

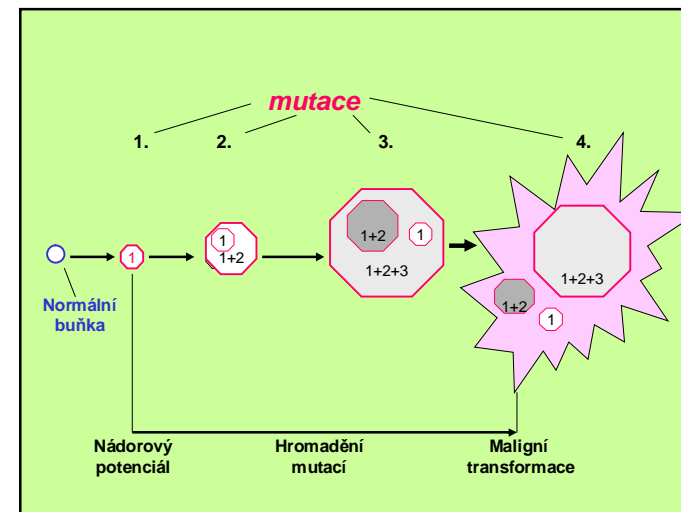
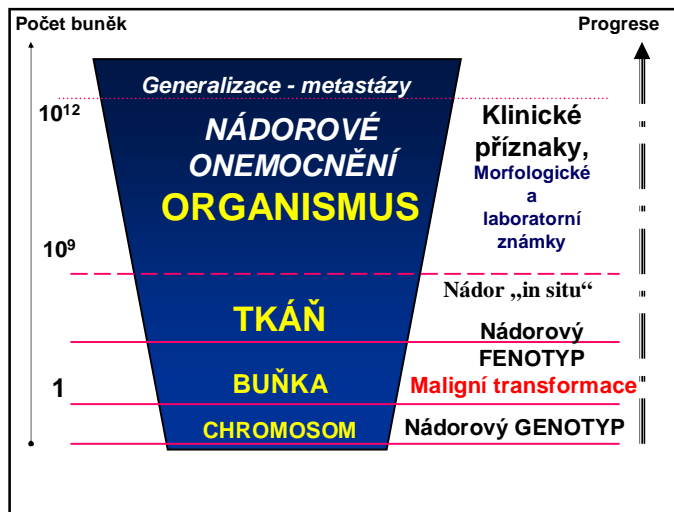
VZNIK NÁDOROVÉHO ONEMOCNĚNÍ z hlediska molekulové patobiochemie

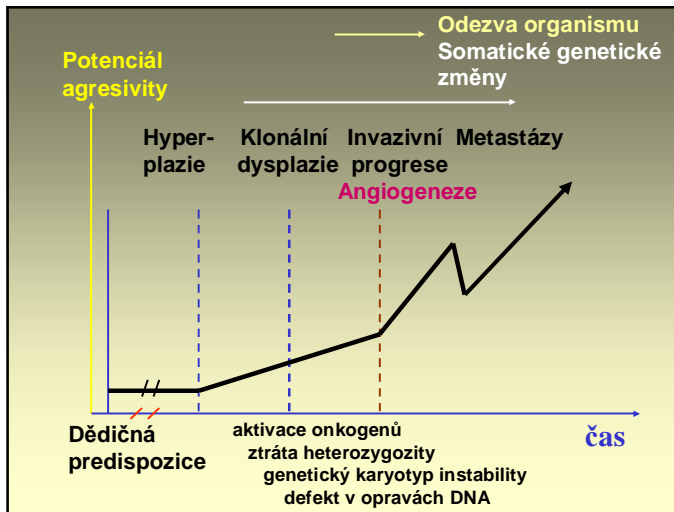
Jaroslav Masopust

Ústav klinické biochemie a patobiochemie
2. Lékařská fakulta UK v Praze

Maligní tumor je genetické onemocnění

- **Přechod** normální tkáně do stavu invazivní nádorové choroby **trvá** obvykle **5 – 20 let**
- Ovlivňují to **hereditární genetické faktory** a **somatické genetické změny**
- Progresi podporuje **postupné (!) hromadění genetických změn** ↪
nekontrolovaný růst způsobený kupř.:
 - *trvalou aktivací signální transdukce* růstového stimulu
 - *alterací kritických bodů* buněčného cyklu
 - *deregulaci DNA-transkripčních faktorů*





NÁDOROVÝ GENOTYP

výsledek nahromadění *mutací (alterací)*

genů pro řízení

* proliferace

* diferenciace

* zániku

BUNĚK

POPULACI možno rozdělit na 4 genetické **ONKODÉMY**

(dle vztahu vývoje nádoru ke genetické nebo environmentální zátěži)

- (1) ZÁKLADNÍ - normální populace kde riziko nádorového onemocnění vzniká *nahromaděním bodových mutací*
- (2) ENVIROMENTÁLNÍ - část normální populace kde riziko se zvyšuje působením *okolních podmínek (chemie, radiace, viry)*
- (3) ENVIROMENTÁLNĚ GENETICKÁ - část populace se zvýšenou *náchylností k environmentálním kancerogenům*
- (4) GENETICKÁ - část populace s *geneticky přenosným rizikem*

"Rakovina je genetická porucha somatických buněk: maligní tumory obsahují buňky nesoucí mutace nebo delece kritických nádorových genů"
 "Mutace zárodečných buněk přenášejí náchylnost k nádorovému onemocnění z rodičů na děti"

PROTOONKOGENY

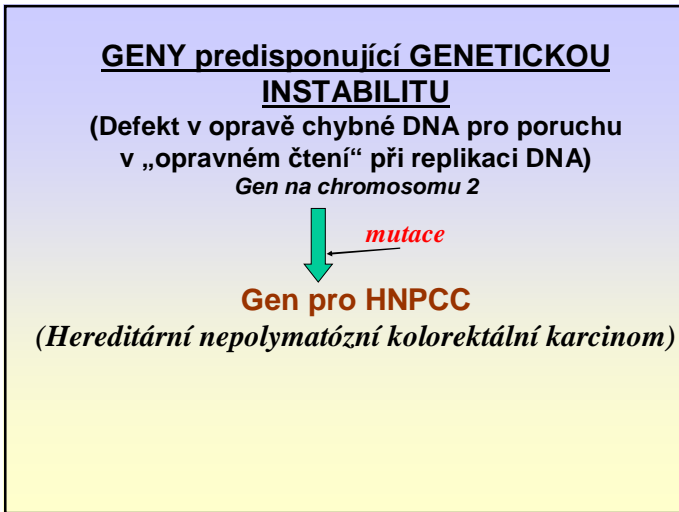
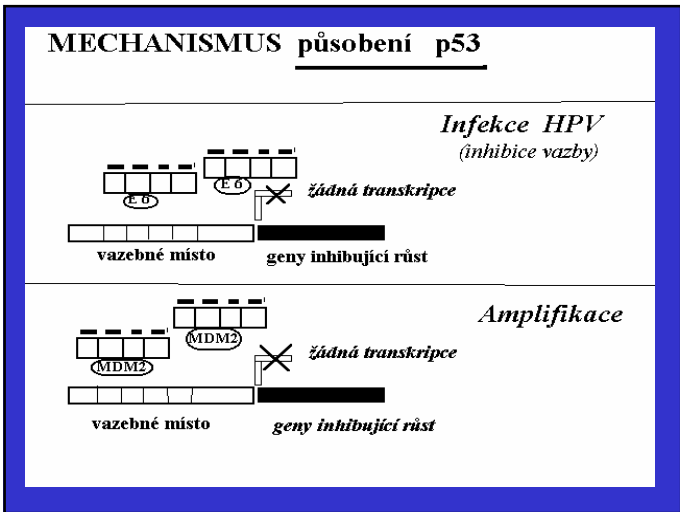
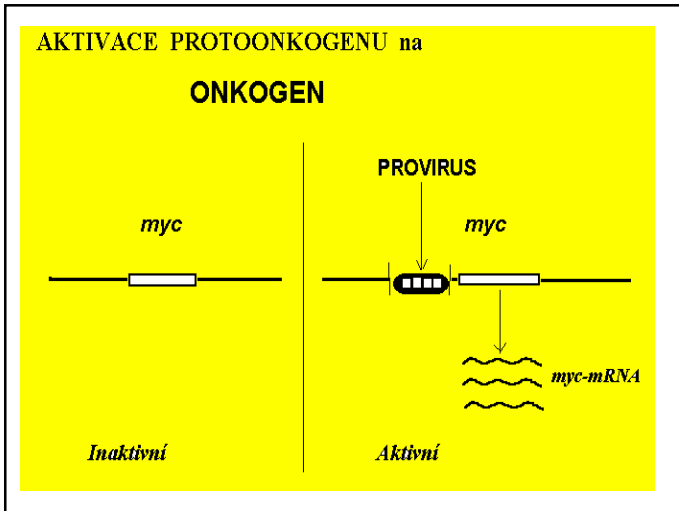
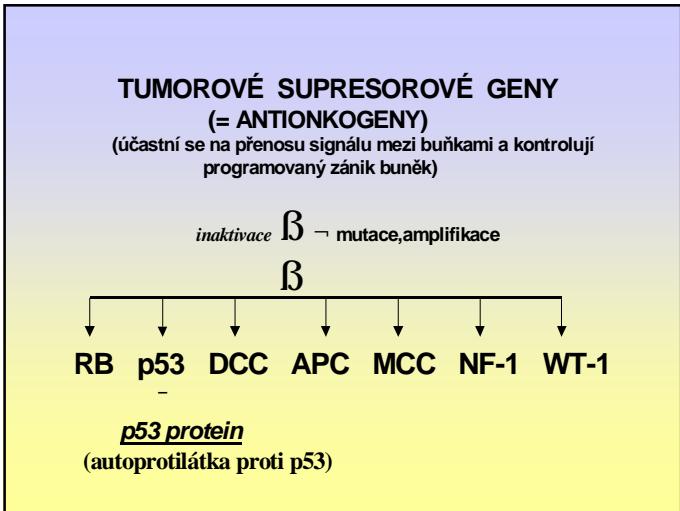
(kontrolují růst a diferenciaci buněk)

aktivace β - mutace, translokace, amplifikace

β

ONKOGENY

pro růstový faktor	pro receptory růst.faktorů	intracelul. kinasy	pro transkripční faktory	pro transdukční proteiny
sis	erbB-1 erbB-2 fms, trk net, ros	src, abl	c-myc, L-myc N-myc, E 2A fcs, gli	K-ras H-ras N-ras gip

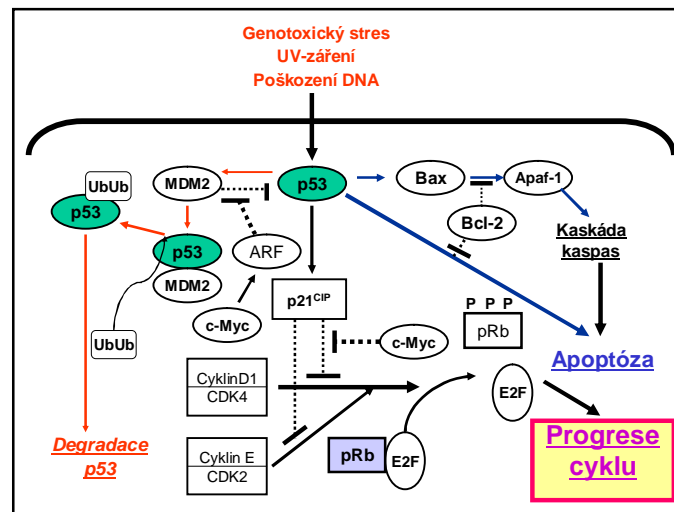


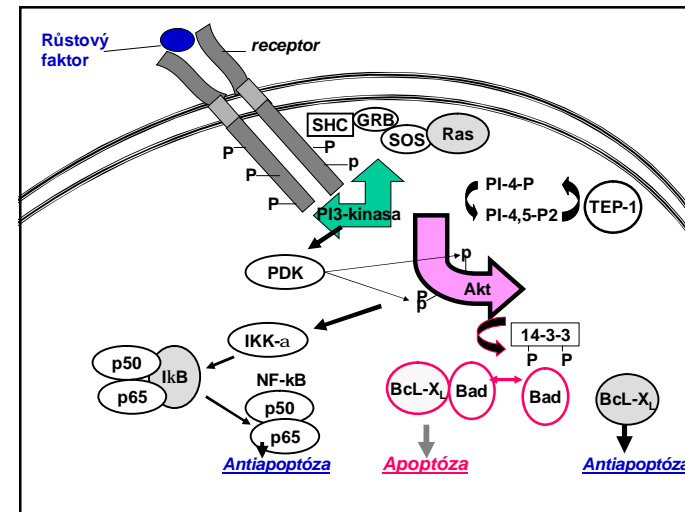
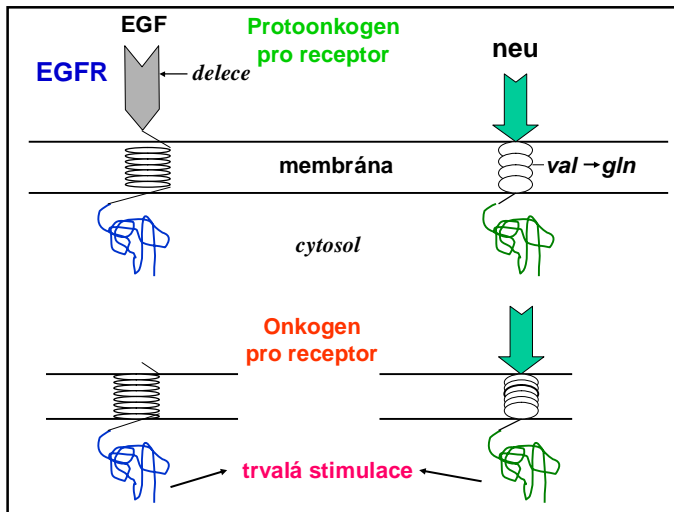


- **Genová instabilita může predisponovat premaligní buňku k proliferaci maligních dceřinných buněk**
- **Instabilita se může projevit na makroúrovni: (změny v karyotypu) nebo mikroúrovni (oprava DNA-sekvence)**

Možné cesty k maligní transformaci

- **ZMĚNA SIGNALIZACE**
- **NEADEKVÁTNÍ EXPRESE strukturálně normálního proteinu**
- **UVOLNĚNÍ REPRESE**
- **PORUCHA ZÁNÍKU BUNĚK**
- **GENETICKÁ NESTABILITA**

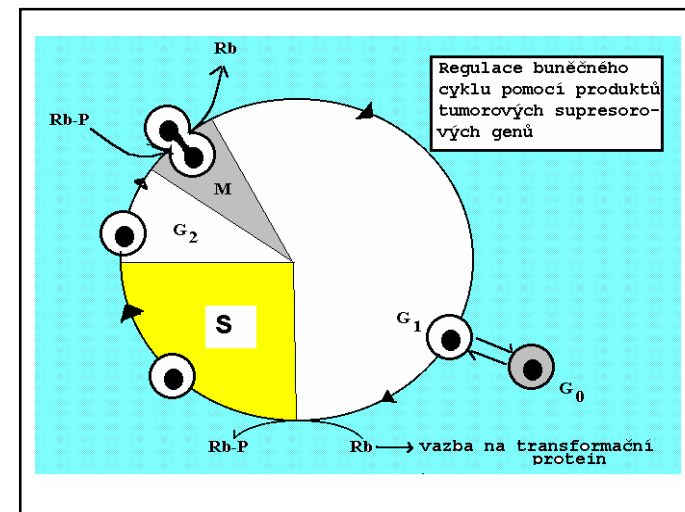


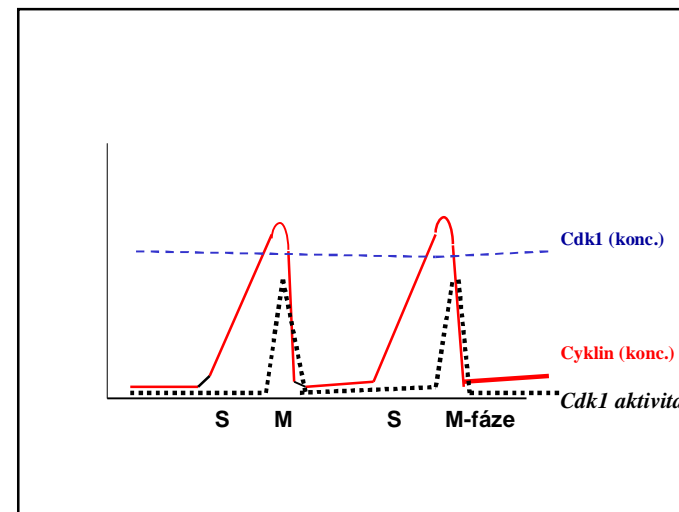
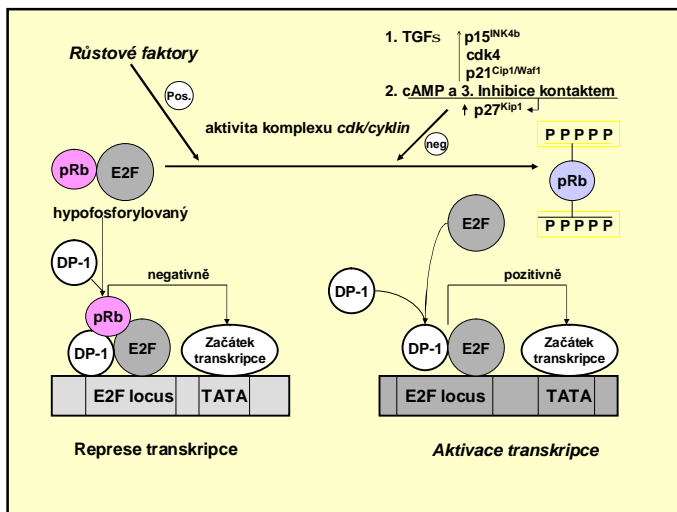
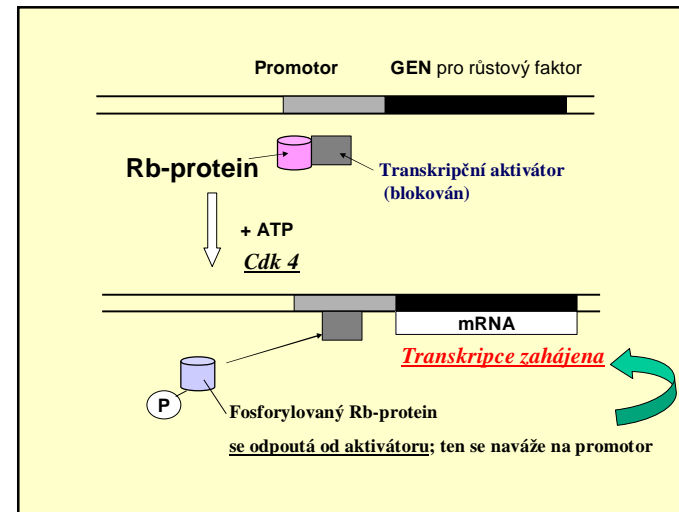
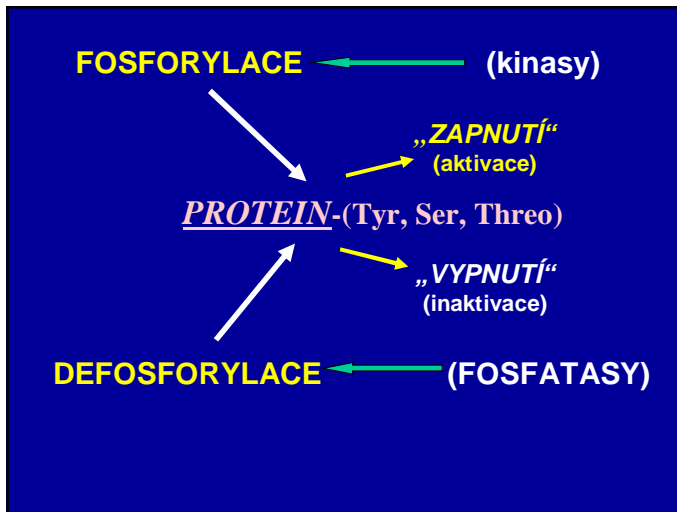


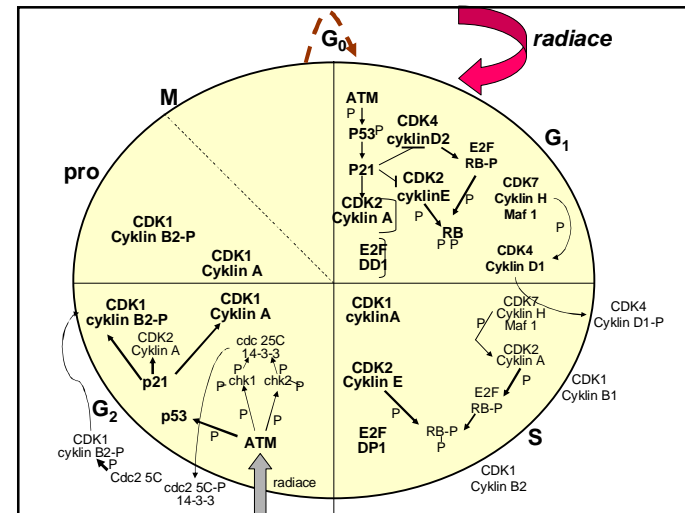
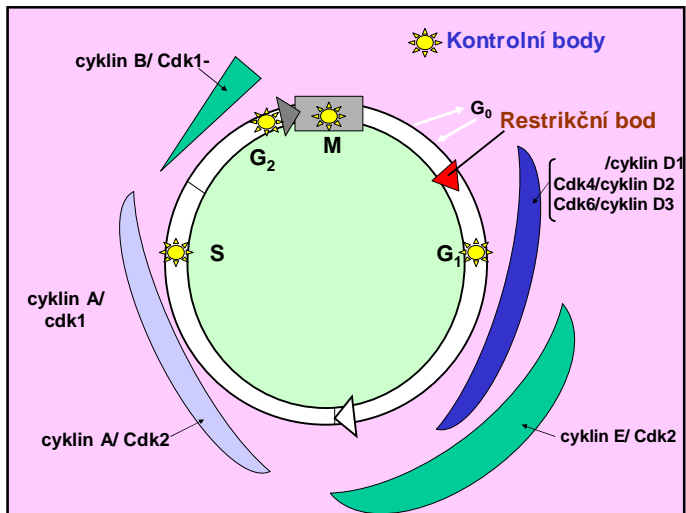
NÁDOROVÝ FENOTYP

MALIGNÍ TRANSFORMACE BUŇKY

- **Ztráta kontroly PROLIFERACE**
 - alterace buněčného cyklu
 - antiapoptóza („nesmrtelnost buňky“)
 - alterace v transdukci signálu
- **Ztráta kontaktu** buňka-buňka
- **Invazivita**
- **Alterace v metabolismu**
(anaerobní glykolýza, „uchvacování“ dusíku, lipolýza tvorba nádorových antigenů)
- **Podpora angiogeneze**







„NESMRTELNOST BUŇKY“

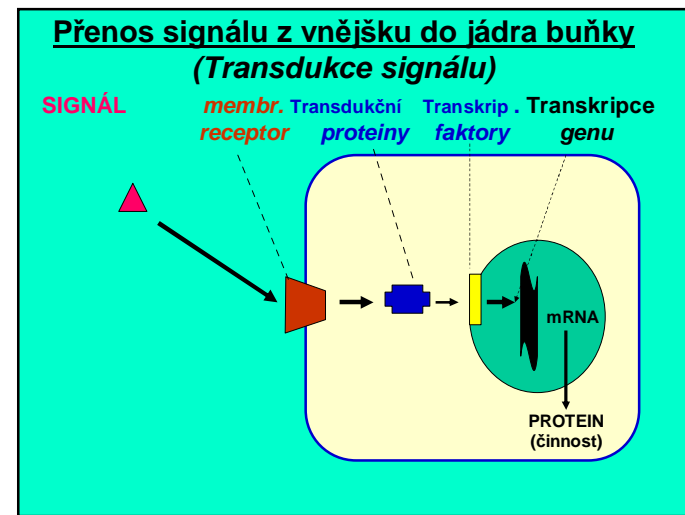
Normální somatická buňka má omezenou kapacitu proliferace danou určitým počtem možných dělení a řízenou opakovanou sekvencí konce DNA

- TTAGGG tzv. **telomery**

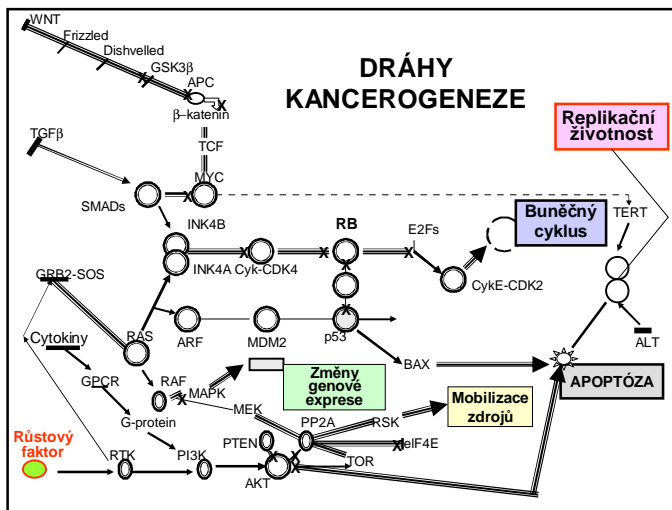
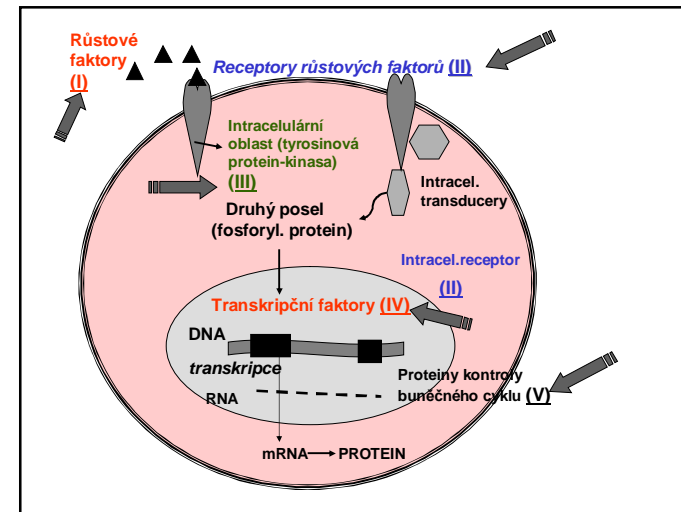
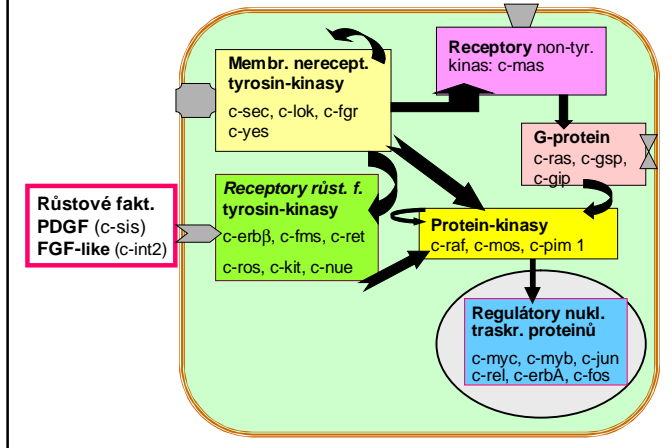
1 cyklus = zkrácení o 1 telomer

Nové nastavení umožňuje **TELOMERASA**

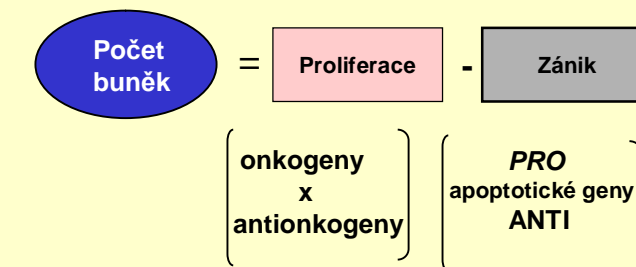
Zvýšená aktivita telomerasy u nádorových buněk

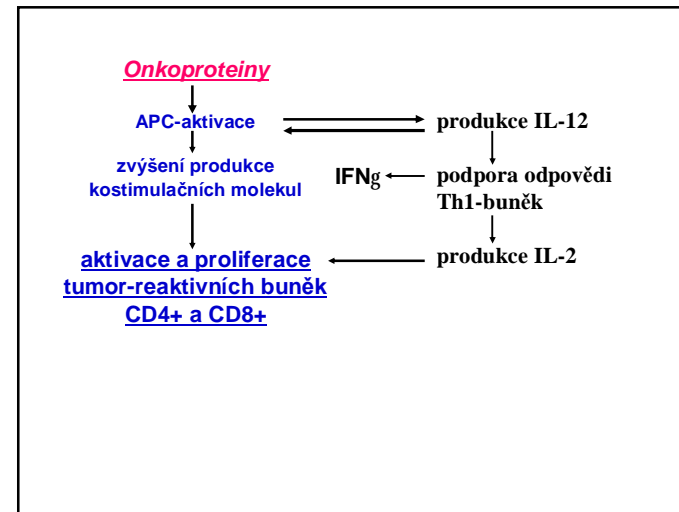
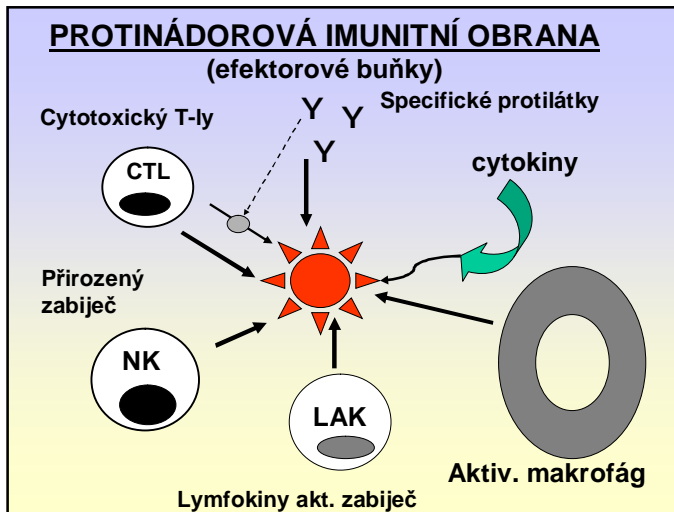


Kategorie členů signálních drah



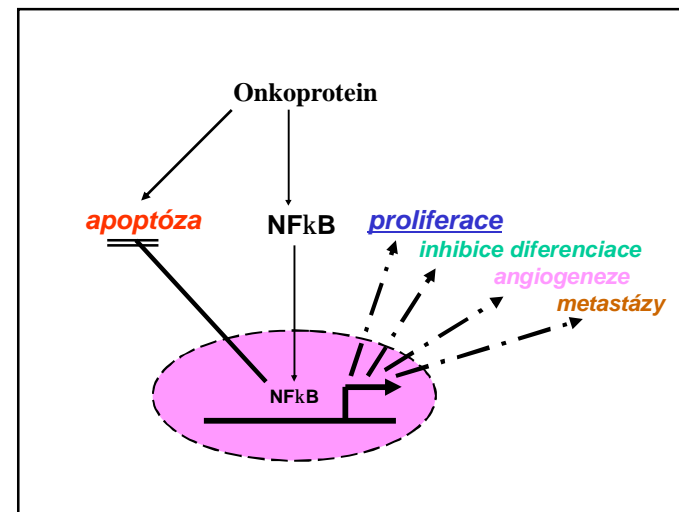
Rovnovážný stav počtu buněk v tkáních

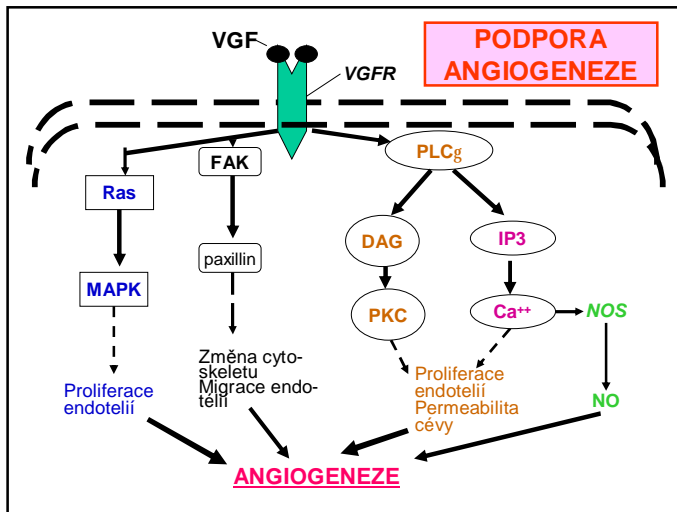




Renezance Burnetovy a Thomasovy teorie protinádorového imunologického dohledu („cancer immunoediting“)

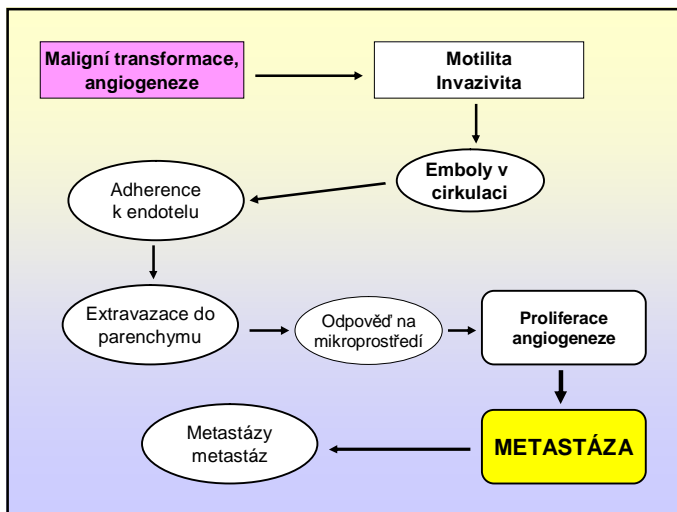
- Fáze eliminace:**
NK, NKT, gdT rozpoznávají antigeny nádorových buněk → produkce INFg → kaskáda přirozené imunity (angiostatické chemokiny, stimulace NK a dendrit.bb a IL 12) → drtí tumorových bb. fagocytována → do uzlin; odtud difer. T-bb CD4+ a CD8+ putují k nádoru, rozpoznávají a ničí tumorové bb. (INFg, IL 12, TNF, perforin)
- Fáze ekvilibrace:**
selekční tlak → nové klony nádorových bb.: tvorba a ničení v rovnováze
- Fáze vymanění:** selekční tlak vytvoří varianty unikající rozpoznání, ničí cytotox. T-bb. (apoptóza Fas-lig)





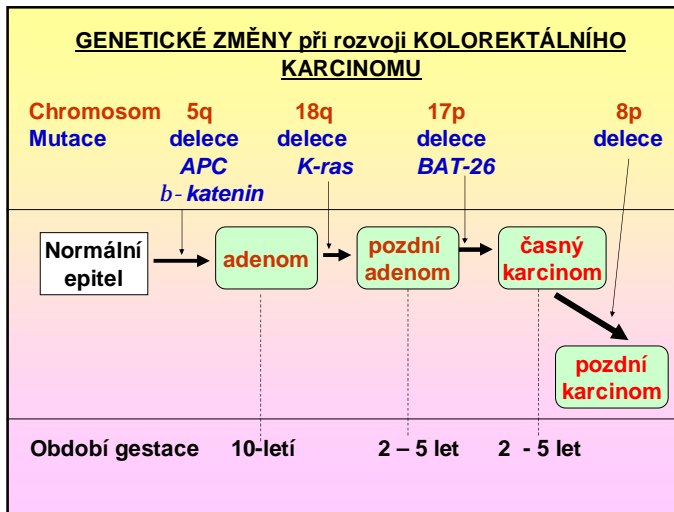
METASTATICKÝ (invazivní) FENOTYP

- **Zvýšení motility (invazivita)**
(průnik do stromatu a přes cévní stěnu)
- **Vytváření embolů v cirkulaci**
- **Adherence** ke stěně cévy
- **Průnik do parenchymu**
- **Vytvoření metastázy** (proliferace v místě, angiogeneze, odpověď na mikroprostředí)
- **Metastázy metastáz**
- **Nádorová generalizace**



FÁZE CHEMICKÉ KANCEROGENEZE

- **INICIACE** (získat potenciál přeměnit se na buňku nádorovou)
- **PROMOCE** (vliv podpůrných faktorů)
- **PROGRESE** (vytvoření nádoru)



Možnosti detekce rizika

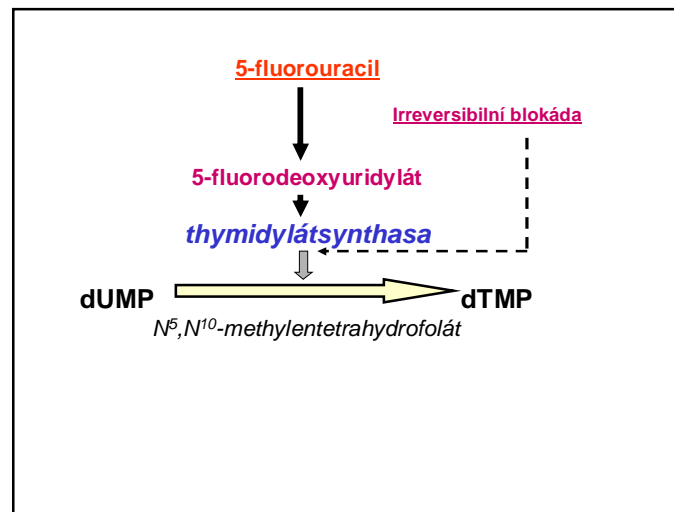
- Mutace APC, K-ras, p53 genů....u většiny
- Aneuploidie s delecí raménka chromosomu 1p, 5q, 8p, 18q, 17p u 85 %
- Diploidie (15 %) s mutací BAT-26 u 95 %
- „Dlouhá“ DNA (nepodléhá apoptóze).. až u 90 %

*Kolorektální karcinom je klinicky, fenotypově a genotypově heterogenní:
Multikomponentní stanovení*

Rozlišení nádorové DNA

Souprava pro detekci tumoru: **BAT-26 v stolici**
(PreGen 26)

↓
pozitivní u > 90% HPNC



REZISTENCE vůči CHEMOTERAPII

Genová amplifikace dihydrofolátreduktasy (DHFR):

Je navozena jejím inhibítorem – **methotrexátem** (přežívající nádorové buňky **amplifikují gen DHFR až 1000násobné kopie** – nikoliv buňky normální)

Amplifikace genu multidrug-transport protein neboli **P170**

Je to **transmembránový fosfoprotein (ATP-pumpa)**:
vytlačuje hydrofobní toxické látky z buňky ven
(Je normálně v hepatocytech, enterocytech, renálních tubulech – součást **ABC-transporterů** ATP-binding cassette transporter)

Molekulárně genetické vyšetření při léčení neuroblastomu

Rezistence vůči chemoterapii

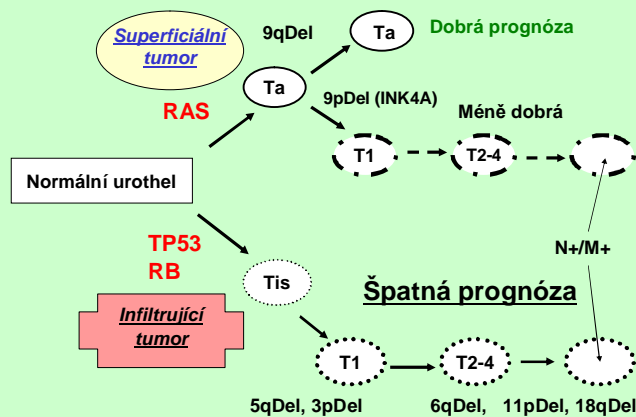
- multidrug-resistance protein (MRP)
- LRP, glutathion-S-transferasa
- topoisomerasa, thymidylátsynthasa, metalothionein
- zvýšená exprese **bcl-2**

Diferenciace primitivního neuroblastu na zralou gangliovou buňku **nervovým růstovým faktorem (NGF)** (také jako TrkA-receptor)

Neuroblastom → ganglioneurom (benignější)

Insulinový růstový faktor 2 (IGF-2) (nezralejší)
neu (ErB-2) onkoprotein (nezralejší)

Vývoj molekulových markerů urothelkarcinomu



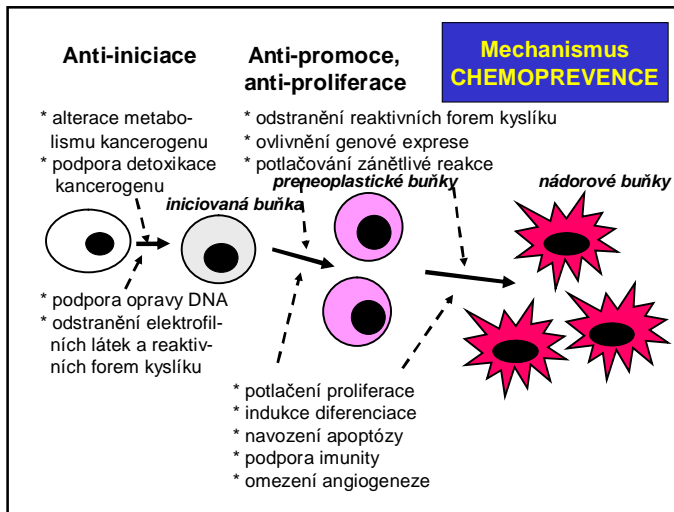
CHEMOPREVENENCE

VITAMINY: folát, vitamin E, D (membránové receptory)

MINERÁLY: Ca, Se (selenomethionin)

Látky z rostlin: diallylsulfid (setrvání v G-fázi), kurkumin, genistein (ze sóje: potlačuje ca-prostaty), indol-3-karbinol; isoflavonony, lykopen, polyfenon E

Syntetické látky: raloxifen, 9-cis-retinová kys., (selektivní inhibitory estrogenních receptorů), inhibitory COX 2



HERCEPTIN (trastuzumab)
 Humanizovaná monoklonální protilátka proti proteinu 2 receptoru epidermálního růstového faktoru - Her-2/neu (c-erbB2) nadměrně exprimovaného (nádorová amplifikace genu) u některých epitelových nádorů (25 % karcinom prsu)
 Možné úspěšné léčení metastazujících karcinomů prsu (neopovídajících na antiestrogenovou terapii)
 Nutno dříve prokázat přítomnost HER-2 při biopsii nádoru a pak aplikovat Heceptin

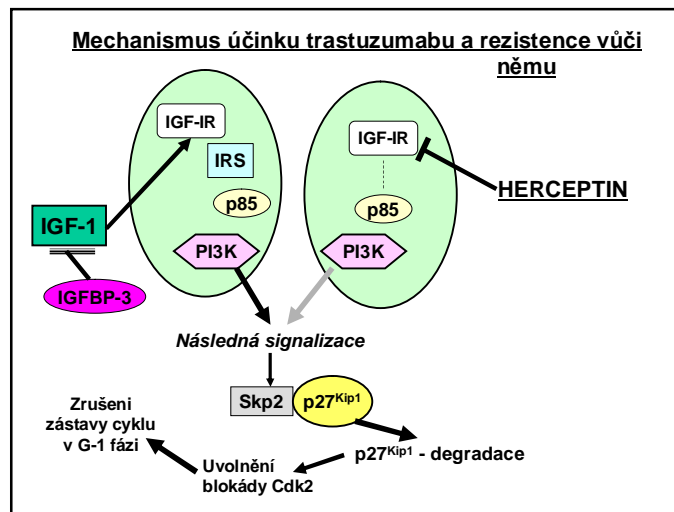
Mechanismus účinku Herceptinu

Signální dráha epidermálního růstového faktoru **HER2/neu** redukuje hladinu **p27^{Kip1}** navozením jeho degradace ubikvitinací; to navozuje uvolnění Cdk2 (cyklin-dependentní kinasy2) a aktivaci cyklu buněčného dělení (=nádorová proliferace při nadměrné expresi)

Trastuzumab (Herceptin) působením na receptor (**HER2/neu-R**) zvyšuje hladinu inhibitoru **p27^{Kip1}** podporuje jeho asociaci s cyklindependentní kinasou **Cdk2**, čímž inhibuje aktivitu této kinasu a způsobuje **zástavu cyklu v G-1 fázi** (a brání tak nádorové proliferaci).

Pozdější **rezistence nádorových buněk** na Heceptin se vysvětluje **nadměrnou expresí Skp2 (= ubikvitin-ligasa)**, (která je nutná pro průběh ubikvitinace **p27^{Kip1}**) **adaptovanými nádorovými buňkami**; neodstraněný **p27^{Kip1}** pak neblokuje aktivitu Cdk2 a nádorové buňky se mohou dále dělit (Podpořeno experimentem *in vitro* pomocí IGF-1, který má účinek „anti-trastuzumabový“)

Signální dráha realizující účinek HER2/neu i IGF-1 se děje prostřednictvím signalizace PI3K (fosfoinositid-3-kinasy); amplifikace genu PI3K nebo delece genu pro PTEN (specifická fosfatasa), nalázané u řady karcinomů, způsobují deregulaci buněčného cyklu



LÉKY ve zkoušení (na bázi molekulové patologie)

LymphoRad-131: *humanizovaná monoklonální protilátka nesoucí radionuklid (Jod-131) blokuje receptor stimulatoru B-lymfocytů (nepůsobí na prekurzory B-buněk) – inhibuje myelom*

TRAIL-1 R Mab: *humaniz. monokl. protilátka ; tumory s tímto receptorem zanikají na apoptózu*

Inhibitory Bcl-2 a Bcl-X: *podporují apoptózu nádorových buněk (non-Hodgkinský lymfom)*

„Osobní vakcína“: *vůči proteinu tepl. šoku (HSP70) + imanitib mesylát působí jako „fingerprint“ tumorových buněk pacienta – chronické myeloidní leukemie*

ZDRAVÍ je CENA, kterou platíme za ŽIVOT

„Na samém začátku vzniku života jedince je progresse buněčného dělení nutným předpokladem vývoje jedince, později může být příčinou jeho záhuby“

Molekulová patobiochemie dává možnost tento proces ovlivnit