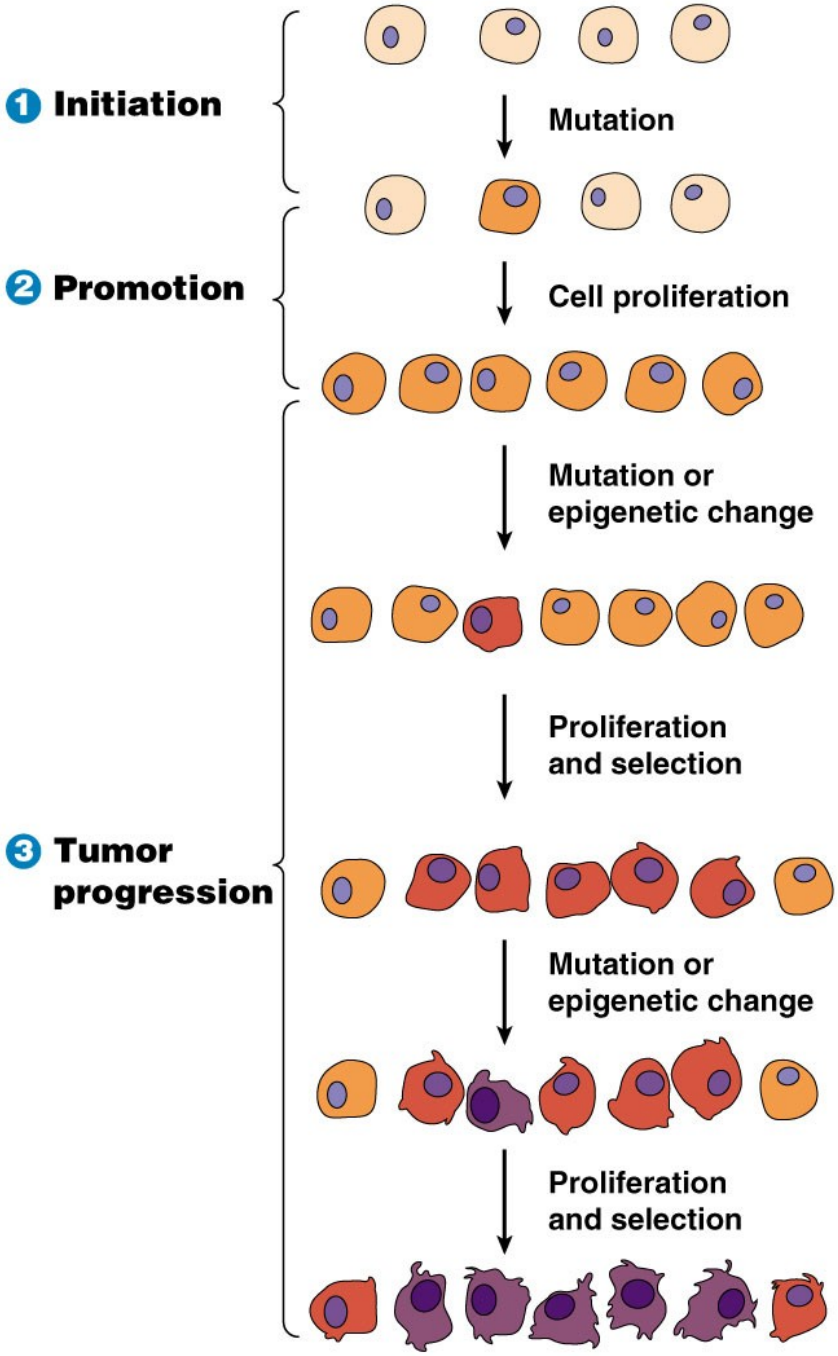
Rakovina kůže

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



© 2012 Pearson Education, Inc.

Stádia rakoviny



© 2012 Pearson Education, Inc.

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

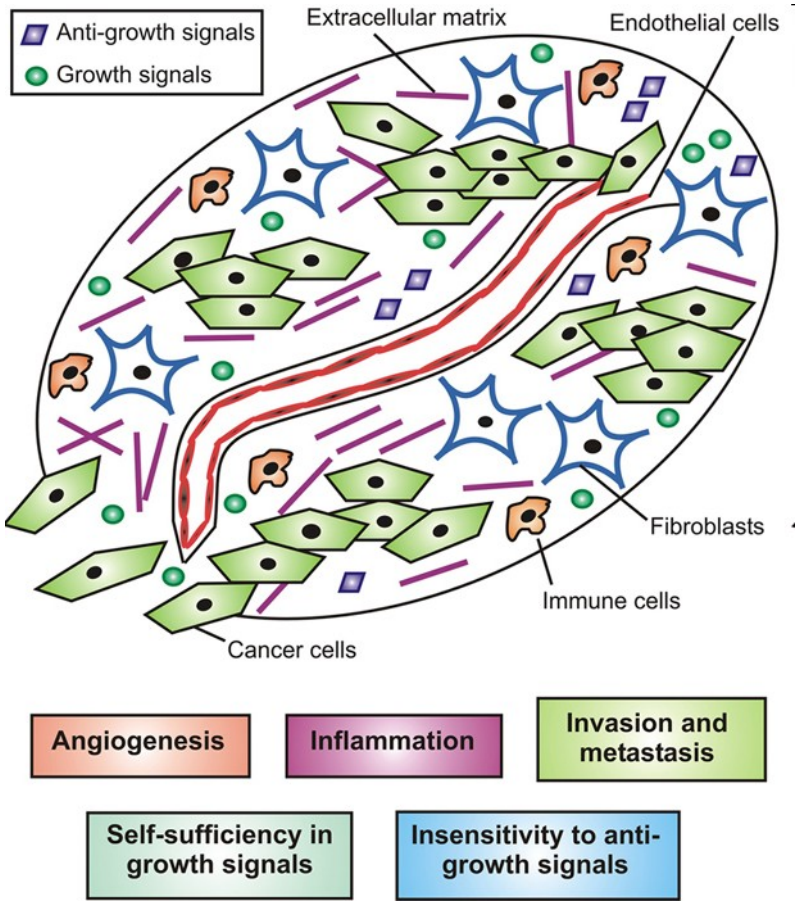
Nádor je komplexní tkáň

1. Nádorové stroma:

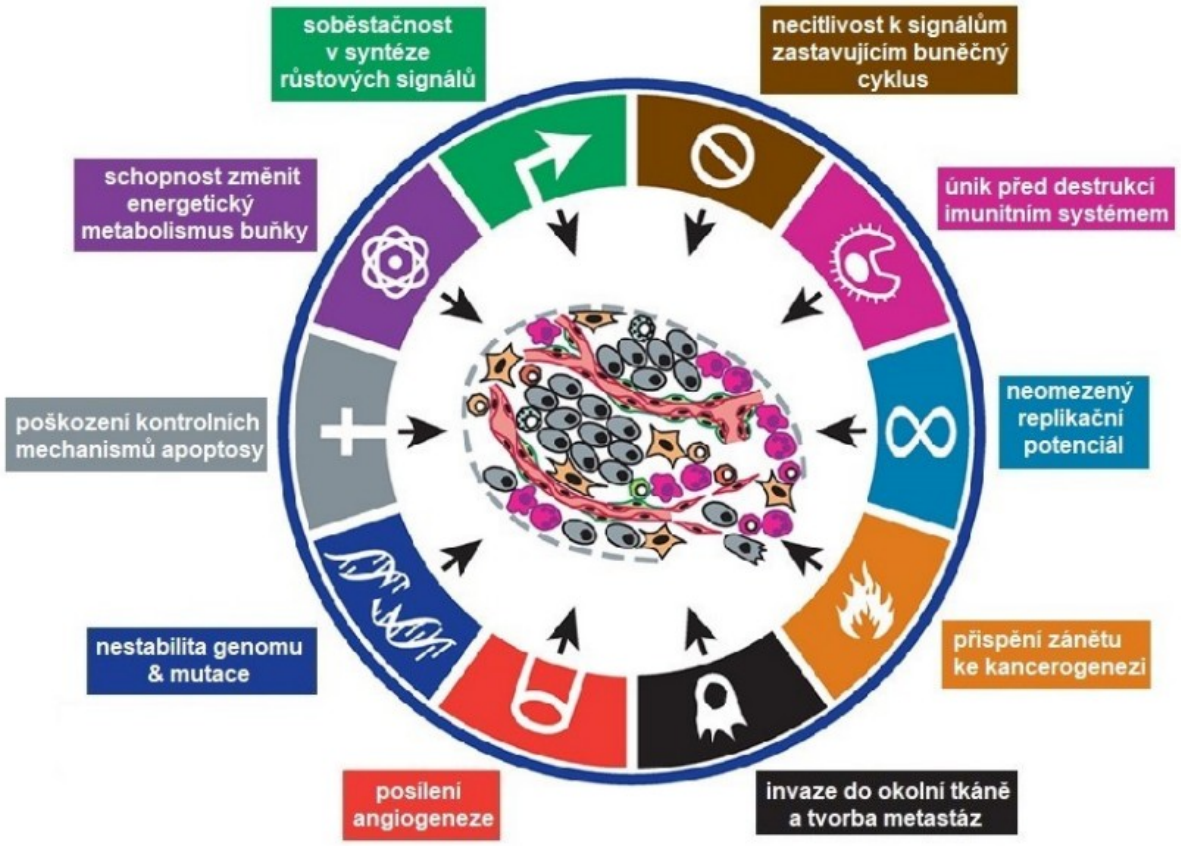
- **<u>Podpůrné buňky</u>** – zejm. **fibroblasty** - udržují tvar, produkují extracelulární matrix.
- Nové **<u>cévní zásobení</u>** (**endoteliální buňky**) - transport živin a kyslíku, možnost invaze a metastází.
- Buňky **<u>imunitního systému</u>** - indukce zánětu.

2. Nádorový parenchym:

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



Obecné vlastnosti nádorové buňky



Byly porušeny překážky buněčné proliferace.

→

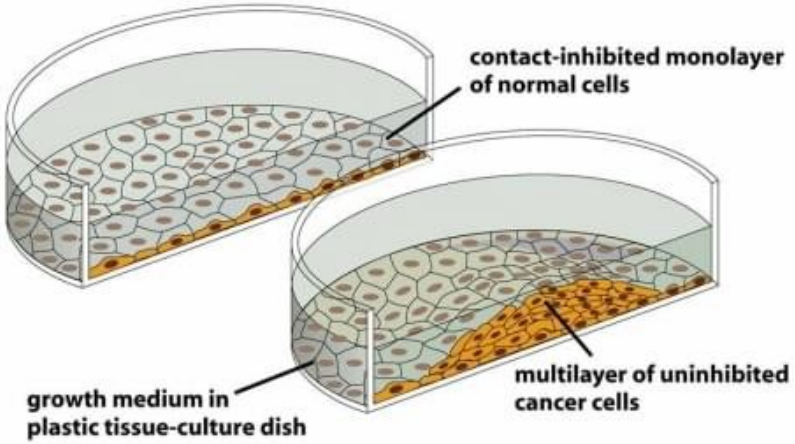
Neomezené dělení buňky a její „nesmrtelnost“.

Hanahan a Weinberg 2011

Speciální vlastnosti nádorové buňky při *in vitro* kultivaci

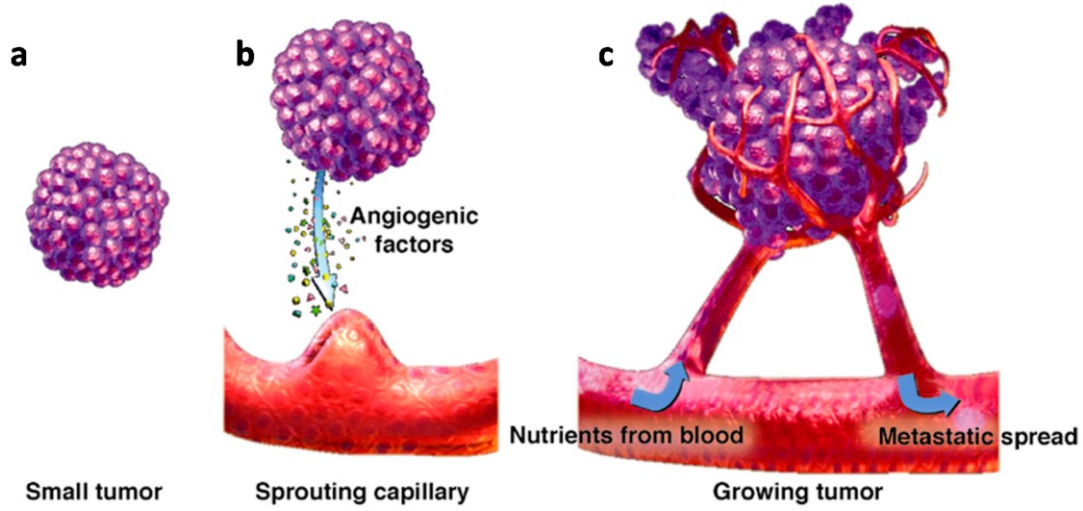
1. Nepotřebují ukotvení
- většina zdravých buněk potřebuje podklad a v kultuře tvoří jednu vrstvu
- rakovinné buňky dokážou růst v suspenzi

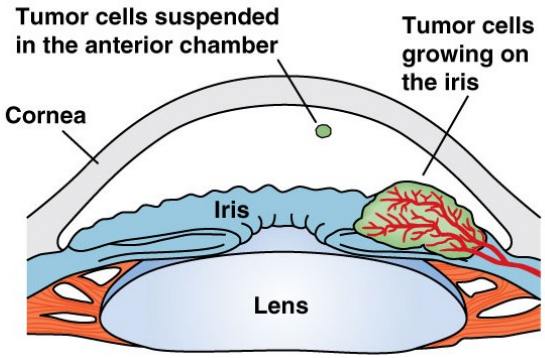
2. Snížená citlivost ke kontaktním signálům (kontaktní inhibice)
- zdravá buňka se přestane dělit, pokud není místo (v kultuře tvoří pouze jednu vrstvu)
- rakovinná buňka se dělí dál a utlačuje okolní tkáň (v kultuře přerůstá do více vrstev, 3D útvary)

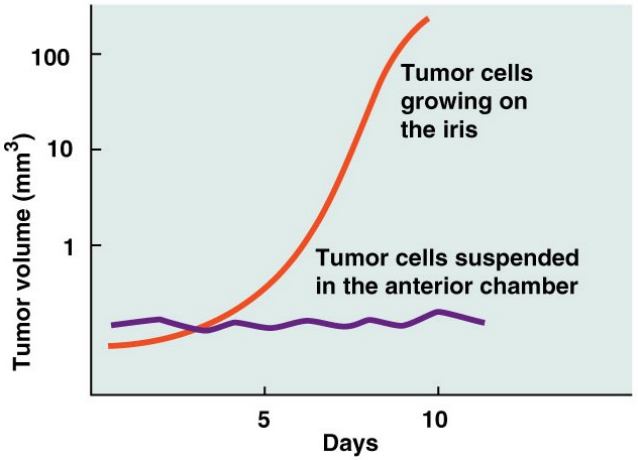


Angiogeneze

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







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

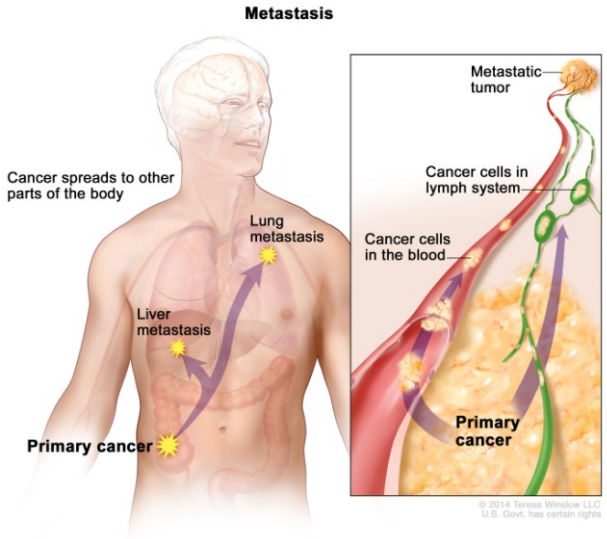
Metastáze a invaze

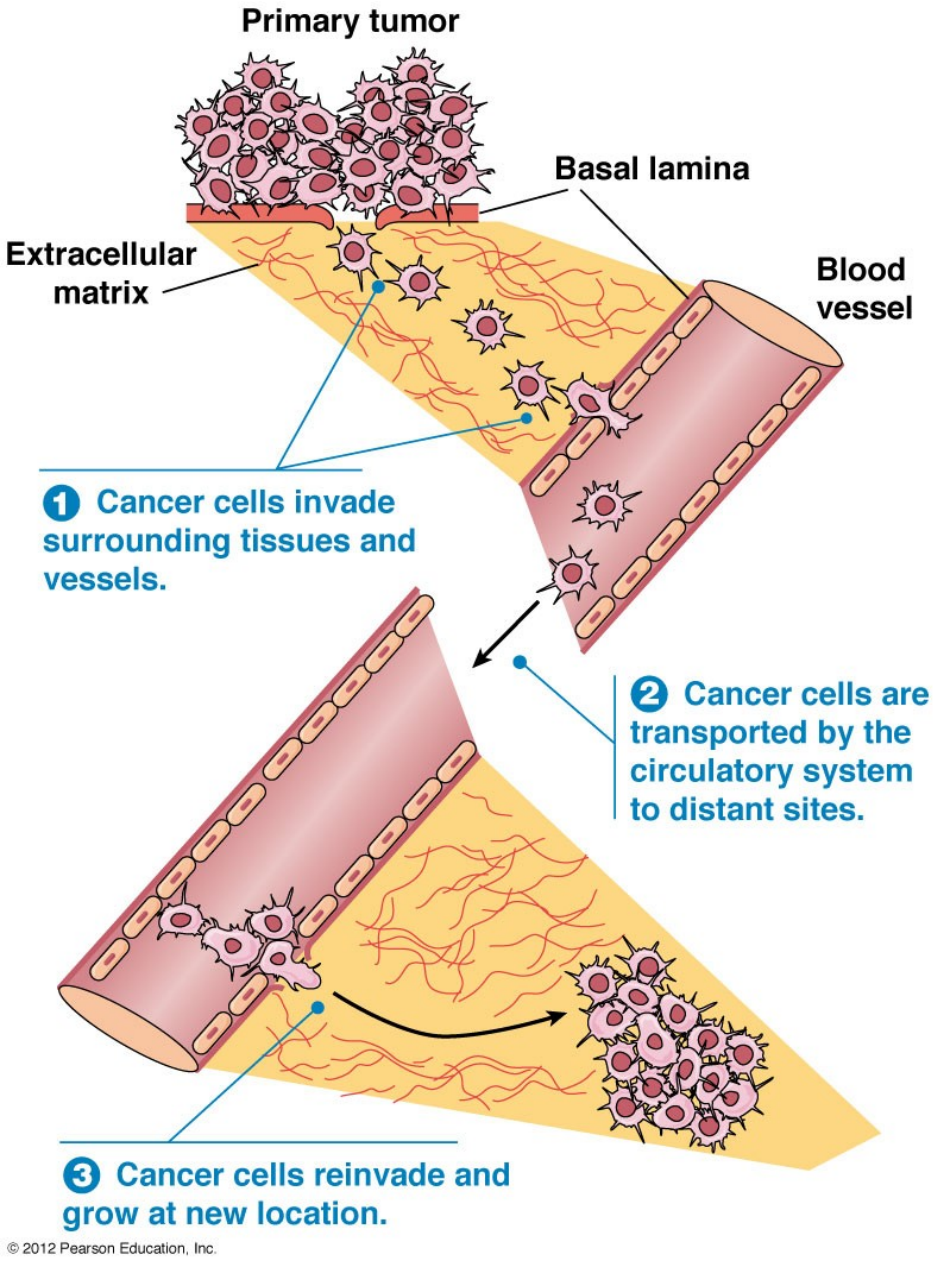
- primární nádory lze odstranit chirurgicky

Invaze
migrace a penetrace rakovinných buněk do sousední tkáně

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

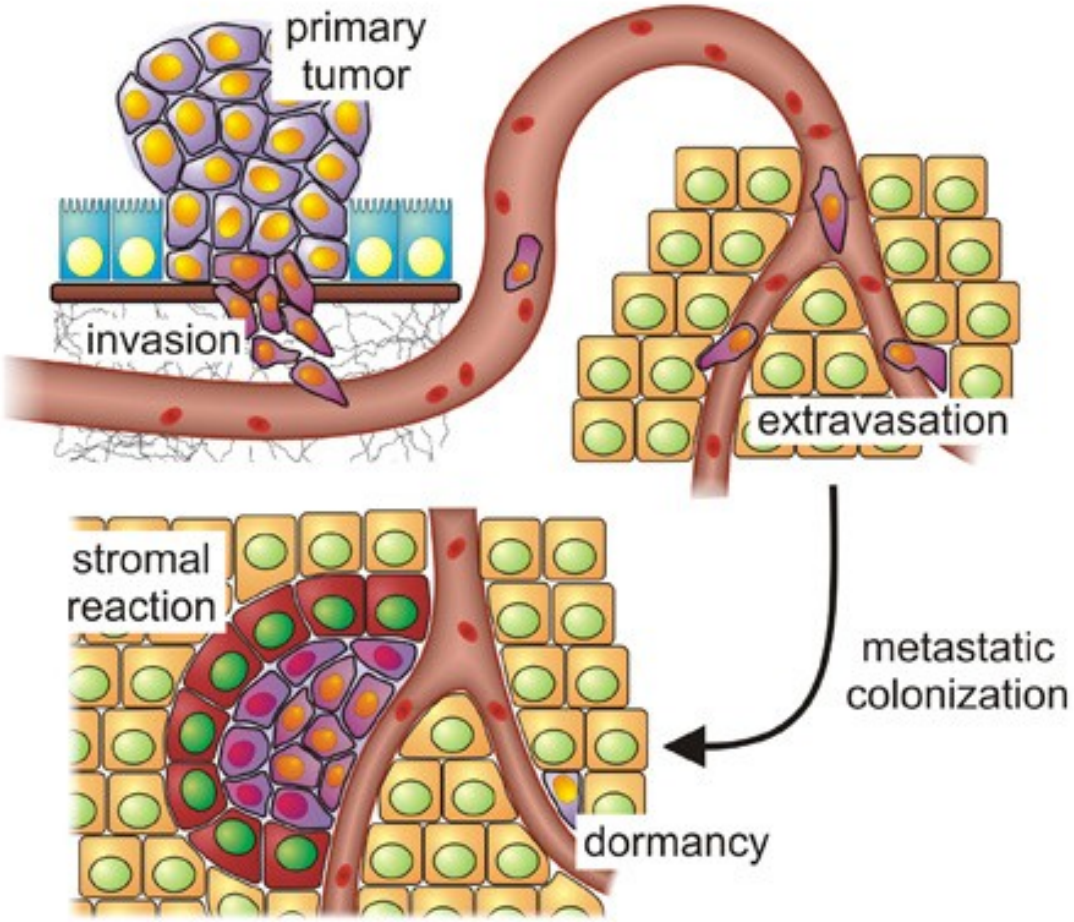
- změny adheze a produkce proteáz, které degradují proteiny bazální laminy





Metastáze a invaze

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

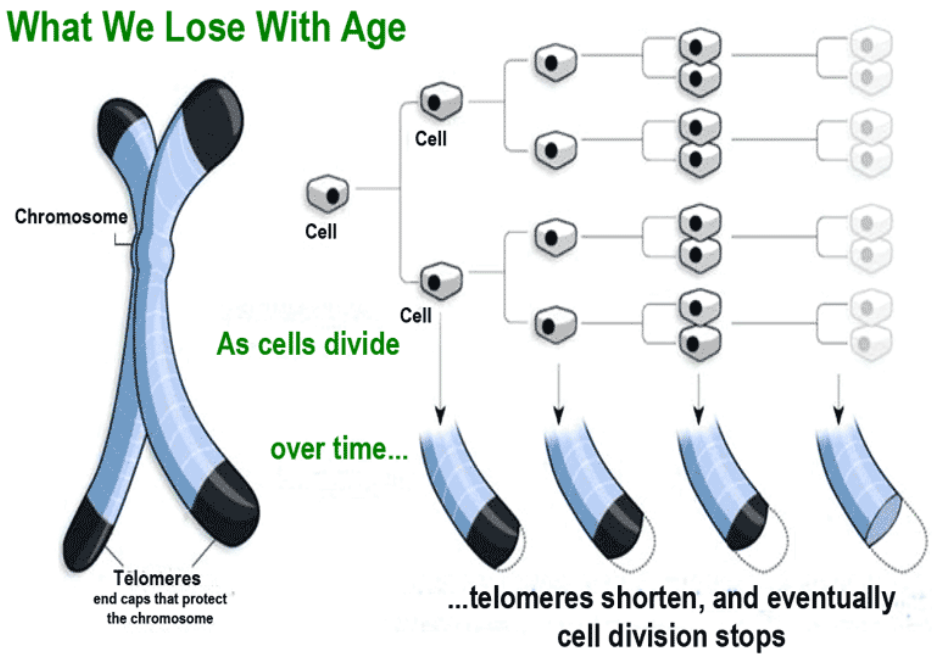


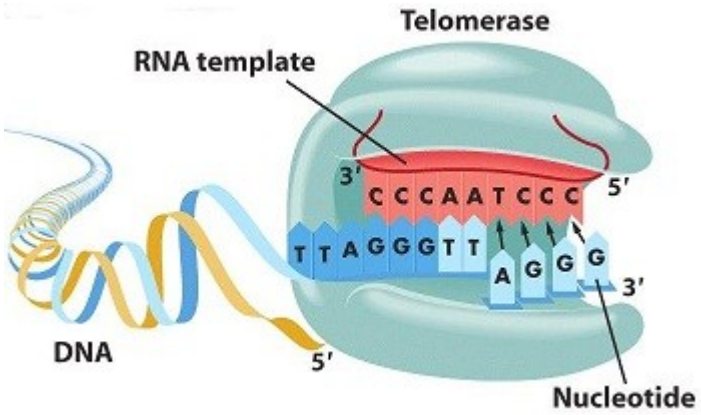
Extravasation *is the movement of cells from the capillaries to the tissues surrounding them*

Neomezený replikační potenciál rakovinných buněk

Telomery
Opakující se sekvence na konci každé chromatidy.
Pro obratlovce: sekvence TTAGGG (opakuje se asi 2500 u lidí).
Při každé replikaci dojde ke zkrácení chromatidy. To může být dorovnáno enzymem telomerázou.

U většiny lidských somatických buněk není telomeráza aktivní.
Aktivní telomeráza je znakem nádorových a kmenových buněk – až 90 %.





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

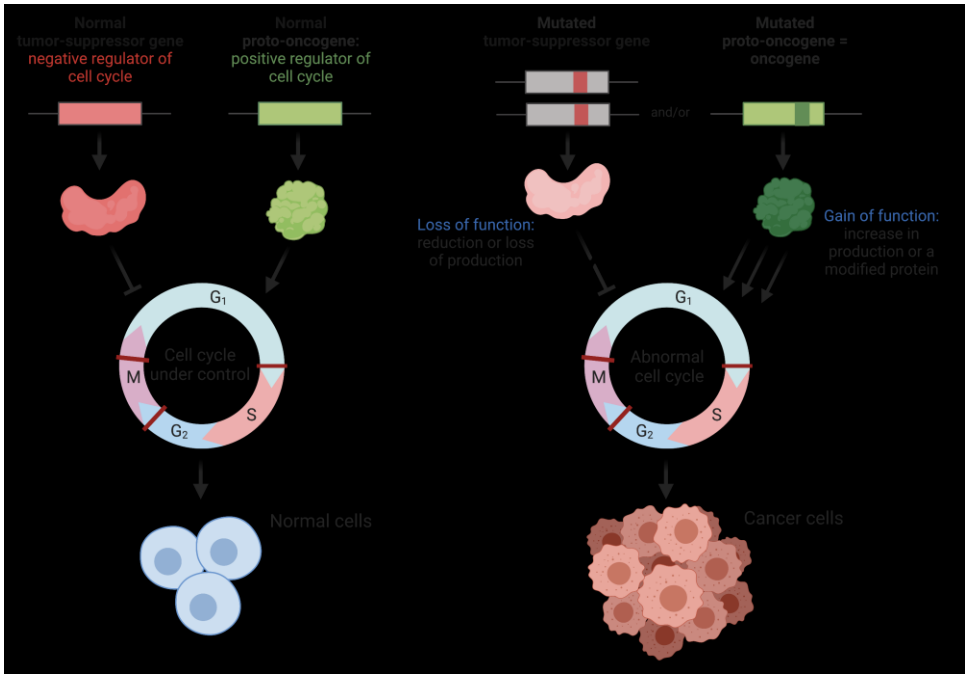
Molekulární podstata rakoviny

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

CELL CYCLE

1. Proto-onkogeny

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



CELL CYCLE

2. Tumor-supresory

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

Proto-onkogeny a nádorové supresorové geny kódují proteiny, které se účastní řízení růstu buněk

1. **Růstové faktory**
- např. PDGF, EGF...

2. **Receptory pro růstové faktory**
- např. PDGFR, EGFR...

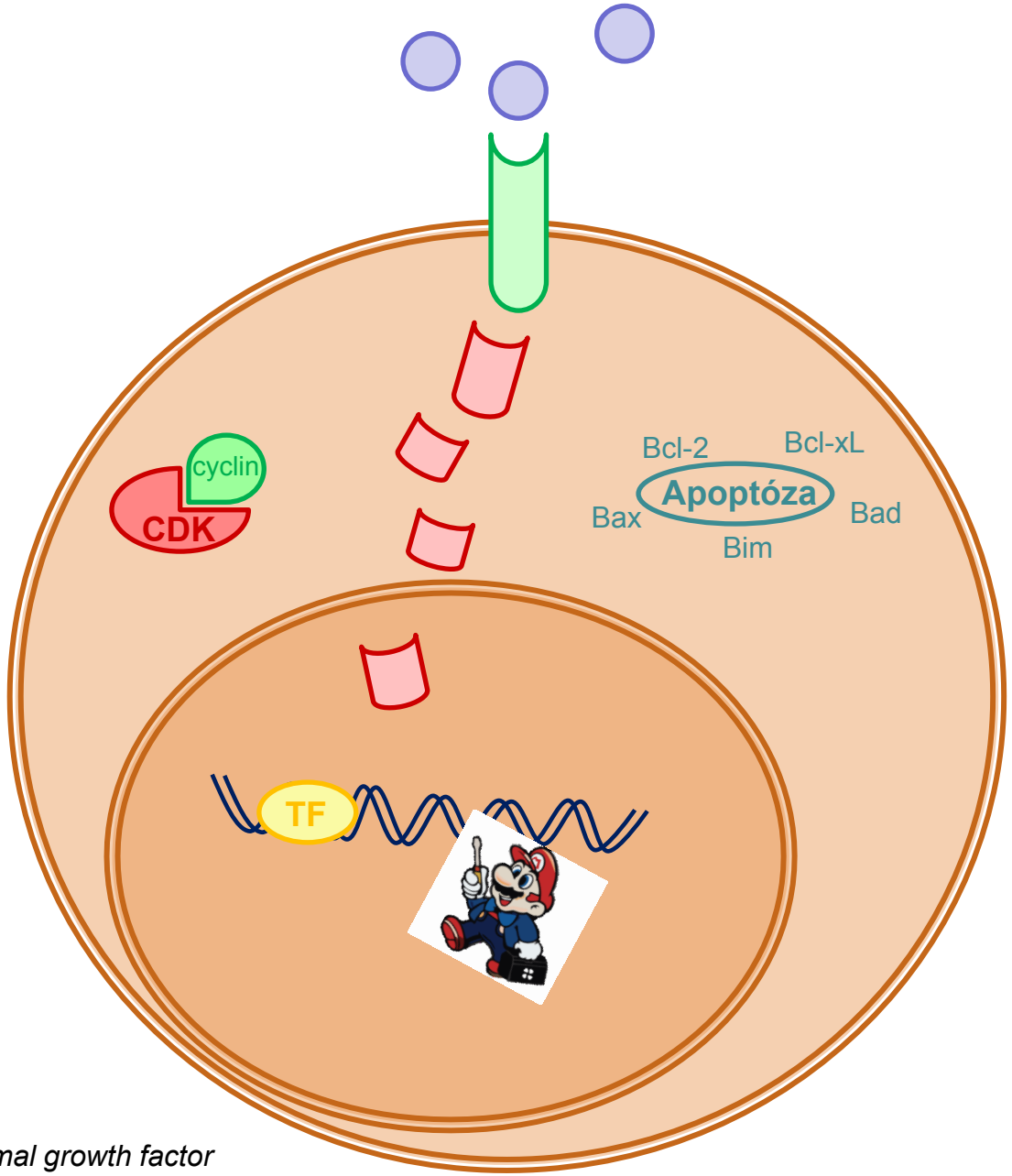
3. **Nitrobuněčné přenašeče**
- např. Ras, Src...

4. **Transkripční faktory**
- např. Myc, Fos...

5. **Regulátory apoptózy**
- např. proteinové rodina Bcl2

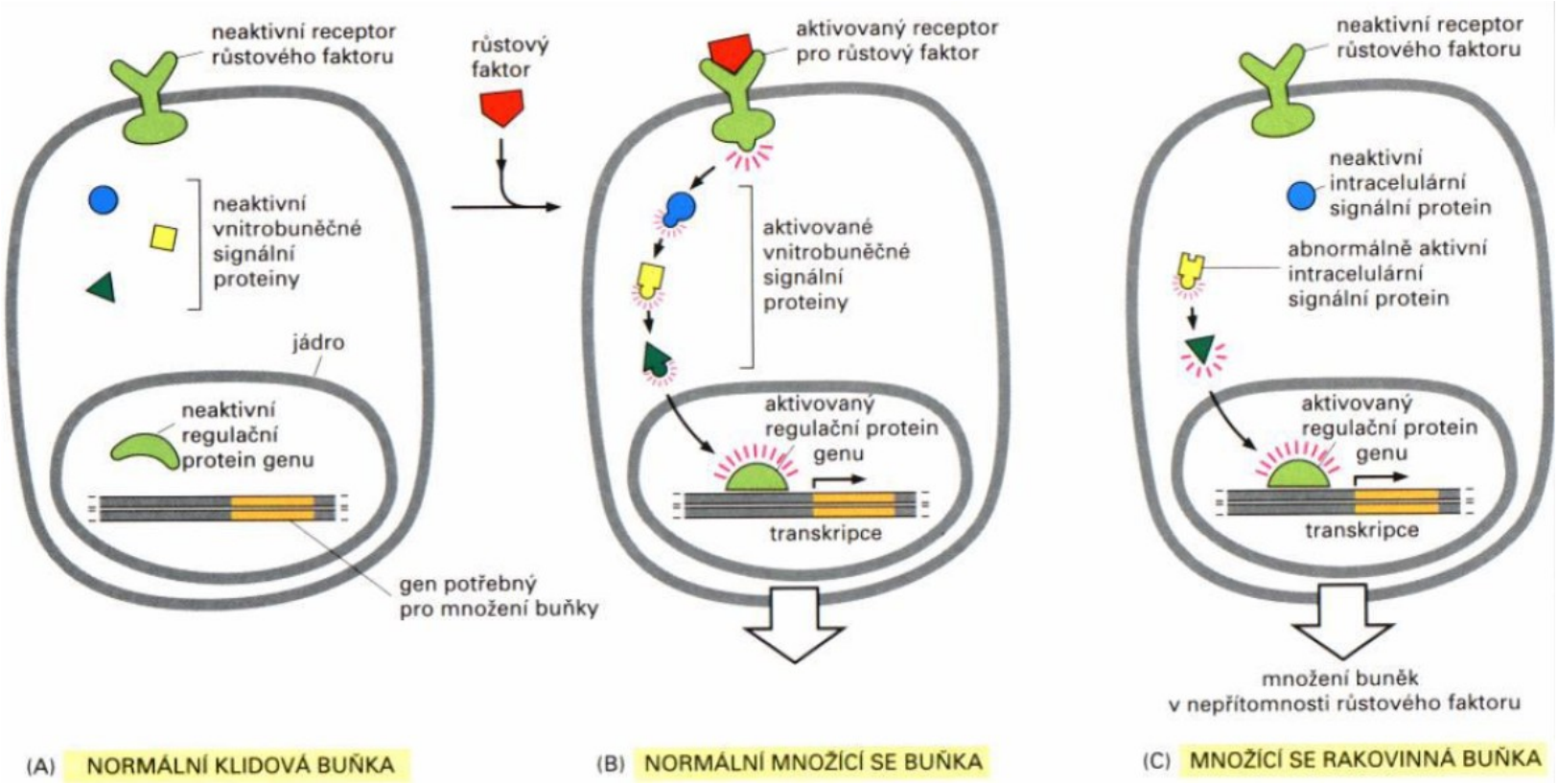
6. **Proteiny řídící buněčný cyklus**
- např. cykliny a cyklin-dependentní kinázy

7. **Proteiny zapojené do oprav DNA**
- např. BRCA, ATM, ATR, γH2AX...



PDGF - Platelet-derived growth factor, EGF - Epidermal growth factor

Patologická aktivace proto-onkogenů



Buněčný cyklus

Interfáze

G1 fáze - období růstu buňky

postup fází G1 je řízen:

a) bodem restrikce (kontrola velikosti buňky, vnější signály)

b) kontrolním bodem sledujícím stav DNA

S fáze – replikace DNA

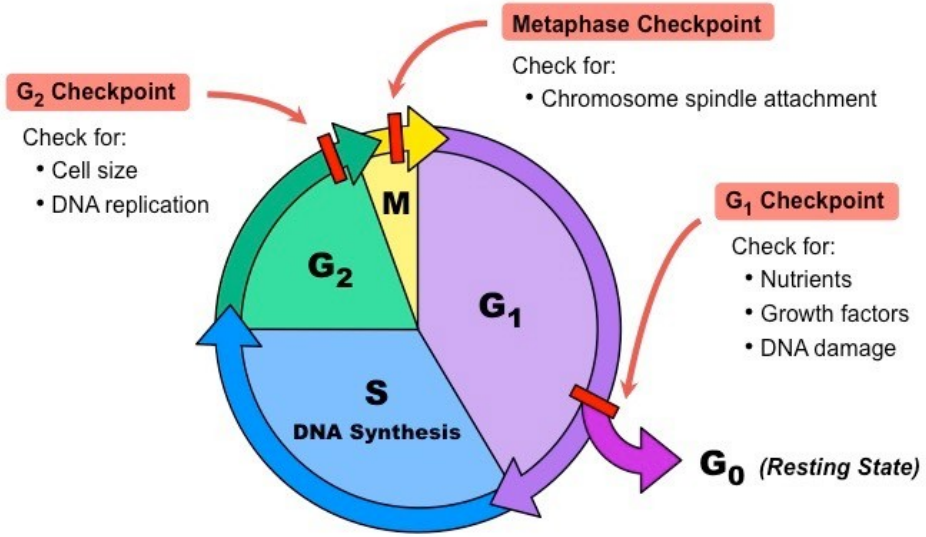
G2 fáze – růst buňky, příprava na mitózu

kontrolní bod G2 sledující poškození DNA - kontrola struktury DNA

Mitóza

M kontrolní bod

- kontrola sestavení mitotického vřeténka



Řízení buněčného cyklu

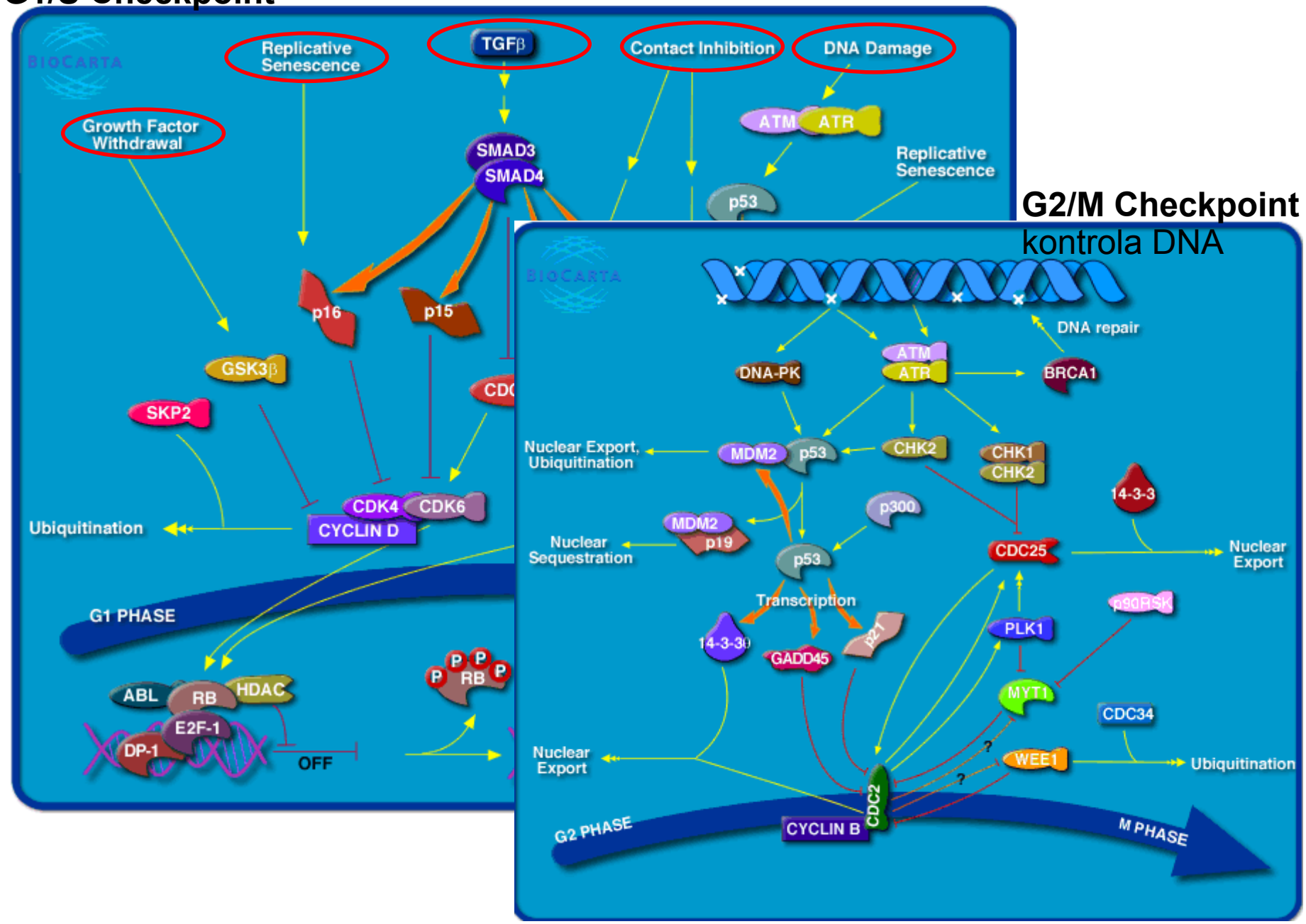
CDK- cykliny
heterodimerní protein kinázové komplexy zajišťující fosforylaci proteinů nezbytných pro průběh buněčného cyklu

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

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

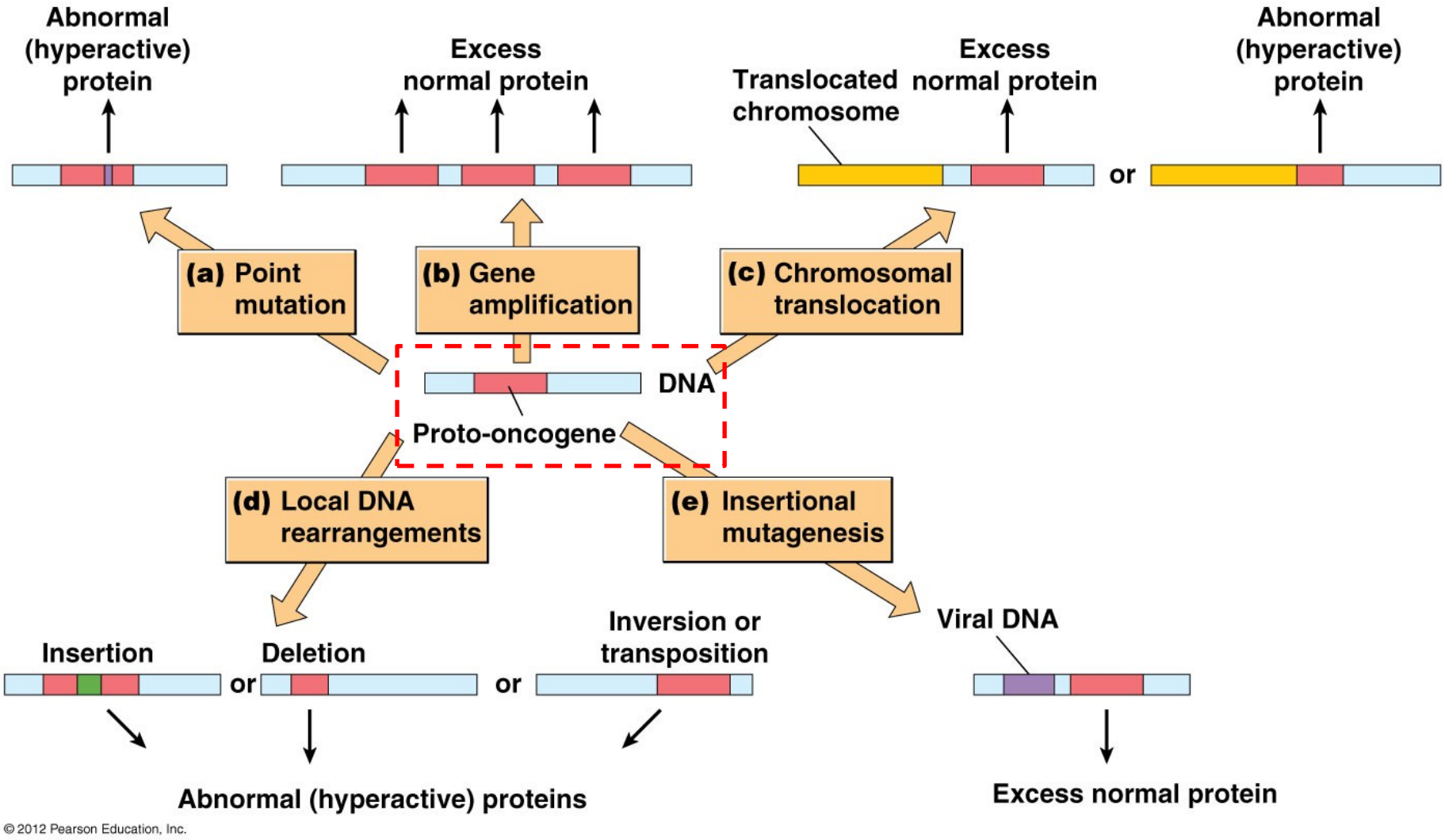
Inhibitory CDK

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



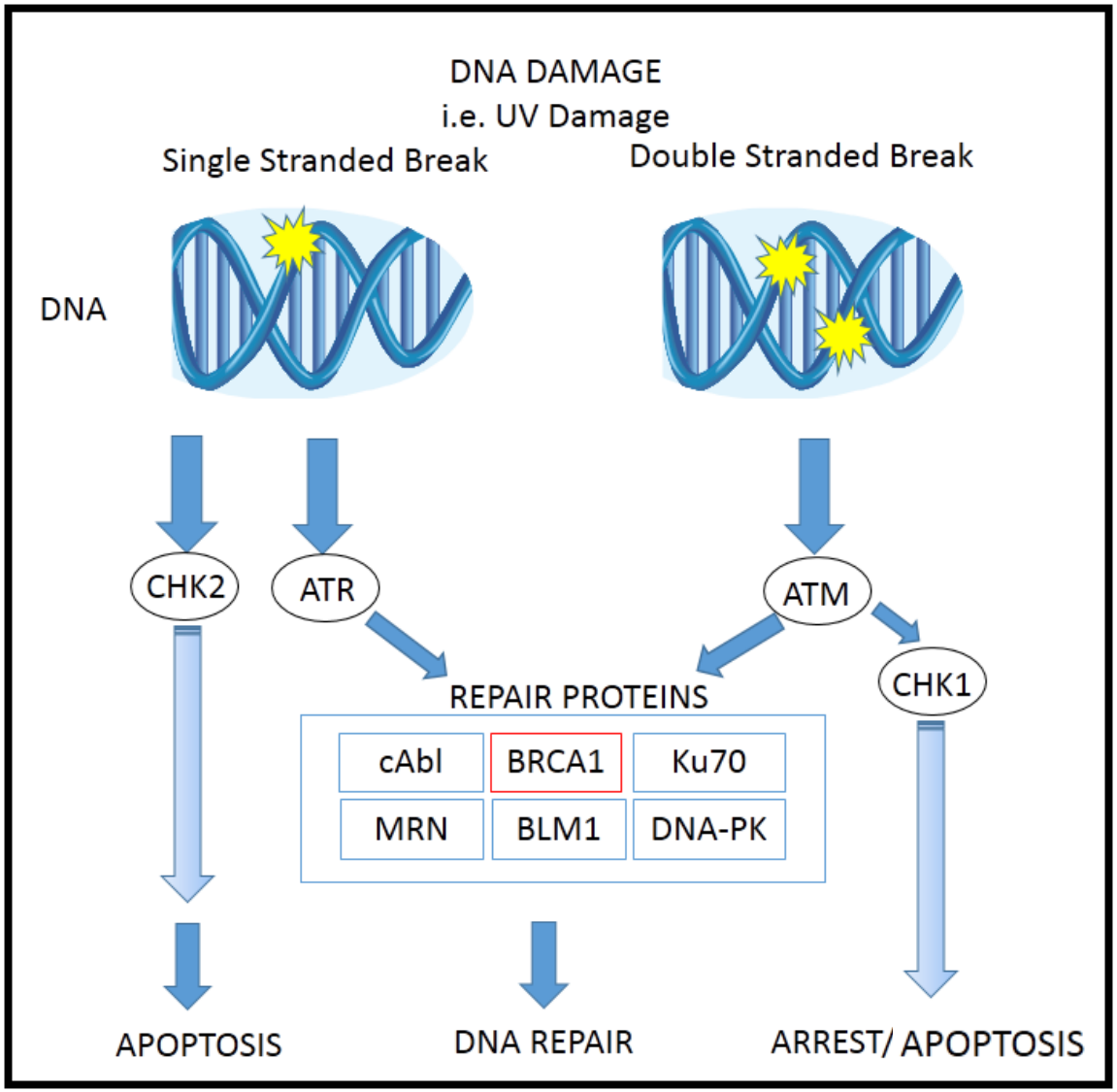
Typy mutací v proto-onkogenu

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



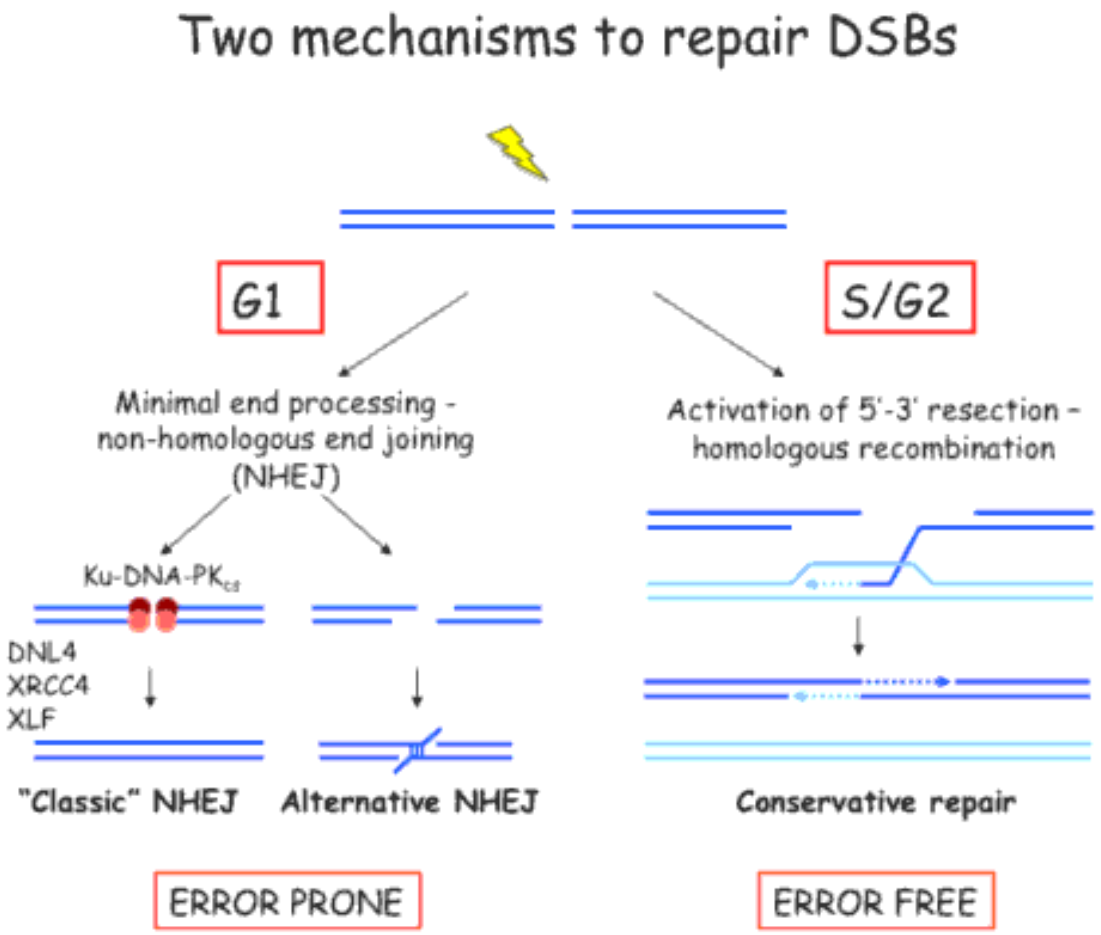
© 2012 Pearson Education, Inc.

Oprava DNA


DNA DAMAGE
i.e. UV Damage
Single Stranded Break
Double Stranded Break
DNA
CHK2
ATR
ATM
CHK1
REPAIR PROTEINS
cAbl
BRCA1
Ku70
MRN
BLM1
DNA-PK
APOPTOSIS
DNA REPAIR
ARREST/ APOPTOSIS

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)



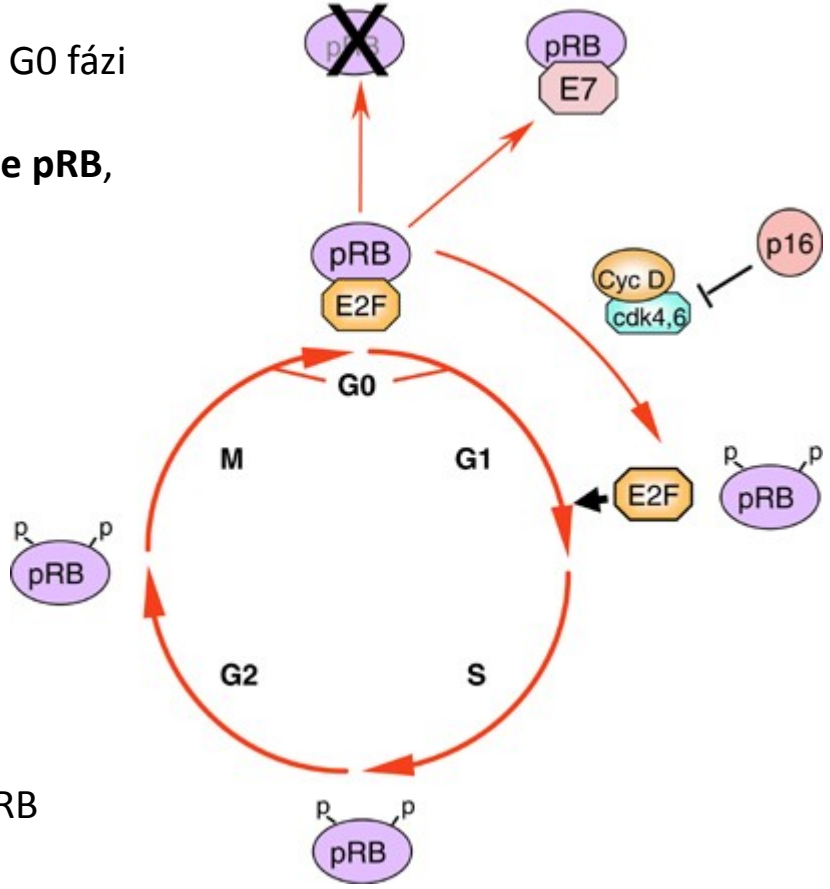
Tumor-supresor RB

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

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

- dokud je **Rb vázán na E2F**, buňka zůstává v časné G1 nebo G0 fázi

- v proliferujících buňkách komplex **CycD+CDK4,6 fosforyluje pRB**, čímž uvolňuje E2F → vstup do S-fáze



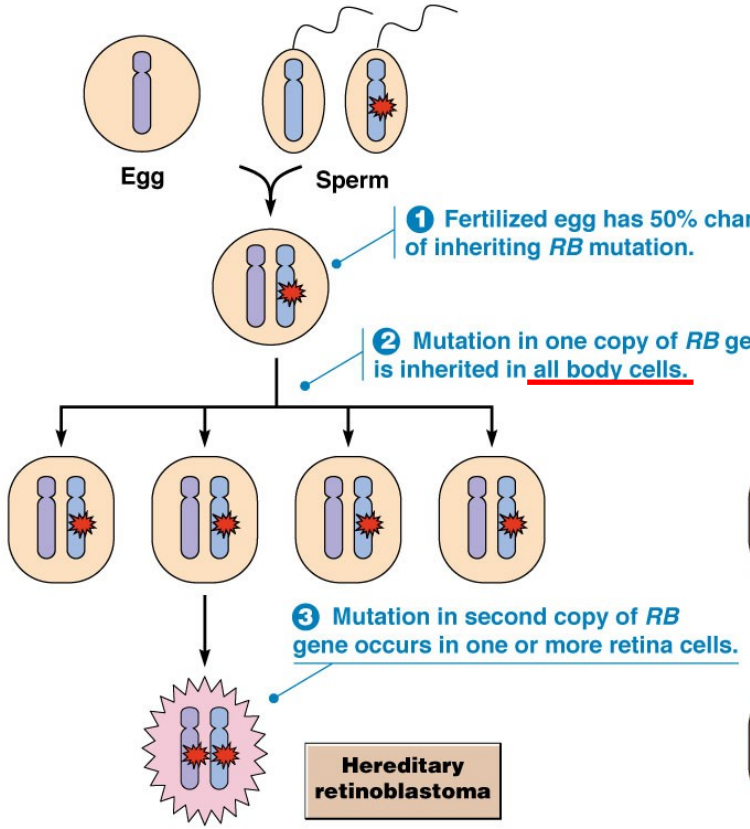
V nádorových buňkách pRB často nefunguje a E2F je stále volný → neregulovaná proliferace

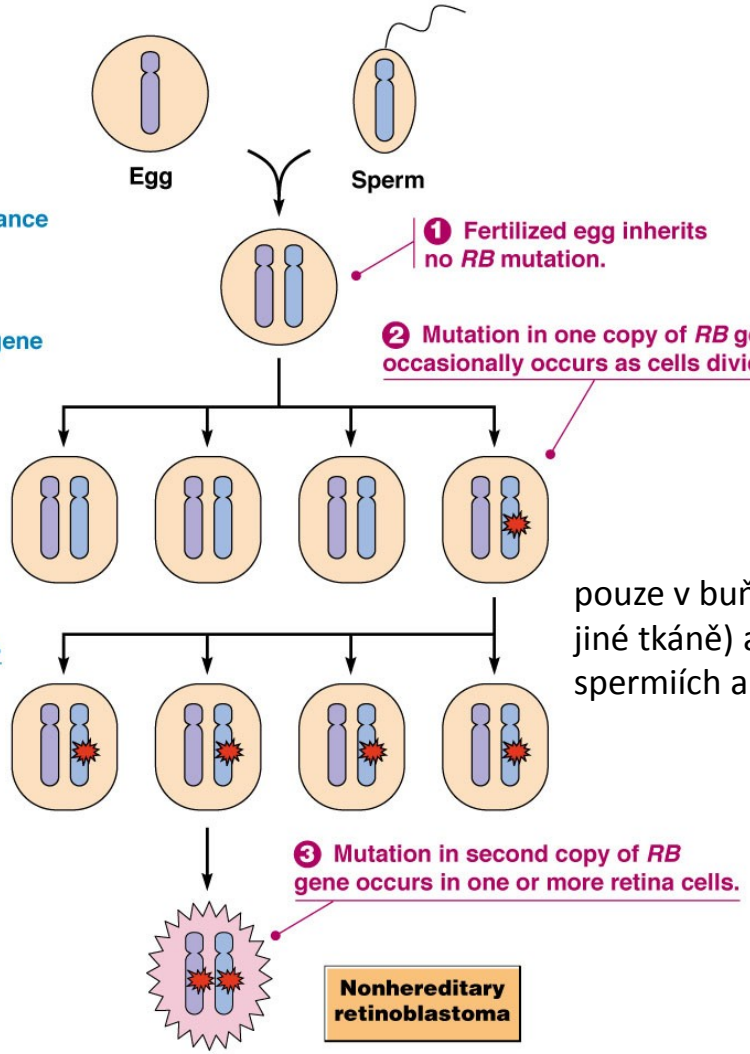
a) **mutace v RB** genu - neváže se na E2F
b) **virový protein E7** vyvazuje pRB
c) **overexprese cyklinu** D nebo CDK 4,6 nebo **ztráta** inhibičního **p16** → nadměrná fosforylace RB

Proteiny rodiny E2F aktivují cílové geny nutné pro G1/S přechod

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





pouze v buňkách oka (či jiné tkáně) a ne ve spermiích a vajíčcích

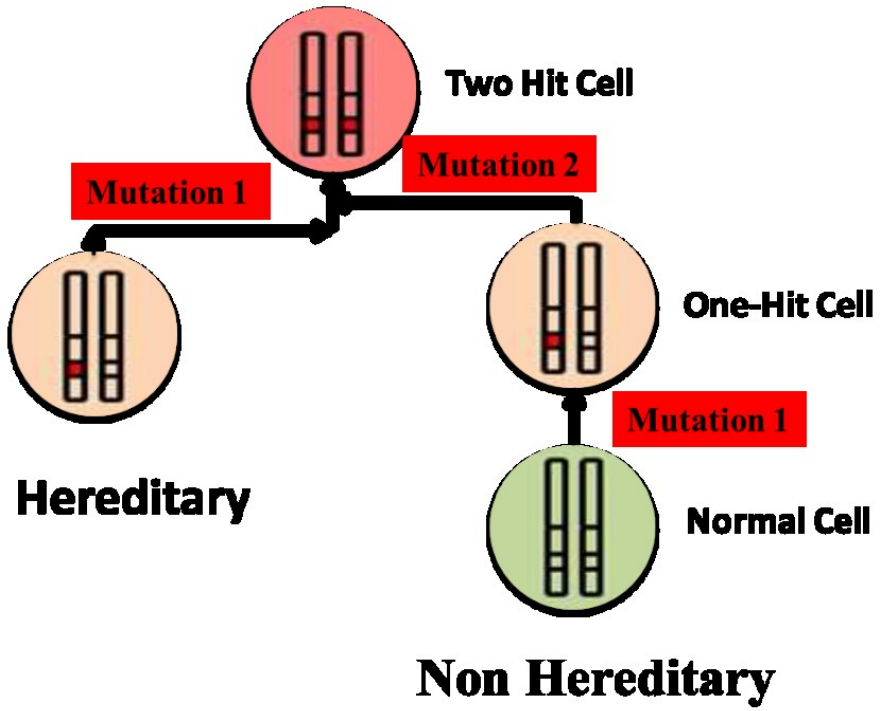
Pro vznik nádoru v oku je potřeba mutace v obou alelách - často u dětí (two-hit model)

© 2012 Pearson Education, Inc.

Two-hit model

Pro vznik retinoblastomu je potřeba dvou genetických změn

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



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

Tumor-supresor p53

The guardian of the genome

- p53 indukuje transkripci p21, který se váže na CDK2 - inhibuje přechod do S fáze

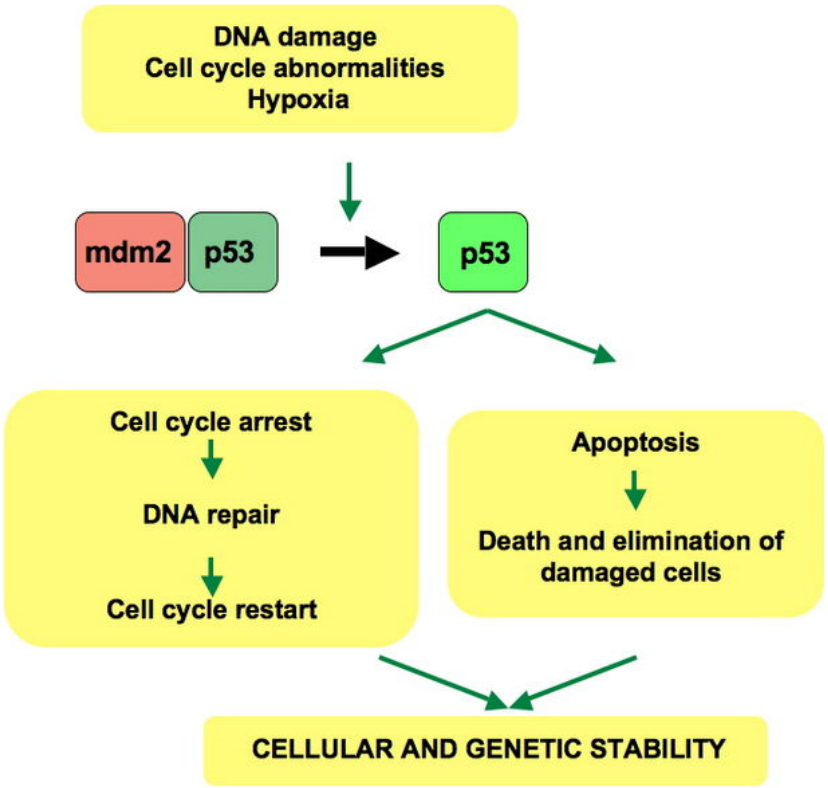
- vazba s Mdm2 inhibuje jeho aktivitu

- HATs (např. p300/CBP, PCAF) mohou v odpovědi na stres acetylovat p53 → zvýšení aktivity

- HDAC1, 2 a 3 mohou snížit aktivitu p53 deacetylací

- 50 % nádorů má mutaci nebo deleci p53

- mutace p53 znamená většinou negativnější prognózu u nádorového onemocnění



HDAC - Histon deacetylázy *potlačují expresi* *HDAC1, HDAC2...*

HAT - Histon acetyl transferázy *aktivují expresi* *Gcn5, p300/CBP, PCAF, SRC-1, ACTR, ESA1, MOZ...*

Tumor-supresor p53

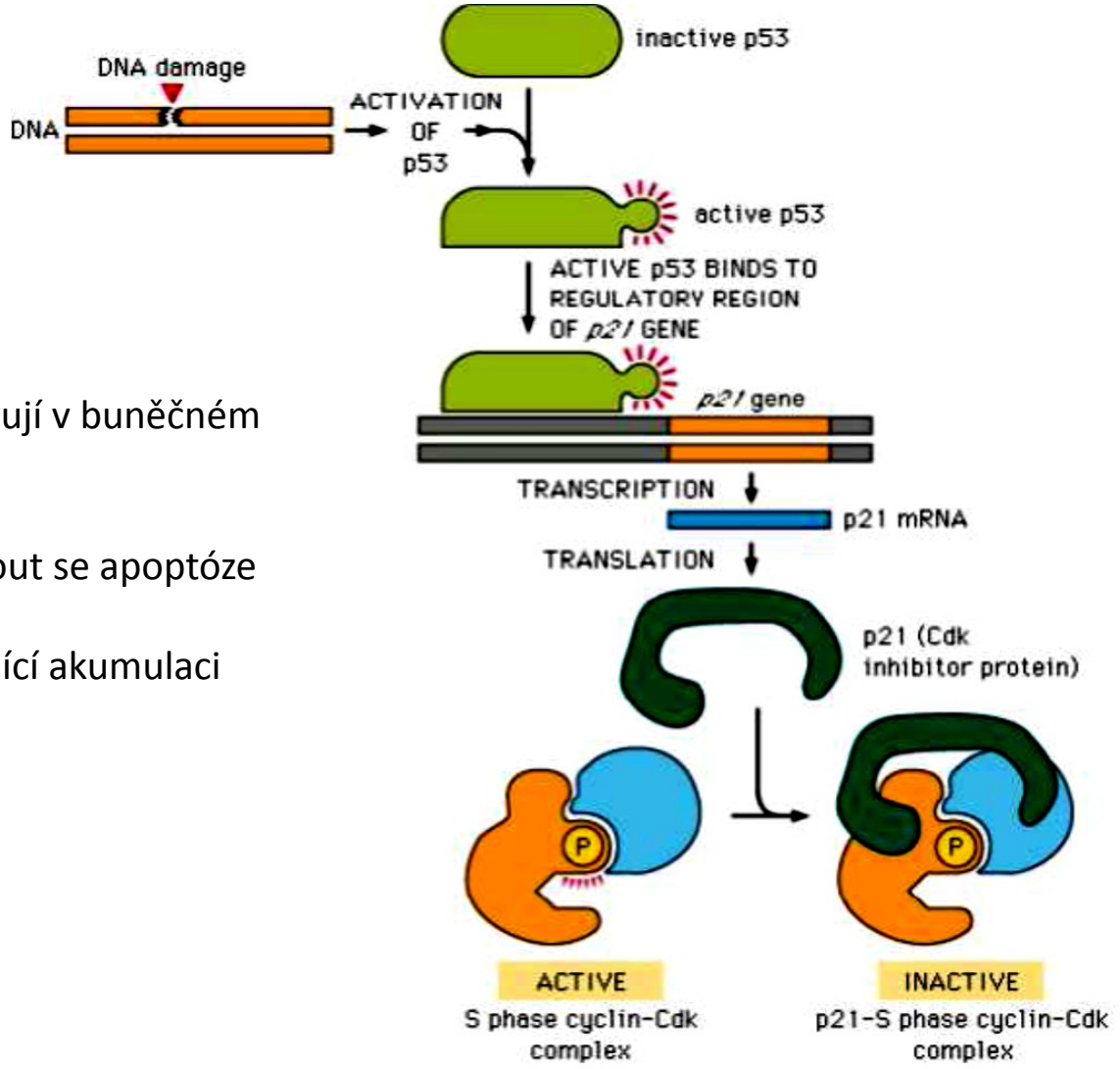
brzda vstupu do S-fáze zástava BC v G1 fázi umožnuje přestávku nutnou k opravám DNA

Mutace p53

1) poškozené mutované buňky pokračují v buněčném cyklu

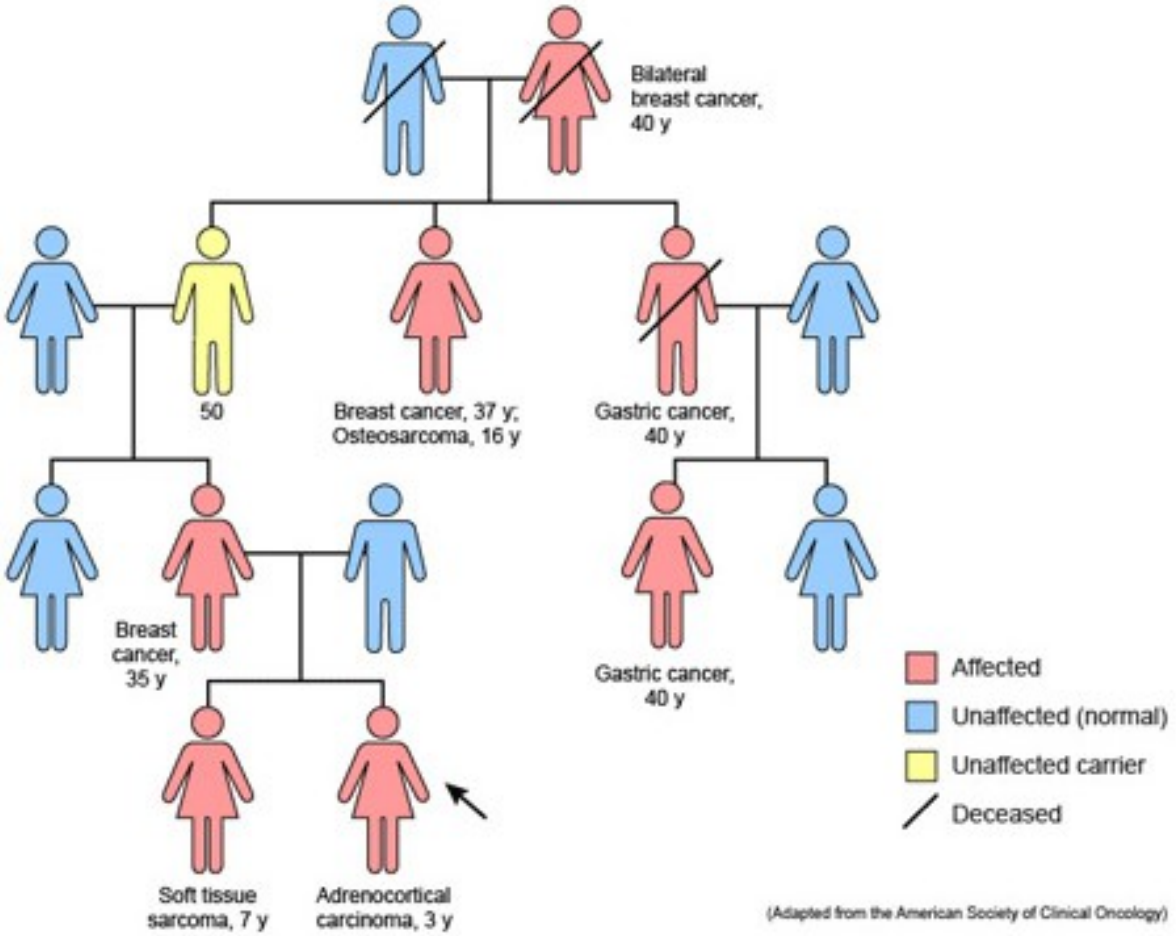
2) umožní poškozeným buňkám vyhnout se apoptóze

3) vznik genetické nestability umožňující akumulaci dalších mutací



Li-Fraumeni syndrom

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



Koordinace tumor-supresorů RB a p53

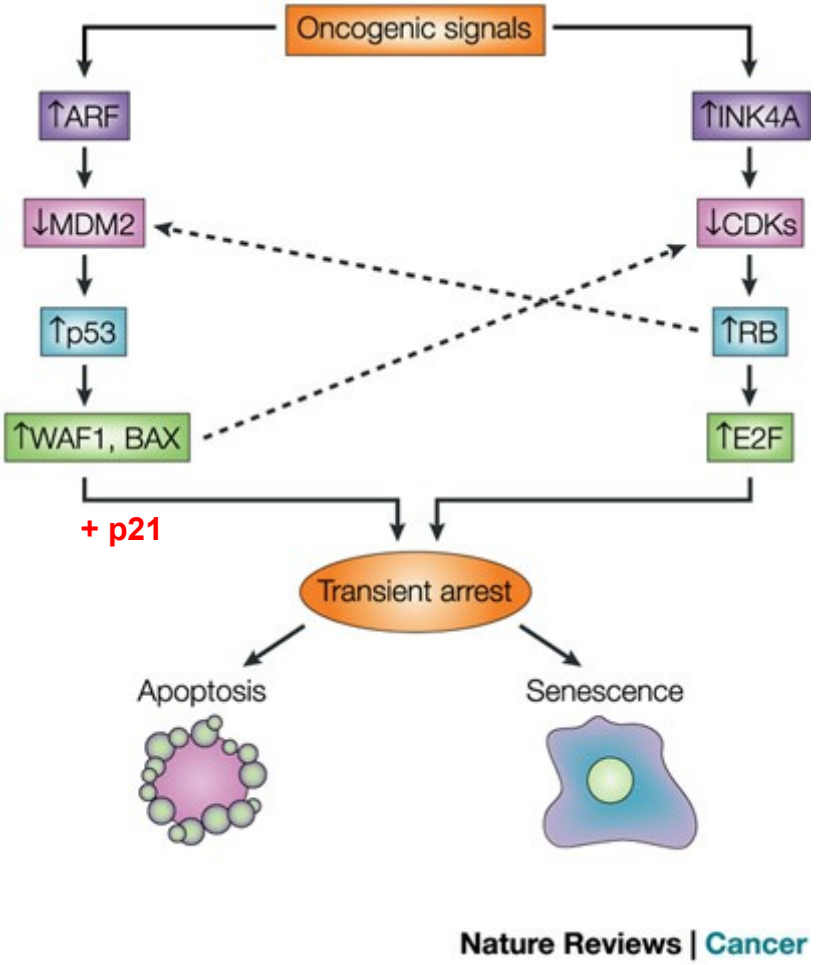
- dvě hlavní dráhy zajišťující buněčnou odpověď na potenciální onkogenní stimuly

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

1. dráha p53
Indukce ARF, které oddělí MDM2 od p53
- aktivní p53 reguluje řadu genů, mj.:
  - WAF1 → inhibice CDK → cell-cycle arrest
  - BAX → indukce apoptózy
  - p21 → inhibice CDK

2. dráha RB
Indukce INK4A → inhibice CDK (4,6) →
inhibice fosforylace RB → komplex RB+E2F zastavuje cyklu

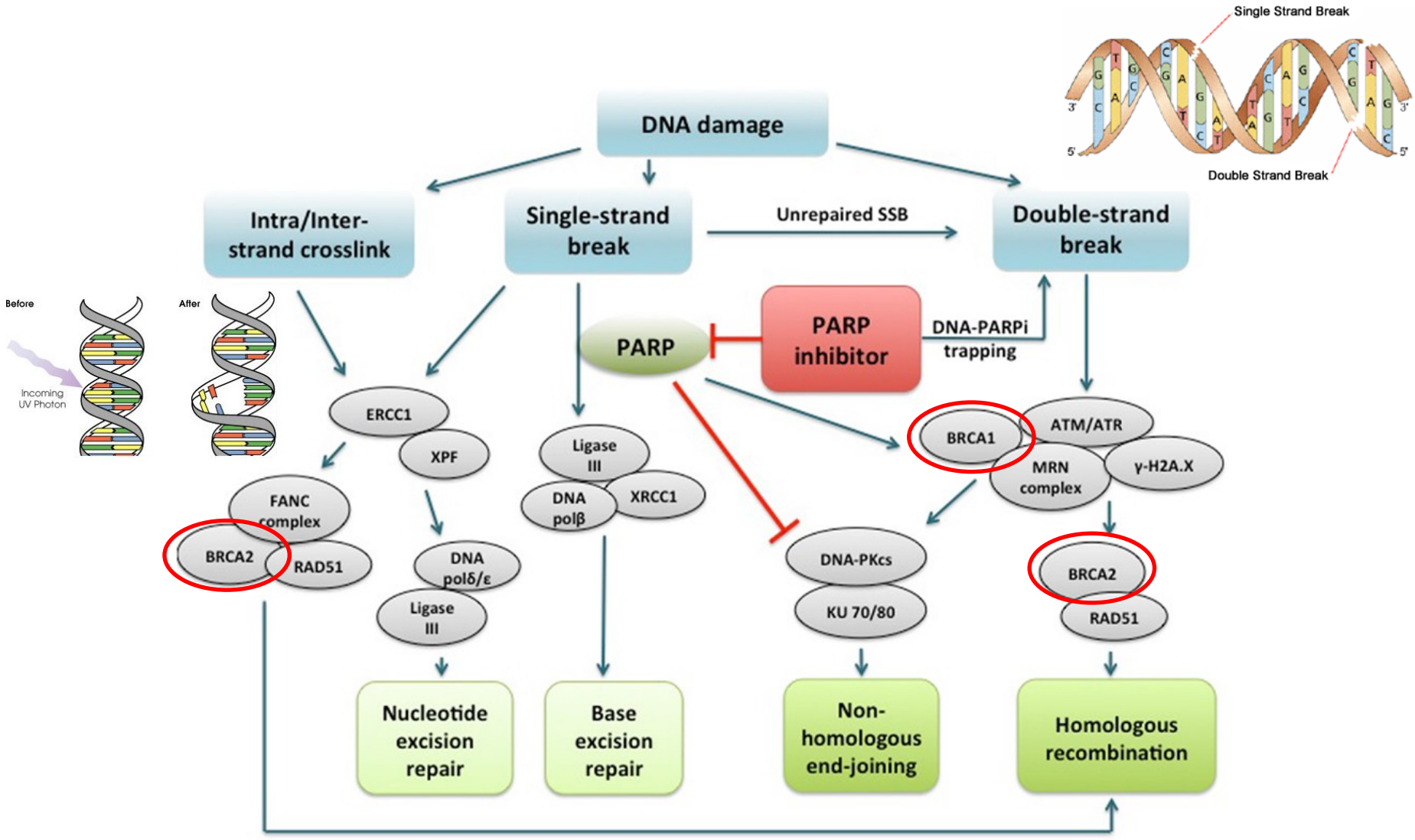
RB se též může vázat na MDM2-p53 a regulovat
aktivitu p53



Tumor-supresory BRCA1 a BRCA2

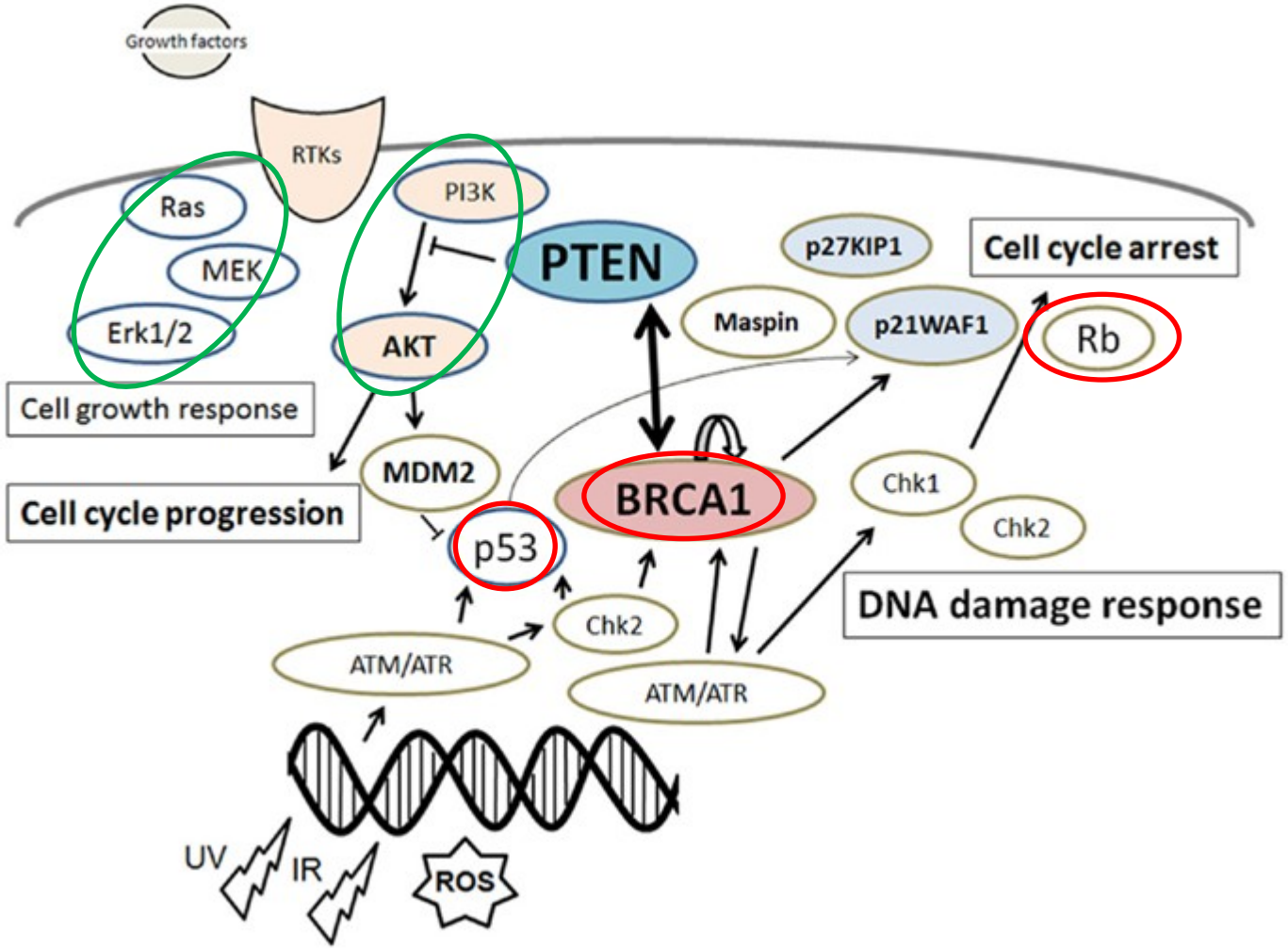
BReast CAncer 1 a 2 geny

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



Tumor-supresory BRCA1 a BRCA2

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



Proto-onkogeny a tumor-supresory

postupná přeměna zdravé buňky tlustého střeva v nádorovou

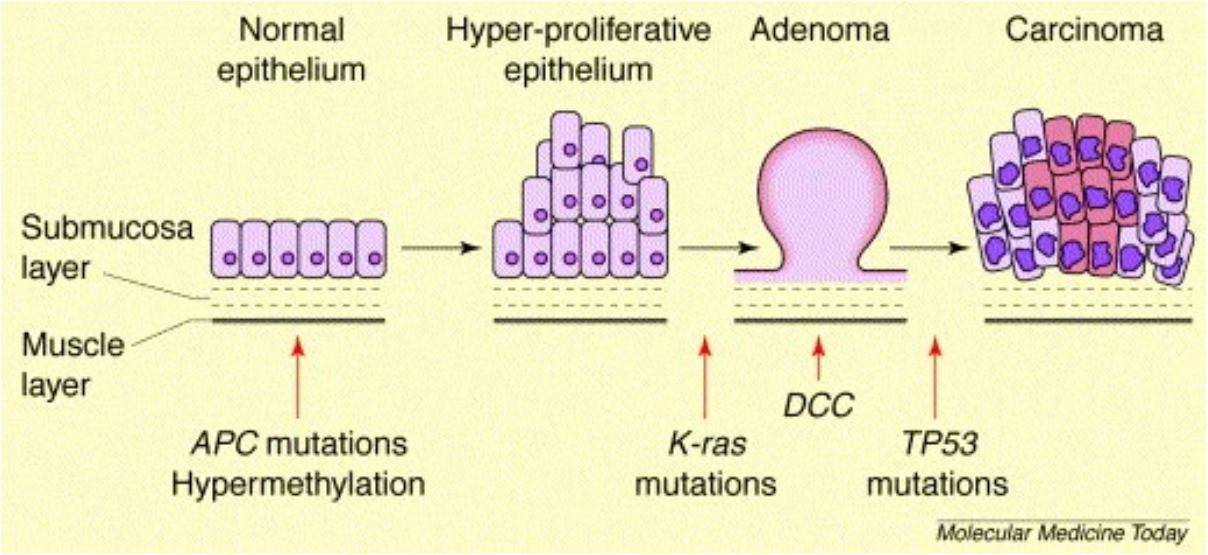
1. Ztráta nádorového supresoru **APC** → stabilizace **β-kateninu** → tvorba polypu

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 (Adenomatous polyposis coli) je negativní regulátor β-kateninu, je součástí Wnt signální dráhy

Proto-onkogeny - receptory pro růstové faktory (GFR)

1. Konstitutivní aktivita
- vykazují kinázovou aktivitu i bez přítomnosti ligandu

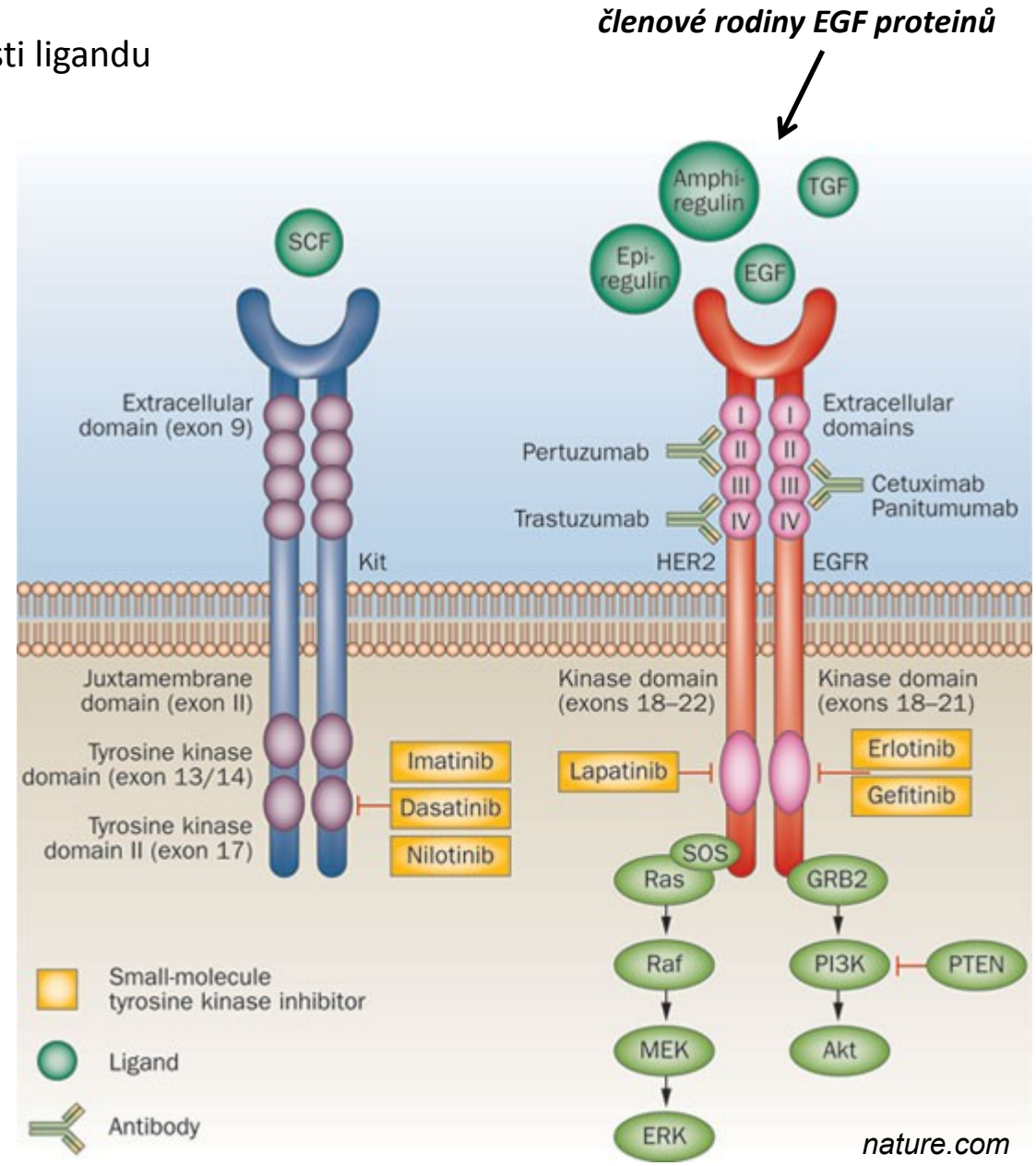
2. Overexprese
- zmnožení počtu receptorů

EGFR
- karcinom prsu, žaludku, kolorekta

Her2
- karcinom prsu

c-Kit
- role v hematopoéze
- fyziologicky exprimován hl. na nezralých krevních progenitorech
- rakovina kůže

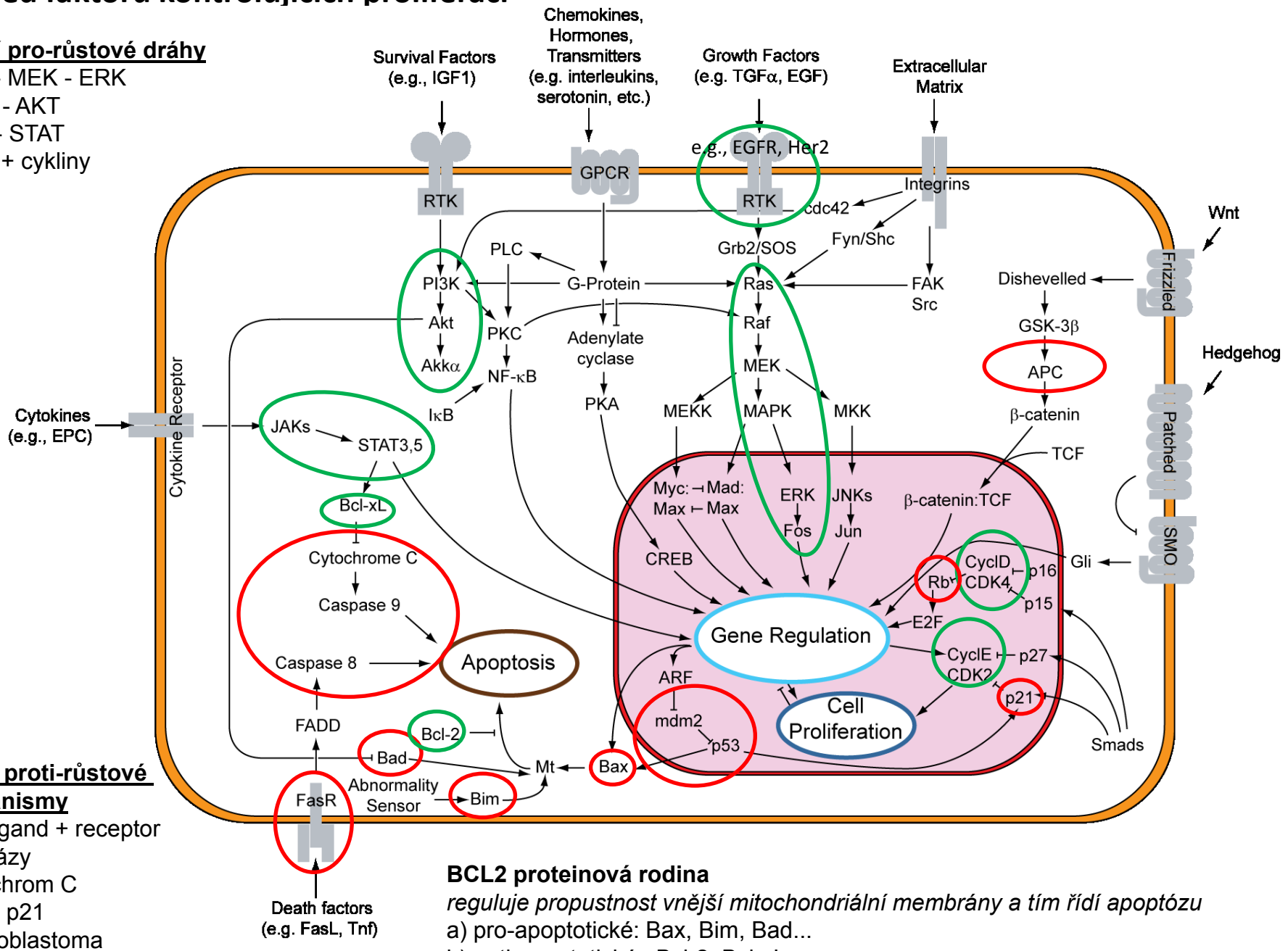
Léčba **protilátkami** nebo **tyrosin-kinázovými inhibitory.**
Diagnostika receptorů může predikovat léčebnou odpověď.



- ***SCF - stem cell factor; steel factor***
- ***Trastuzumab = Herceptin***
- ***Epidermal growth factor receptor*** *(EGFR; ErbB-1; HER1)*

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 apoptózu

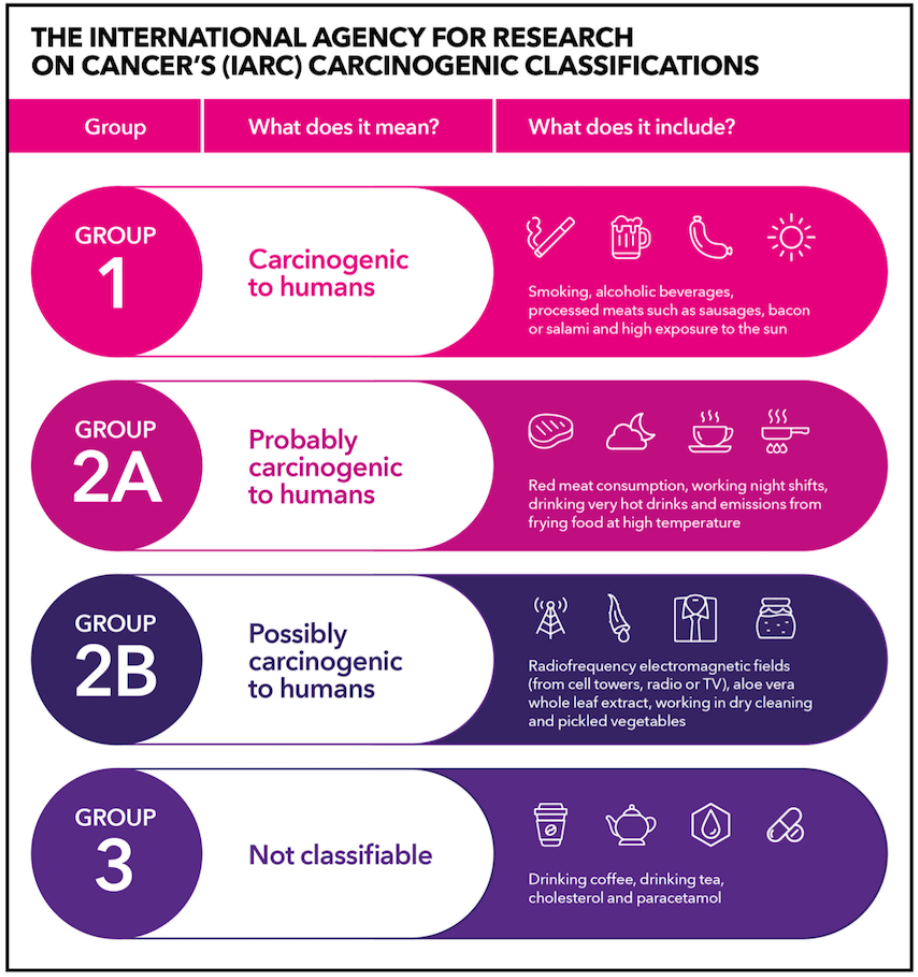
a) pro-apoptotické: Bax, Bim, Bad...

b) anti-apoptotické: Bcl-2, Bcl-xL...

Karcinogeny

Faktory, které způsobují nebo napomáhají karcinogenezi

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



International Agency for Research on Cancer. (March 2020). IARC monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans. Retrieved from https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/

Group 1 carcinogens

Carcinogenic to humans. 126 agents, including:

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

Group 2A

Probably carcinogenic to humans 94 agents, including:

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

Group 2B

Possibly carcinogenic to humans. 322 agents, including:

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

Group 1: "Carcinogenic to humans" There is enough evidence to conclude that it can cause cancer in humans.
Group 2A: "Probably carcinogenic to humans" There is strong evidence that it can cause cancer in humans, but at present it is not conclusive.
Group 2B: "Possibly carcinogenic to humans" There is some evidence that it can cause cancer in humans but at present it is far from conclusive.
Group 3: "Unclassifiable as to carcinogenicity in humans" There is no evidence at present that it causes cancer in humans.

Karcinogeny

1. Fyzikální karcinogeny

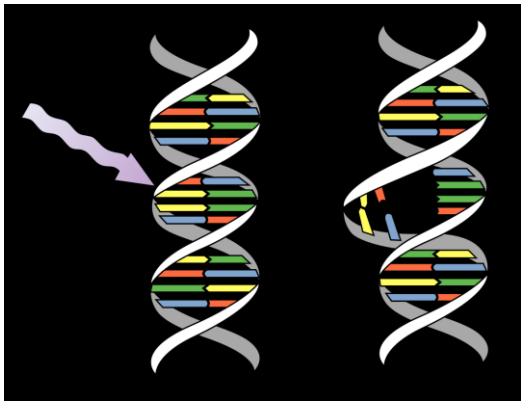
Ionizující záření

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,...

Organické karcinogeny

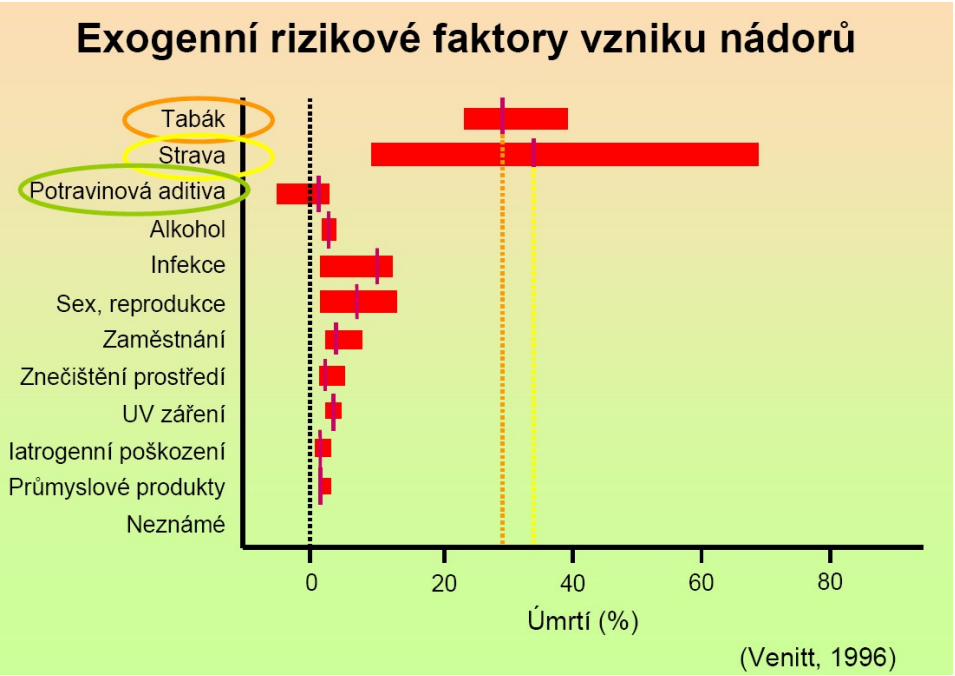
- Polychlorované bifenyly (barvy/laky)
- Dioxiny (produkty spalování organických látek)
- Benzen (rozpouštědla, motorové splodiny)

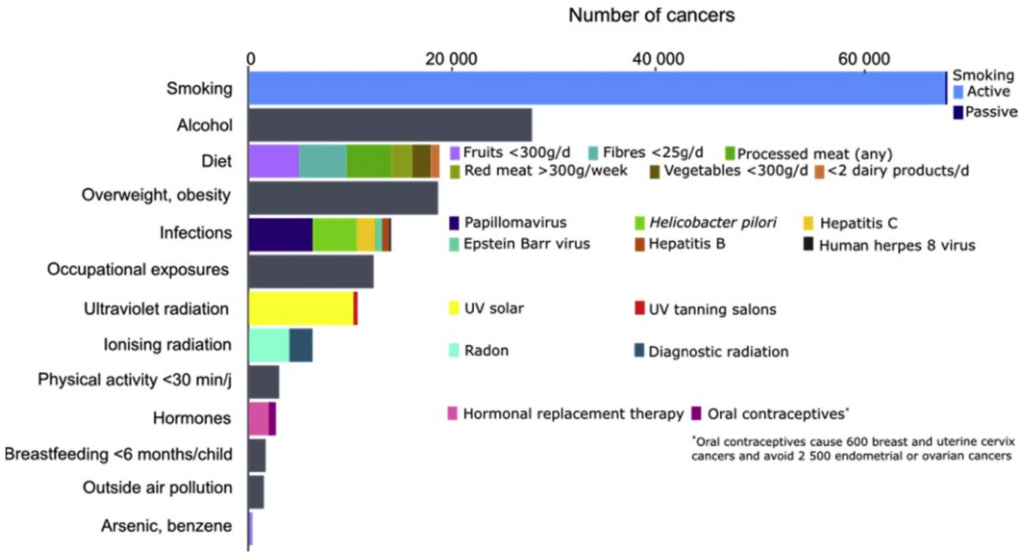
Léčiva

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

Strava

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

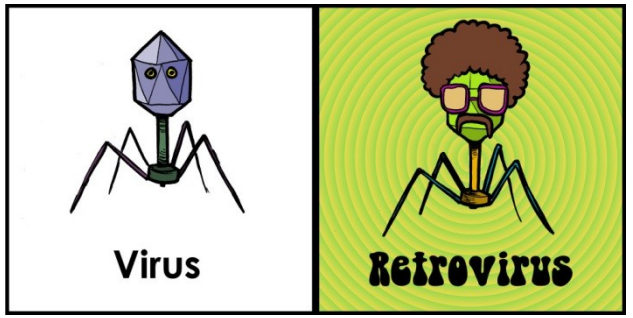




Cancers related to lifestyle and environmental factors in France in 2015

https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.09.009

3. Biologické karcinogeny: onkogenní (nádorové) viry



a) Retroviry (RNA viry)**:**

Jednořetězcová RNA – využívá reverzní transkripce

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

Onkoviry

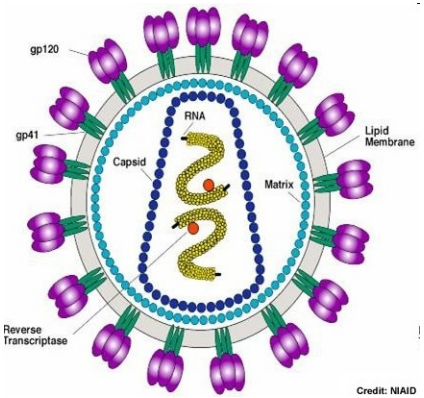
lidský lymfotropní virus typu I (HTLV-1)

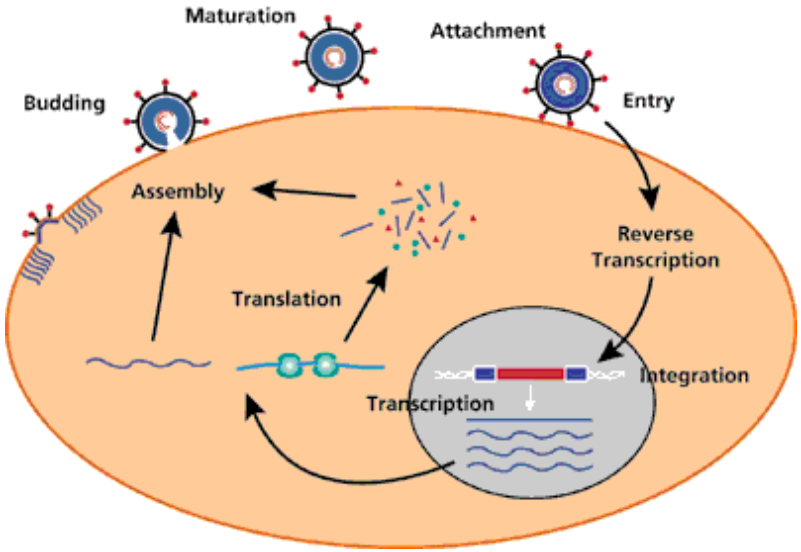
- T-leukemie (lymfom) dospělých (ATTL), doba latence asi 30 let
- vysoká proliferační aktivita napadených buněk, větší pravděpodobnost mutací

Lentiviry

viry HIV-1 a HIV-2

nádory spojené s jejich infekcí - lymfomy a sarkomy





3. Biologické karcinogeny: onkogenní (nádorové) viry

b) DNA nádorové viry

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

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

Virus hepatitidy B (HBV)

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

Herpes viry - EB (Epstein Barrové virus)

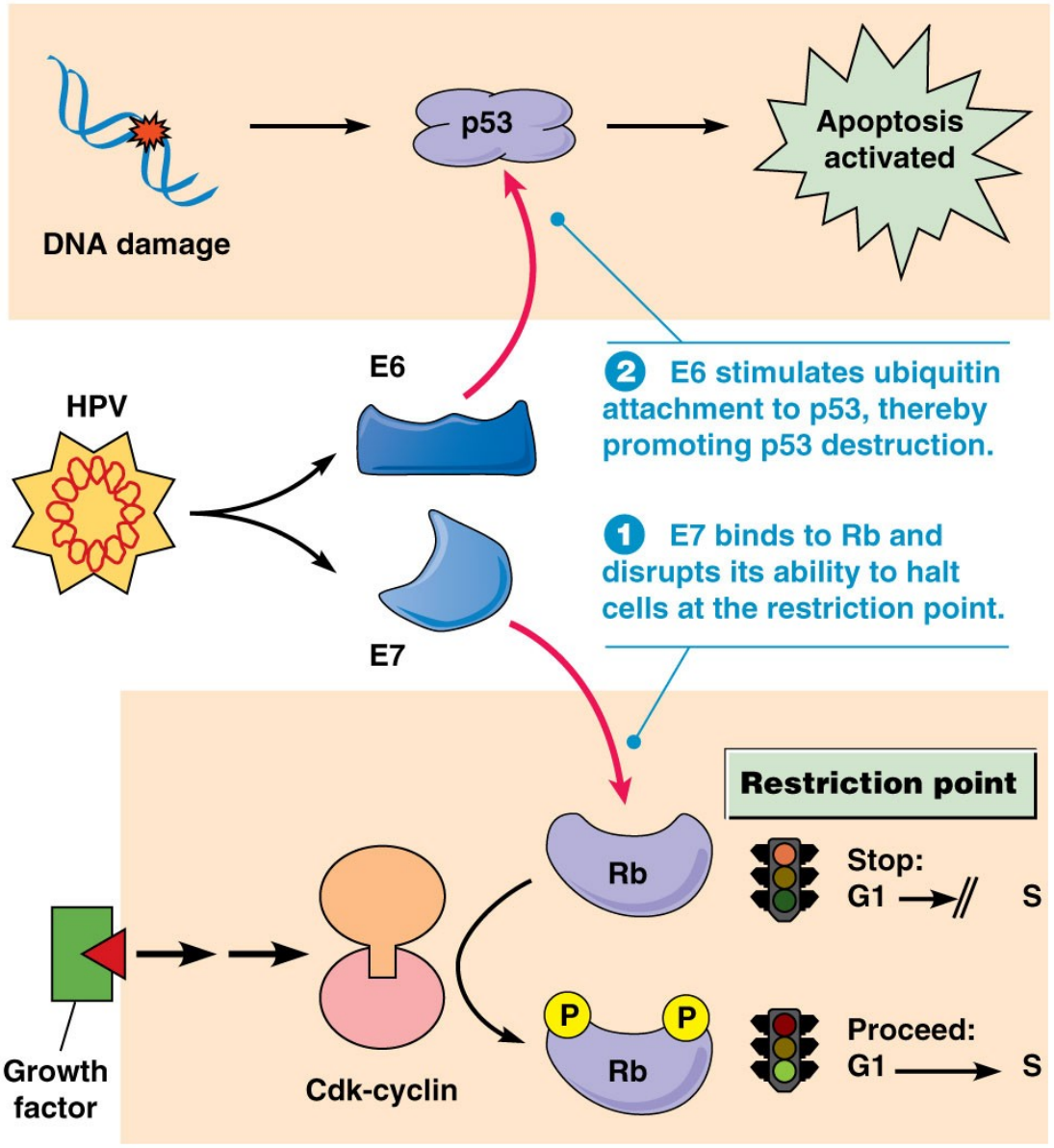
- v jádře buňky v epizomálním stavu (extrachromosomální)
- Lymfomy a karcinomy

Papilomaviry (HPV)

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

Lidský papilomavirus ovlivňuje RB a p53

- virus produkuje **proteiny**,
  které inhibují tumor-supresory:
  - **E6** → p53
  - **E7** → RB



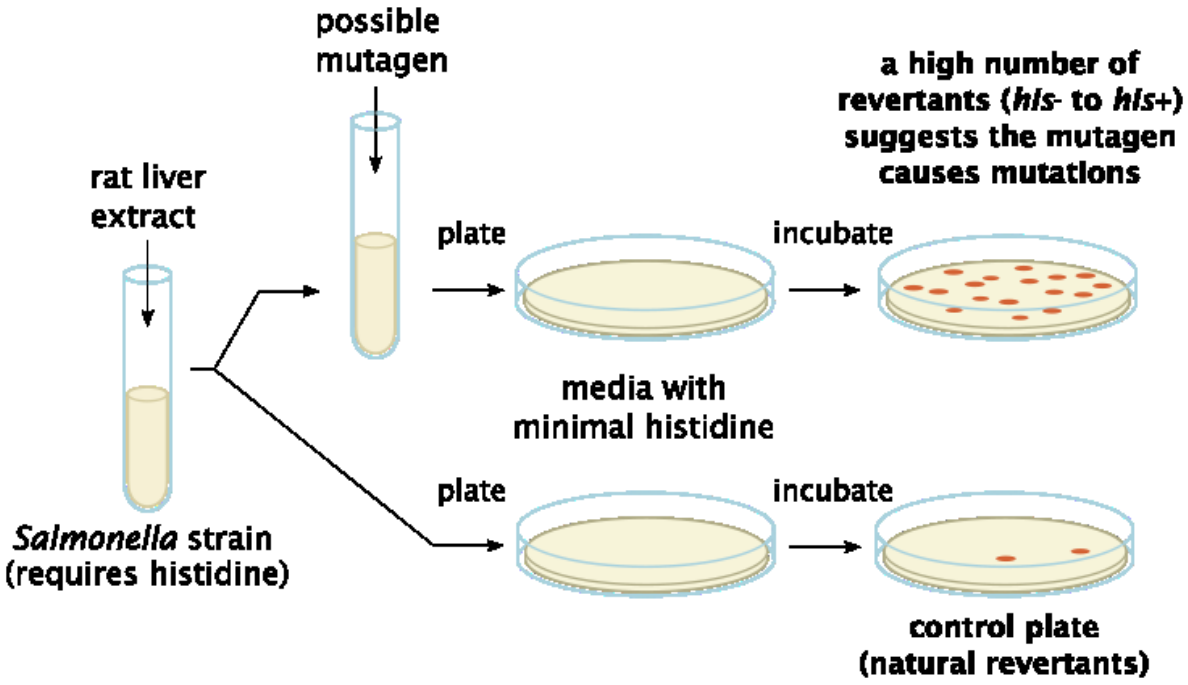
© 2012 Pearson Education, Inc.

Amesův test

Základní test na stanovení mutagenního potenciálu chemických sloučenin

Bruce Ames

- 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



- bakterie *Salmonella typhimurium*
- auxotrofní mutant

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

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

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

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

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

Pět pilířů léčby rakoviny

1. Chirurgie

2. Chemoterapie

3. Ozařování

4. Cílená terapie

5. Imunoterapie

Léčba rakoviny

Konvenční chemoterapeutika

cílem jsou proliferující buňky, nespecifická, vždy stejné % proliferujících buněk

Cíle:

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

nádor více náchylný na obecné pro-apoptotické stimuly (genotoxické látky, mitotické jedy, antimetabolity)
Nevýhody: ohromné vedlejší účinky (likvidace zdravých tkání - může vést až ke vzniku sekundární rakoviny)

Cílená terapie

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

Nevýhody:

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

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

cytostatikum: látka tlumící růst a rozmnožování buněk, zejména nádorových tkání

Mechanismy působení konvenčních cytostatik

1. Alkylační látky

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

2. Antimetabolity

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

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

Mechanismy působení konvenčních cytostatik

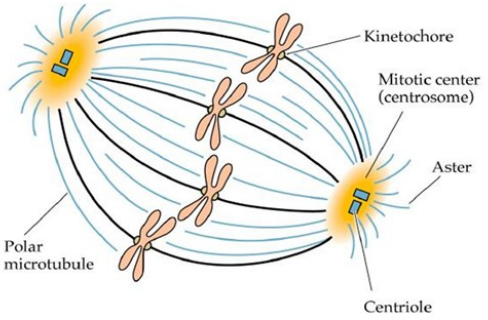
3. Protinádorová antibiotika*

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

4. Rostlinné alkaloidy

blokují tvorbu vřeténka vazbou na mikrotubuly

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



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

Cílená terapie - příklady

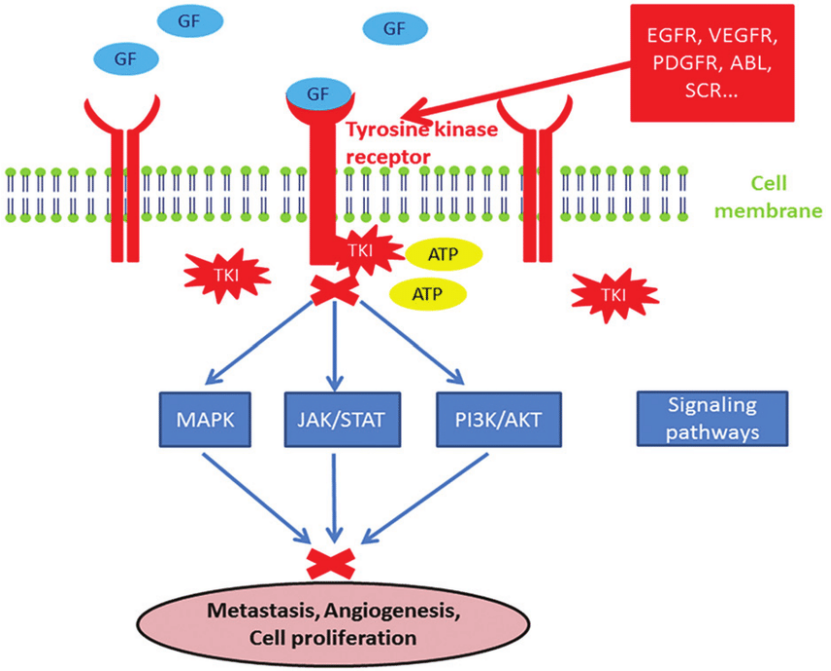
Tyrozin kinázové inhibitory (TKIs)

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

Farnezyltransferázové inhibitory (FTIs)

inhibice funkce Ras (trvale zapnutý v nádorech)

- *Lonafarnib, Tipifarnib, BMS-214662*

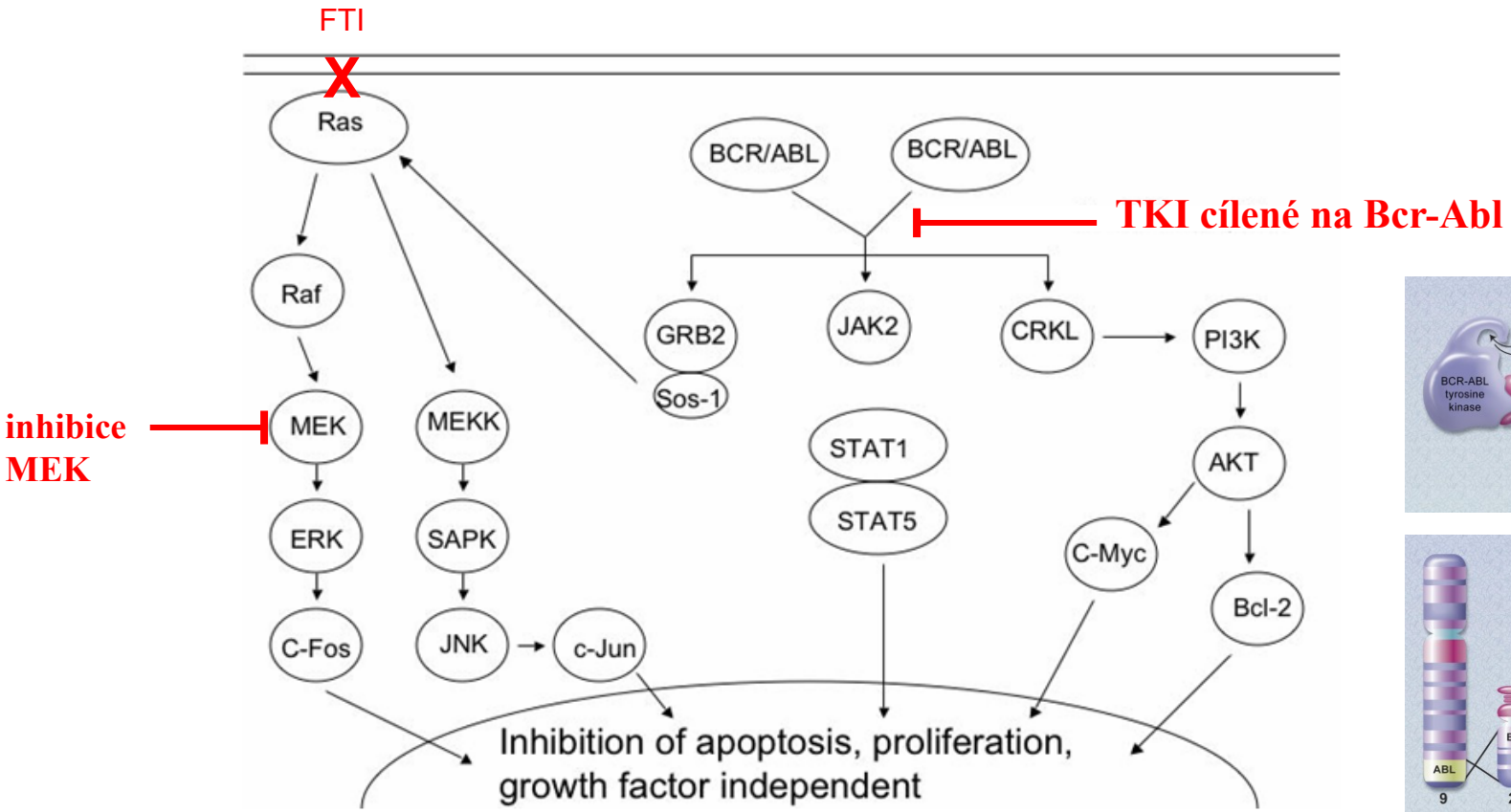


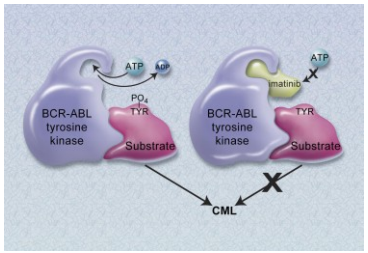
Cílená terapie Chronické Myeloidní Leukemie (CML)

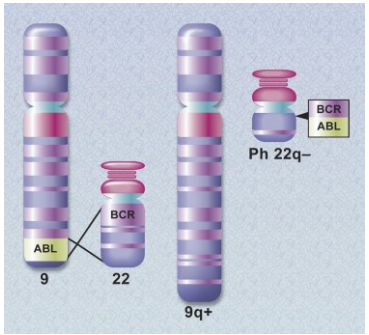
Fúzí protoonkogenu ABL a BCR vzniká abnormální gen, jehož translačním produktem je konstitutivně aktivní cytoplazmatická bcr-abl tyrozinová kináza, která narušuje řadu signálních drah a způsobuje leukemický fenotyp buňky.

Over-exprese tyrozinkinázy Bcr-Abl v CML způsobuje:

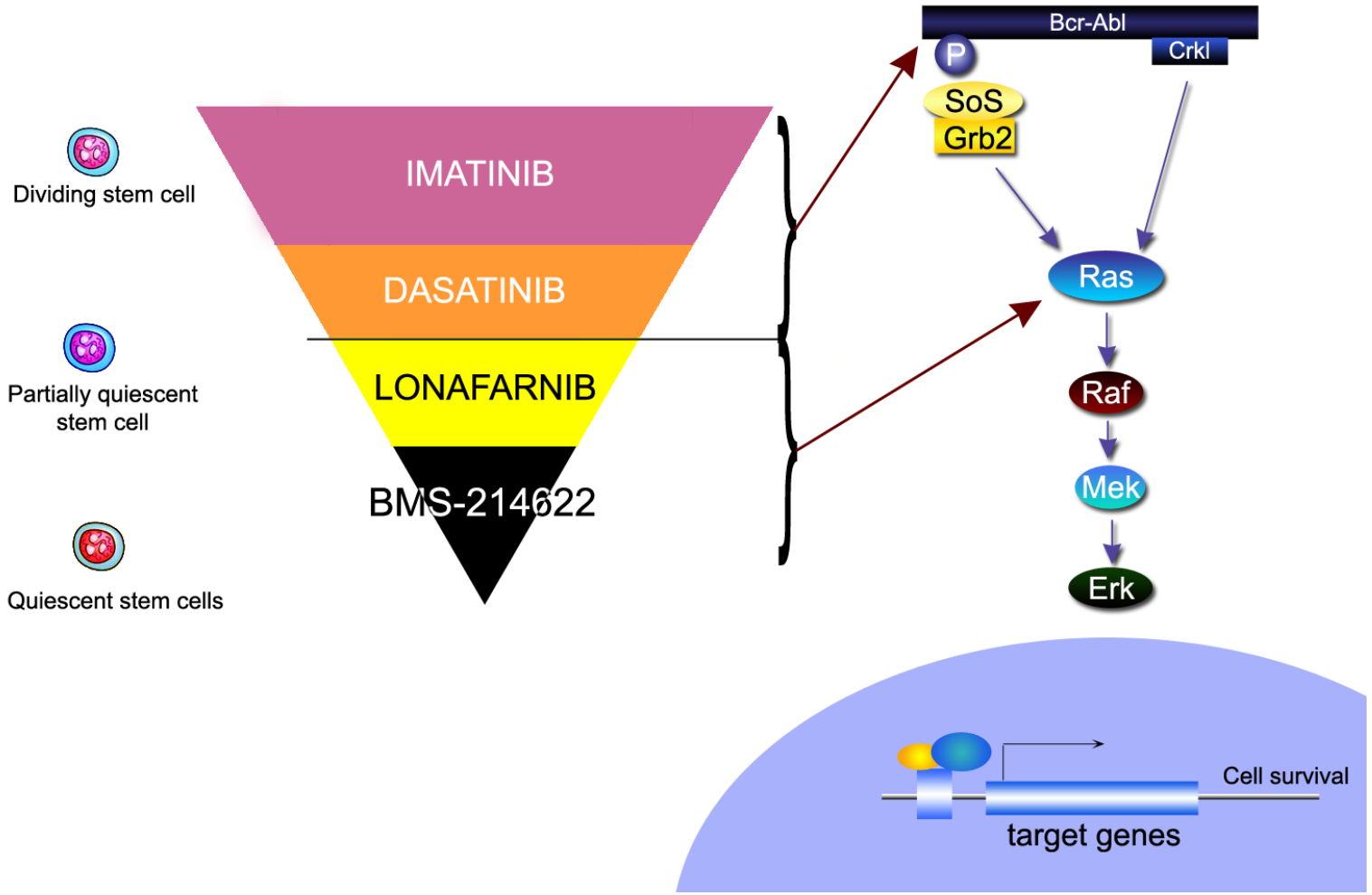
- cytokin-independentní přežití a růst buňky, prokázána onkogenní adikce
- chrání buňku před apoptózou v odpovědi na růstové faktory nebo poškození DNA







Cílená terapie CML

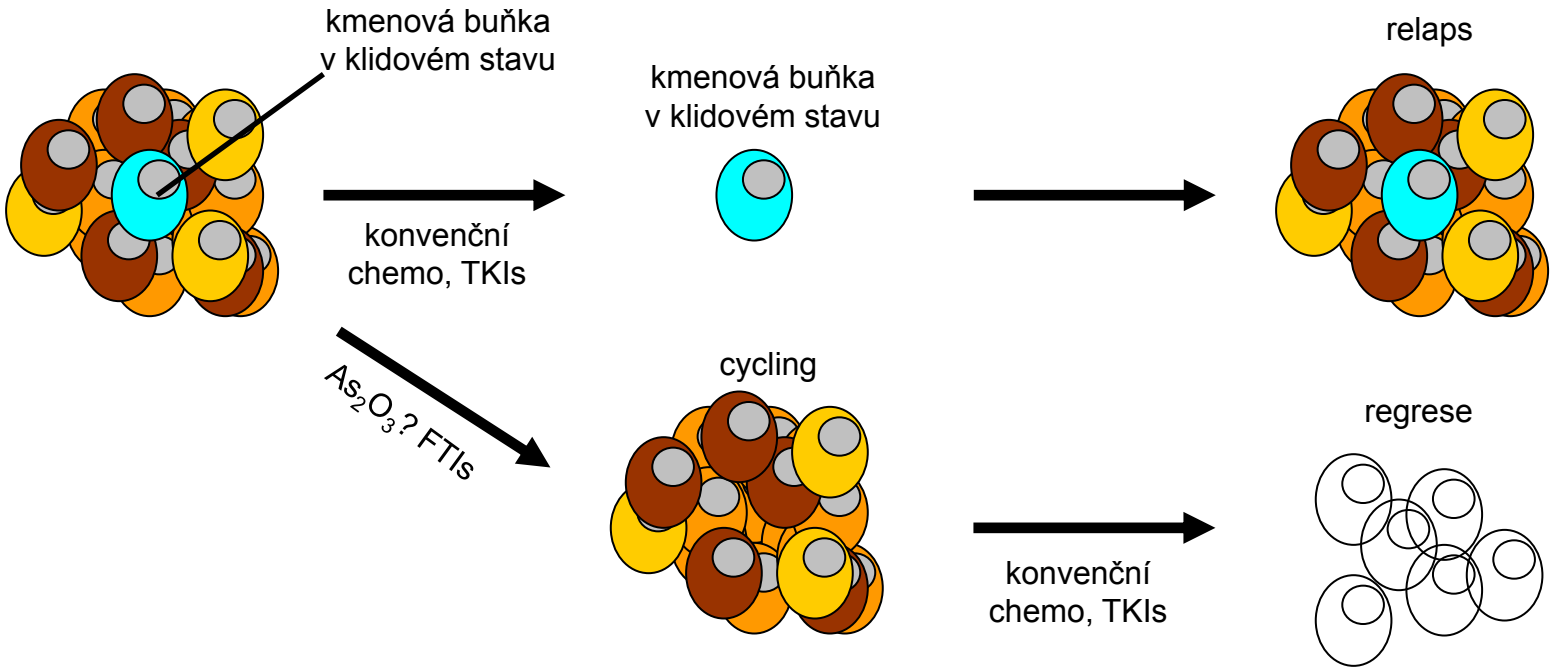


Rakovinná kmenová buňka v klidovém stavu zodpovědná za relaps

Indukce vstupu kmenové buňky v klidovém stavu do b. cyklu
V kombinaci s konvenční chemoterapií

Oxid arsenitý (As_2O_3, arsenic trioxide, 1865 Fowler solution)
- reversibilně snižuje expresi PML proteinu (klidový stav skrze represi mTOR) → indukuje kmenové buňky v klidovém stavu ke vstupu do cell cycle, bez vyvolání apoptózy
- léčba PML a CML

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

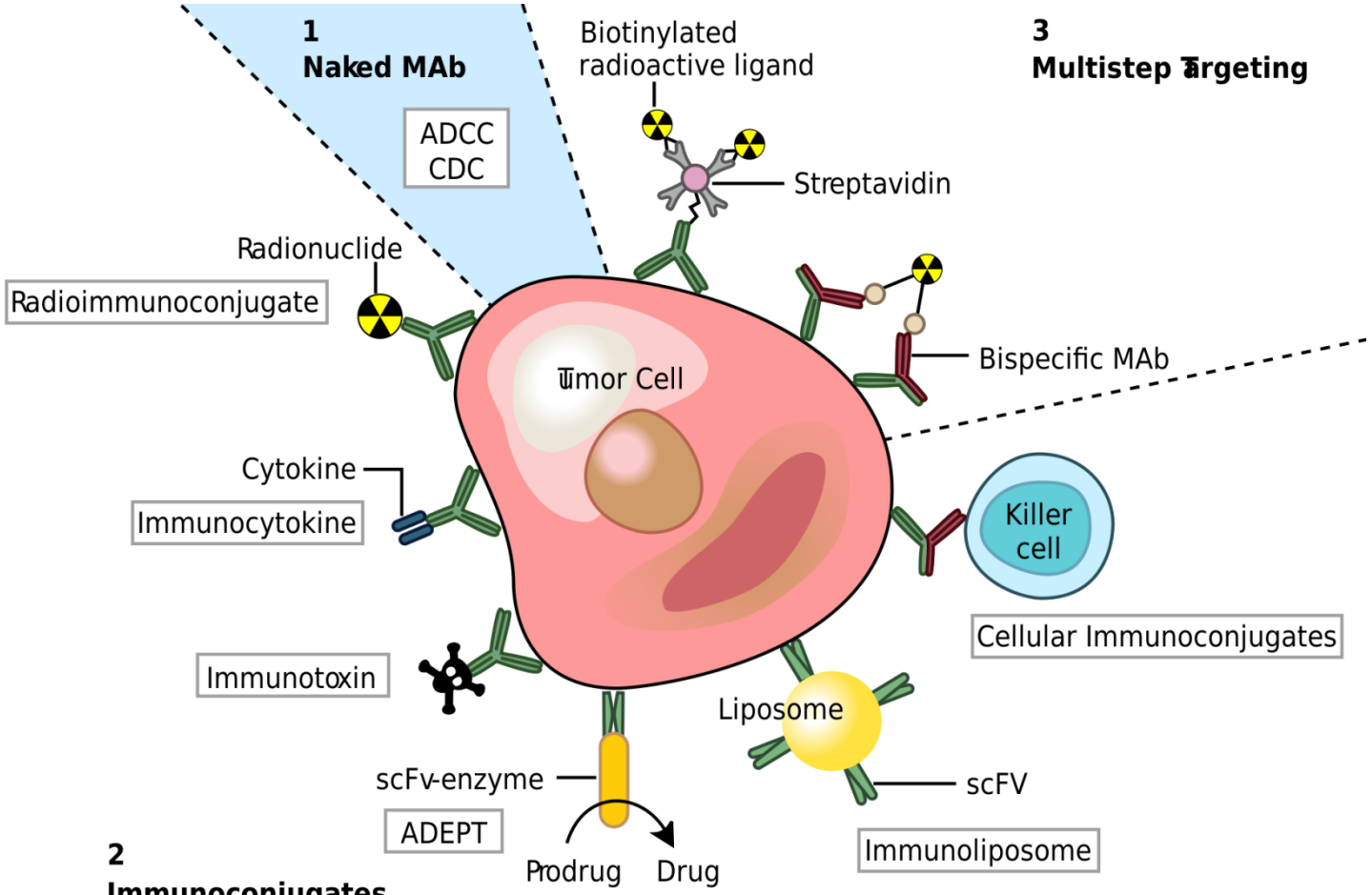


PML - Promyelocytic leukemia protein, PML = akutní promyelocytická leukemie, CML = chronická myeloidní leukémie

Imunoterapie

Monoklonální protilátky

- specifické protilátky (Ab) proti vybraným antigenům na povrchu buněk
  - **a) Naked:** po navázání mohou blokovat daný receptor, nebo aktivovat buňky imunitního systému
  - **b) Konjugované:** s toxinem, radioizotopem, cytokinem

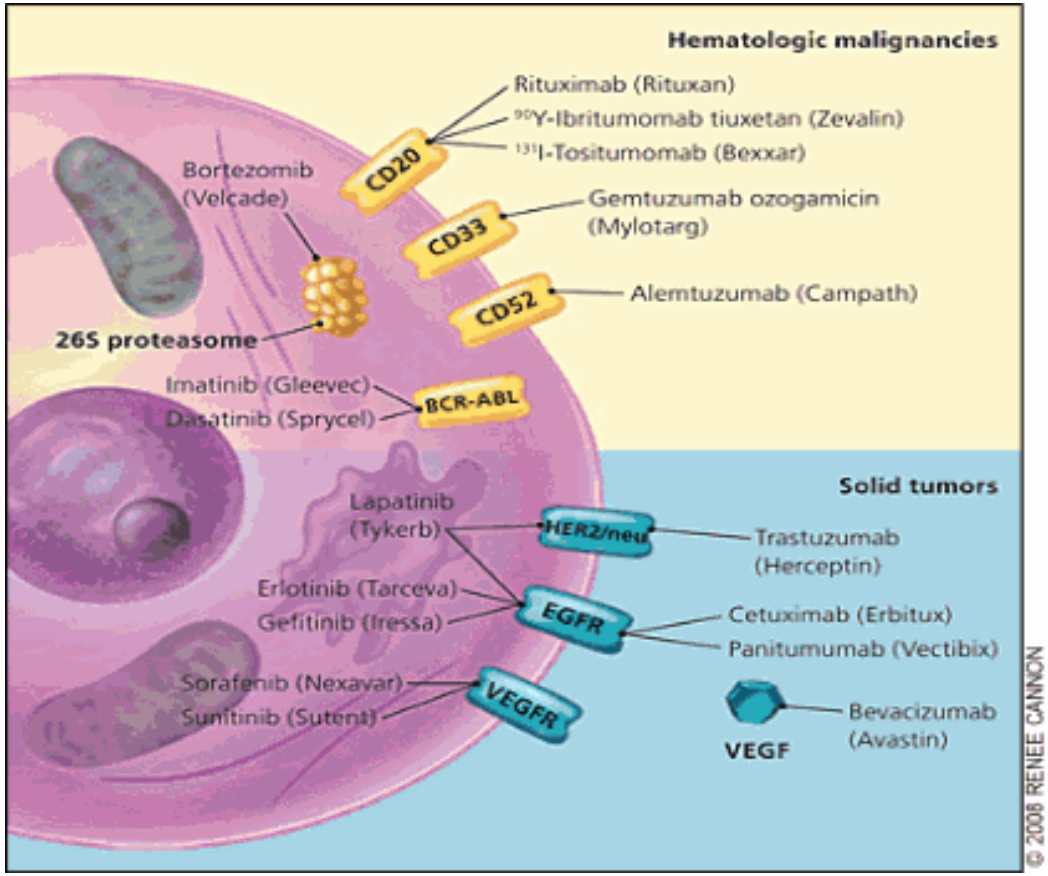


MAb - monoclonal antibody
ADCC - antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity
CDC - complement-dependent cytotoxicity

Imunoterapie

Monoklonální protilátky

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



Cell with compromised DNA
I'm going to jump!
p53 protein
Do a flip!