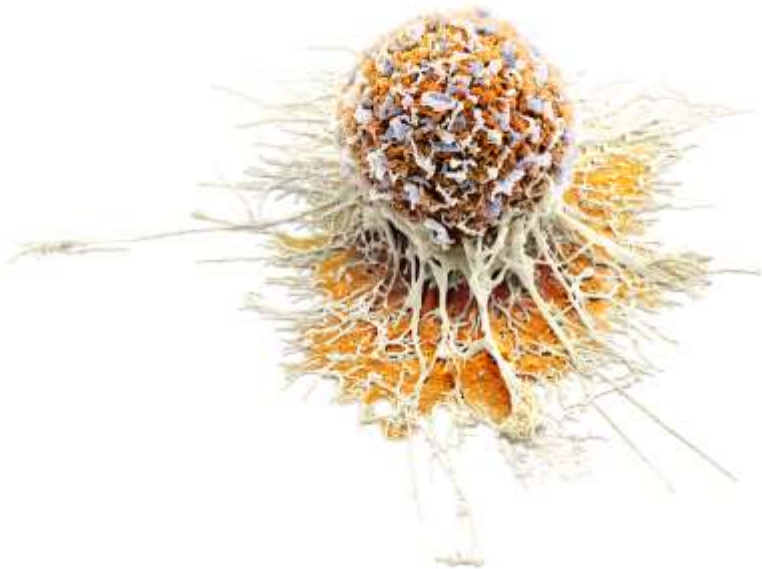


Cytostatika – mechanismus účinku, terapie a rezistence

~~Cytostatika – mechanismus účinku, terapie a rezistence~~

Látky s protinádorovým účinkem



Jiří Petrák
BIOCEV, 1. LF UK
jpetr@lf1.cuni.cz

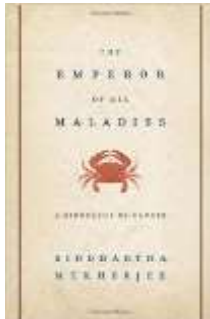
Cytostatika – mechanismus účinku, terapie a rezistence

- Nádory, nádorové buňky a terapie
- **Klasická cytostatika**
 - Genotoxické látky
 - Alkylační činidla a deriváty platiny
 - Interkalační látky
 - Inhibitory topoizomeráz
 - Látky způsobující rozštěpení DNA
 - Antimetabolity
 - Antimitotika
 - Inhibitory syntézy a degradace proteinů
 - Epigentická cytostatika
 - Hormonální terapie
 - Diferenciační a fotodynamická terapie
- **Cílená a biologická terapie**
 - Inhibitory tyrozinkináz
 - Inhibitory mTOR
 - Inhibitory proteinů bez kinázové aktivity
 - Terapeutické protilátky a konjugáty
 - Vakcíny
 - CAR-T, buněčná terapie
 - další....
- **Mechanismy rezistence nádorových buněk na terapii**

Studijní materiály

Podklady k přednáškám (slides + literatura):

<http://biocev.lf1.cuni.cz/vyuka>



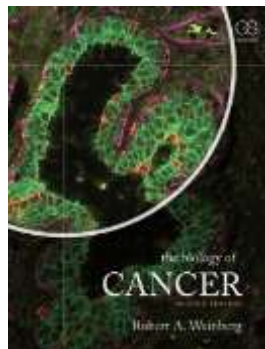
The Emperor of All Maladies: A Biography of Cancer

Siddhartha Mukherjee

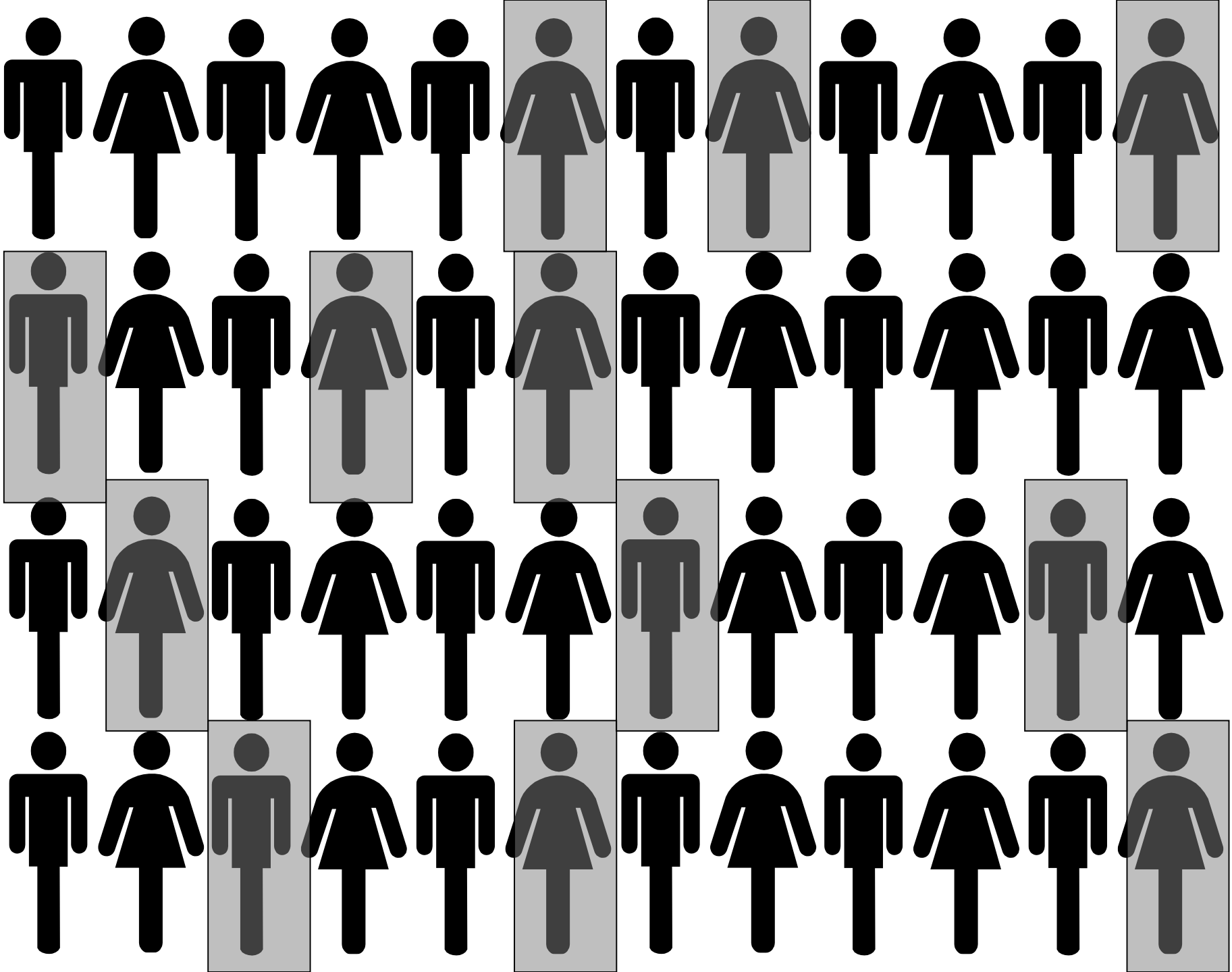
The Biology of Cancer (R. Weinberg) - Nádorová biologie

Principy systémové nádorové léčby (Klener a Klener)- Grada

Nová protinádorová léčiva a léčebné strategie v onkologii (Klener a Klener) - Grada







Pořadí nejčastějších příčin smrti

- | | |
|----------------------------|------------|
| 1. nemoci oběhové soustavy | 53% |
| 2. nádory | 26% |
| 3. poranění, otravy | 6% |
| 4. nemoci dýchací soustavy | 4% |
| 5. nemoci trávicí soustavy | 4% |
| 6. ostatní | |

Nejčastější typy nádorů (ČR, 2015)



Nejčastější typy

1. *Nádory kůže*
2. **Nádory prostaty (1/7)**
3. **Kolorektální nádory**
4. **Nádory plic**



Nejčastější typy

1. *Nádory kůže*
2. **Karcinom prsu (1/8)**
3. **Kolorektální nádory**
4. **Nádory plic**

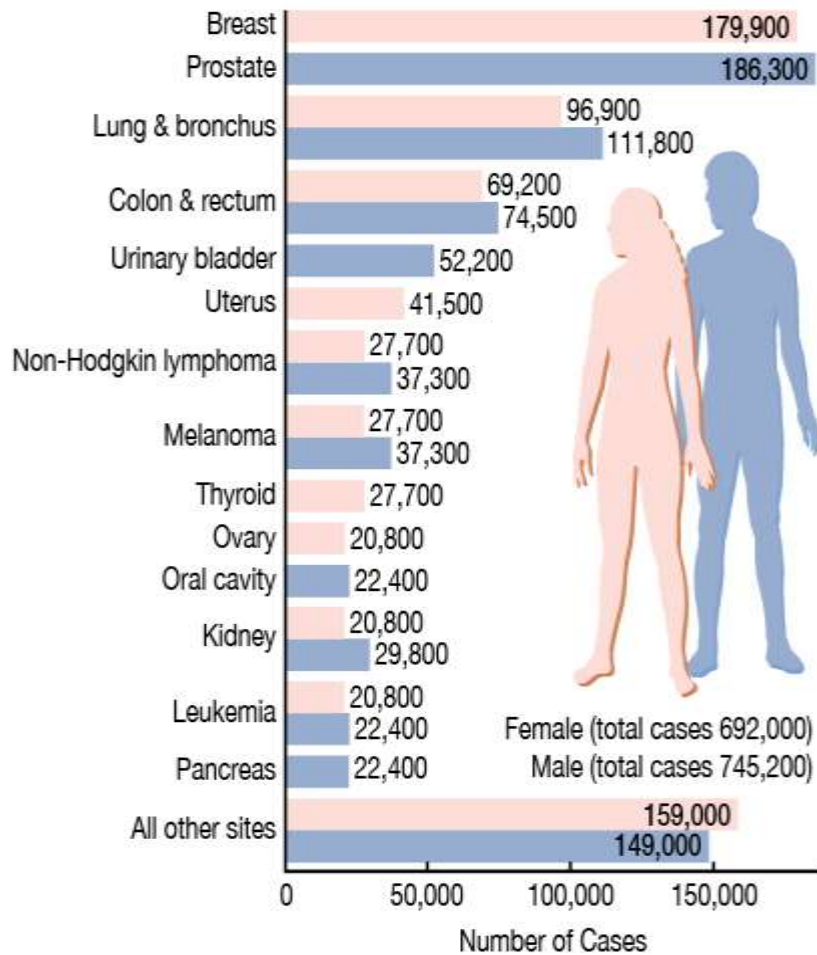
Incidence – počet nově zjištěných případů daného onemocnění za sledované období (rok) ve sledované populaci (100 000)

Prevalence – počet pacientů žijících s daným onemocněním.

Mortalita – počet pacientů zemřelých na dané onemocnění během sledovaného období

Cancer Incidence and Mortality in the United States*

New Cancer Cases per Year



Cancer Deaths per Year

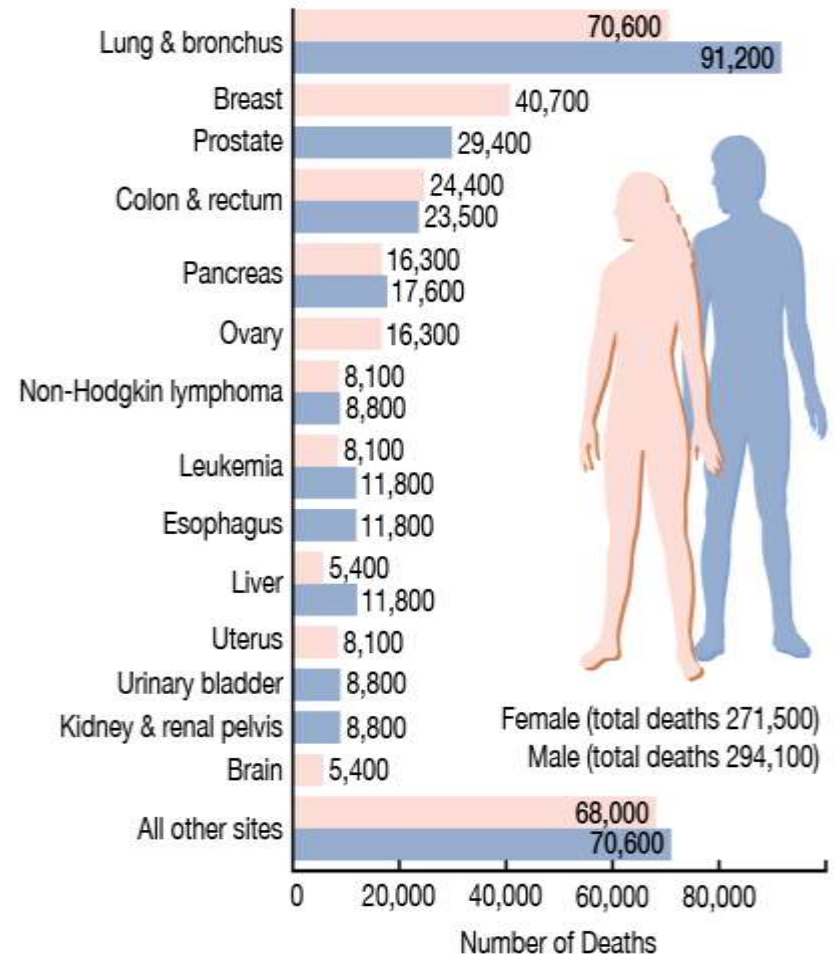
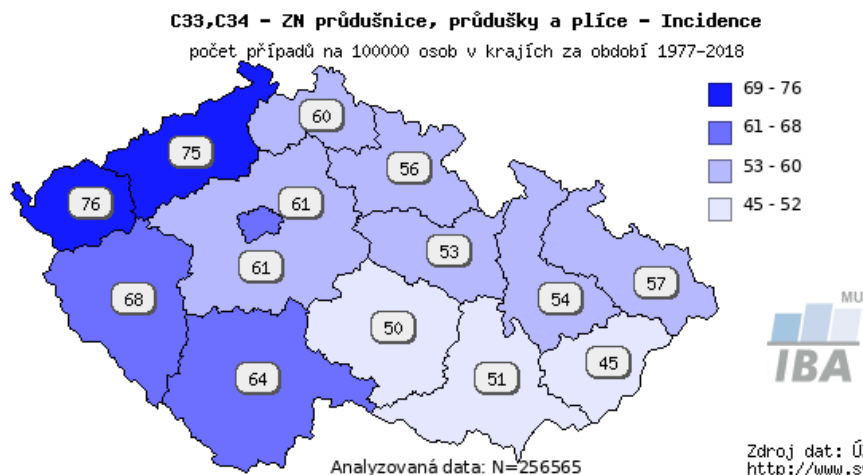
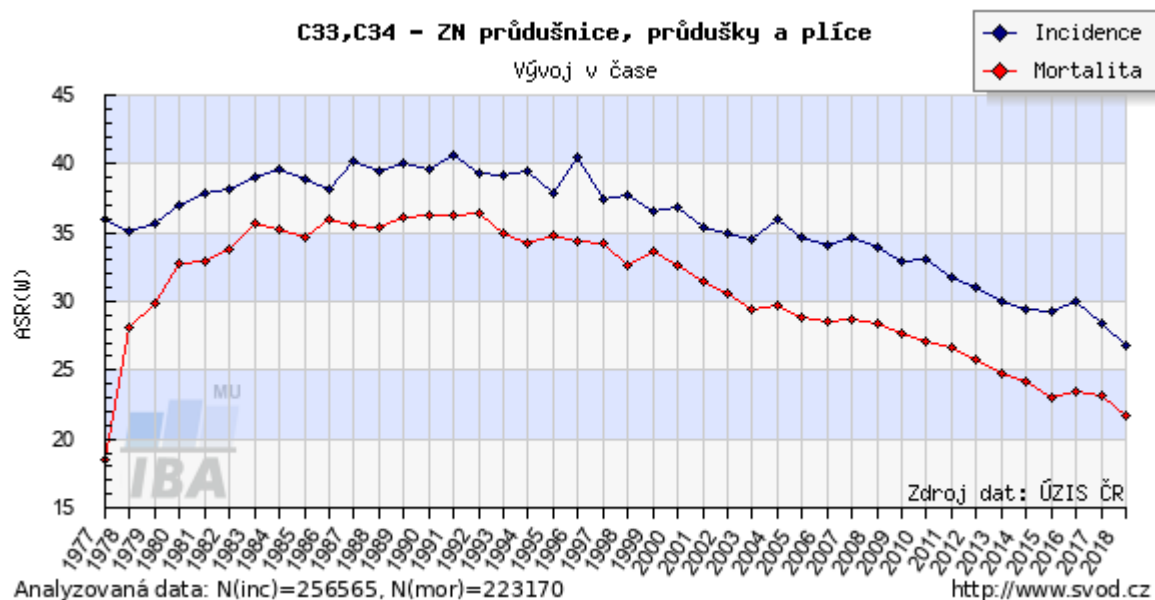


Table 4

Most common leading types of cancer in terms of new cases (i) and deaths (m) in each of the European countries in 2012.

	First		Second				Third						
	Males		Females		Males		Females		Males		Females		
	i	m	i	m	i	m	i	m	i	m	i	m	
Europe	Prostate	Lung	Breast	Breast	Lung	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Prostate	Lung	Lung
EU-27	Prostate	Lung	Breast	Breast	Lung	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Lung	Colorectum	Prostate	Lung	Colorectum
Albania	Lung	Lung	Breast	Lung	Stomach	Stomach	Lung	Breast	Prostate	Prostate	Stomach	Stomach	
Austria	Prostate	Lung	Breast	Breast	Lung	Colorectum	Colorectum	Lung	Colorectum	Prostate	Lung	Colorectum	
Belarus	Lung	Lung	Breast	Breast	Prostate	Stomach	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Corpus uteri	Stomach	
Belgium	Prostate	Lung	Breast	Breast	Lung	Prostate	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Lung	Lung	
Bosnia Herzegovina	Lung	Lung	Breast	Breast	Prostate	Colorectum	Colorectum	Lung	Colorectum	Prostate	Lung	Colorectum	
Bulgaria	Lung	Lung	Breast	Breast	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Prostate	Prostate	Corpus uteri	Lung	
Croatia	Lung	Lung	Breast	Breast	Prostate	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Prostate	Lung	Lung	
Cyprus	Prostate	Lung	Breast	Breast	Colorectum	Prostate	Colorectum	Colorectum	Lung	Colorectum	Thyroid	Lung	
Czech Republic	Prostate	Lung	Breast	Breast	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Lung	Lung	Prostate	Lung	Colorectum	
Denmark	Prostate	Lung	Breast	Lung	Colorectum	Prostate	Colorectum	Breast	Lung	Colorectum	Lung	Colorectum	
Estonia	Prostate	Lung	Breast	Colorectum	Lung	Prostate	Colorectum	Breast	Colorectum	Colorectum	Corpus uteri	Lung	
Finland	Prostate	Lung	Breast	Breast	Lung	Prostate	Colorectum	Lung	Colorectum	Colorectum	Corpus uteri	Colorectum	
France	Prostate	Lung	Breast	Breast	Lung	Colorectum	Colorectum	Lung	Colorectum	Prostate	Lung	Colorectum	
Germany	Prostate	Lung	Breast	Breast	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Lung	Lung	Prostate	Lung	Colorectum	
Greece	Lung	Lung	Breast	Breast	Prostate	Prostate	Colorectum	Colorectum	Bladder	Colorectum	Lung	Lung	
Hungary	Lung	Lung	Breast	Lung	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Prostate	Oral cavity, pharynx	Lung	Breast	
Iceland	Prostate	Lung	Breast	Lung	Lung	Prostate	Lung	Breast	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	
Ireland	Prostate	Lung	Breast	Lung	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Breast	Lung	Prostate	Lung	Colorectum	
Italy	Prostate	Lung	Breast	Breast	Lung	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Prostate	Lung	Lung	
Latvia	Prostate	Lung	Breast	Breast	Lung	Prostate	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Corpus uteri	Ovary	
Lithuania	Prostate	Lung	Breast	Breast	Lung	Prostate	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Cervix uteri	Ovary	
Luxembourg	Prostate	Lung	Breast	Lung	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Breast	Lung	Prostate	Corpus uteri	Colorectum	
FYR Macedonia	Lung	Lung	Breast	Breast	Prostate	Stomach	Corpus uteri	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Lung	
Malta	Prostate	Lung	Breast	Breast	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Lung	Prostate	Corpus uteri	Ovary	
Moldova	Lung	Lung	Breast	Breast	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Prostate	Stomach	Cervix uteri	Cervix uteri	
Montenegro	Lung	Lung	Breast	Breast	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Lung	Prostate	Prostate	Lung	Colorectum	
Norway	Prostate	Lung	Breast	Lung	Colorectum	Prostate	Colorectum	Colorectum	Lung	Colorectum	Lung	Breast	
Poland	Lung	Lung	Breast	Lung	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Breast	Prostate	Prostate	Lung	Colorectum	
Portugal	Prostate	Lung	Breast	Breast	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Lung	Prostate	Corpus uteri	Stomach	
Romania	Lung	Lung	Breast	Breast	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Prostate	Stomach	Cervix uteri	Lung	
Russian Federation	Lung	Lung	Breast	Breast	Prostate	Stomach	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Corpus uteri	Stomach	
Serbia	Lung	Lung	Breast	Breast	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Lung	Prostate	Prostate	Lung	Colorectum	
Slovakia	Colorectum	Lung	Breast	Breast	Prostate	Colorectum	Colorectum	Colorectum	Lung	Oral cavity, pharynx	Corpus uteri	Lung	
Slovenia	Prostate	Lung	Breast	Breast	Lung	Colo							
Spain	Prostate	Lung	Breast	Breast	Lung	Colo							
Sweden	Prostate	Prostate	Breast	Lung	Colorectum	Lung	Colorectum	Breast	Lung	Colorectum	Lung	Colorectum	
Switzerland	Prostate	Lung	Breast	Lung	Colorectum	Prostate	Colorectum	Breast	Lung	Colorectum	Lung	Colorectum	

Incidence a Mortalita – Zhoubné nádory plic a průdušek



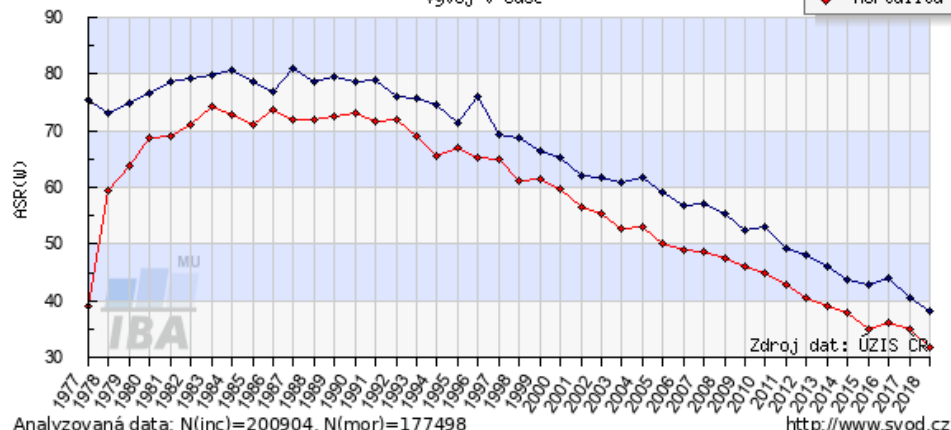
Incidence a Mortalita – Zhoubné nádory plic a průdušek



C33,C34 - ZN průdušnice, průdušky a plic, muži

Vývoj v čase

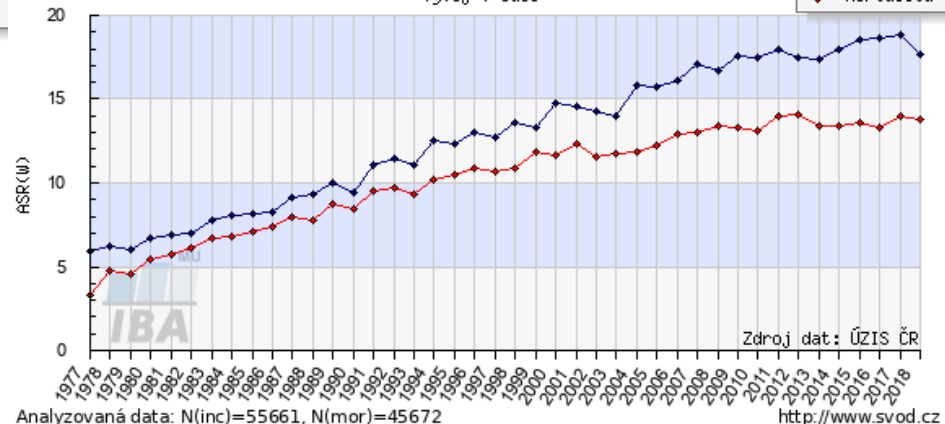
◆ Incidence
◆ Mortalita



C33,C34 - ZN průdušnice, průdušky a plic, ženy

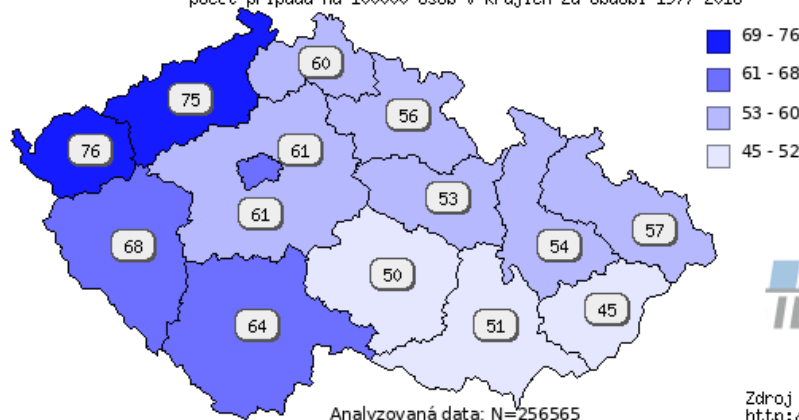
Vývoj v čase

◆ Incidence
◆ Mortalita



C33,C34 - ZN průdušnice, průdušky a plic - Incidence

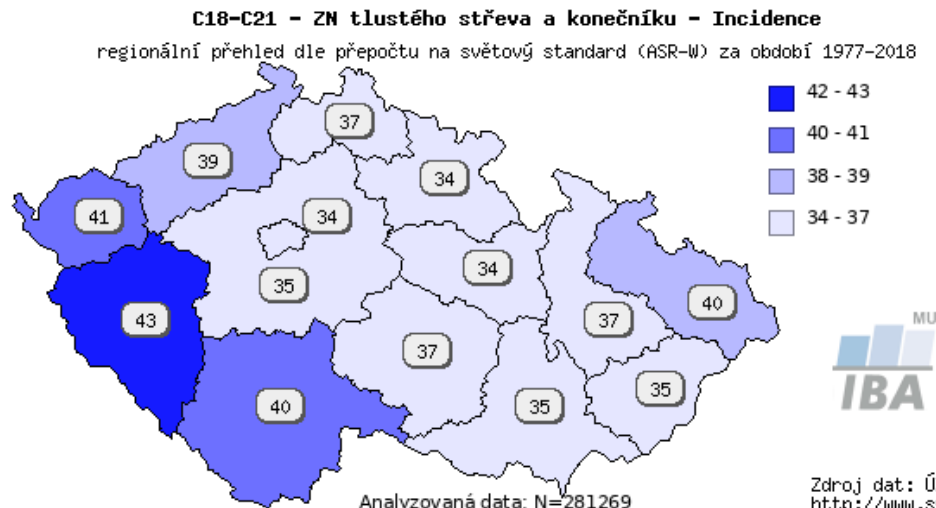
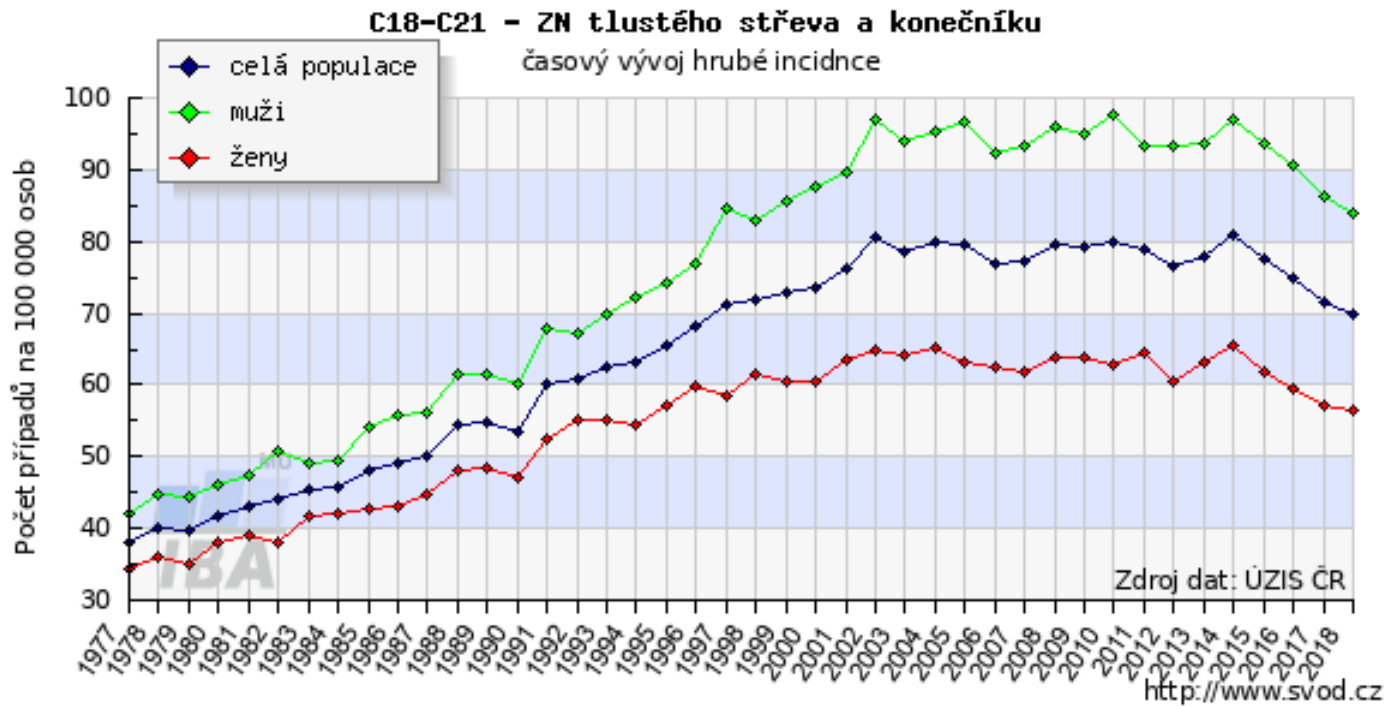
počet případů na 100000 osob v krajích za období 1977-2018



Zdroj dat: ÚZIS ČR
<http://www.svod.cz>

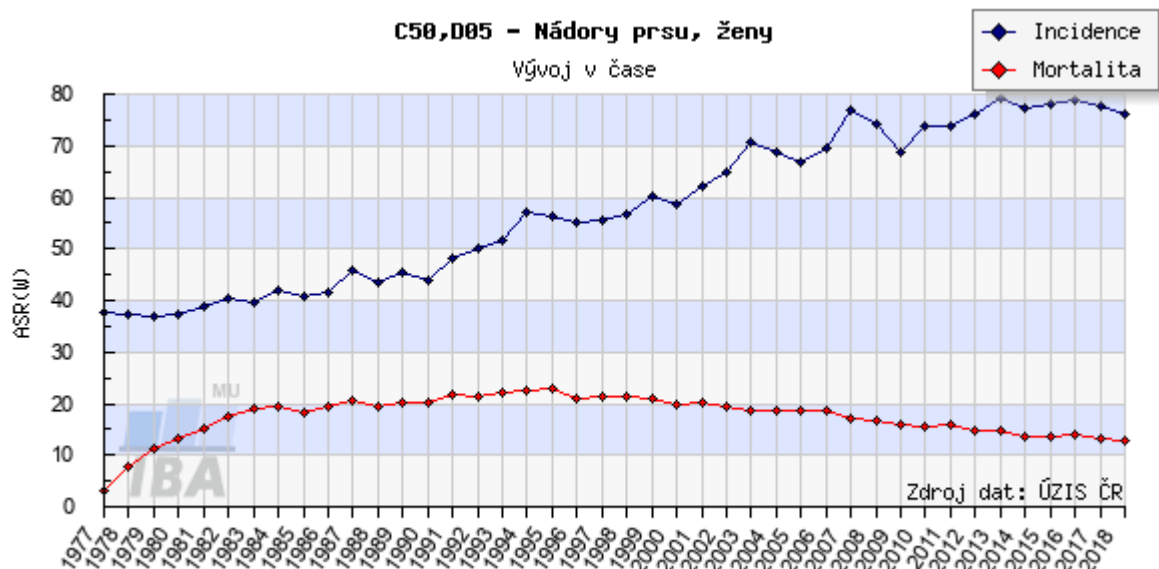
www.svod.cz

Incidence nádorů tlustého střeva v ČR



C50,D05 - Nádory prsu, ženy

Vývoj v čase

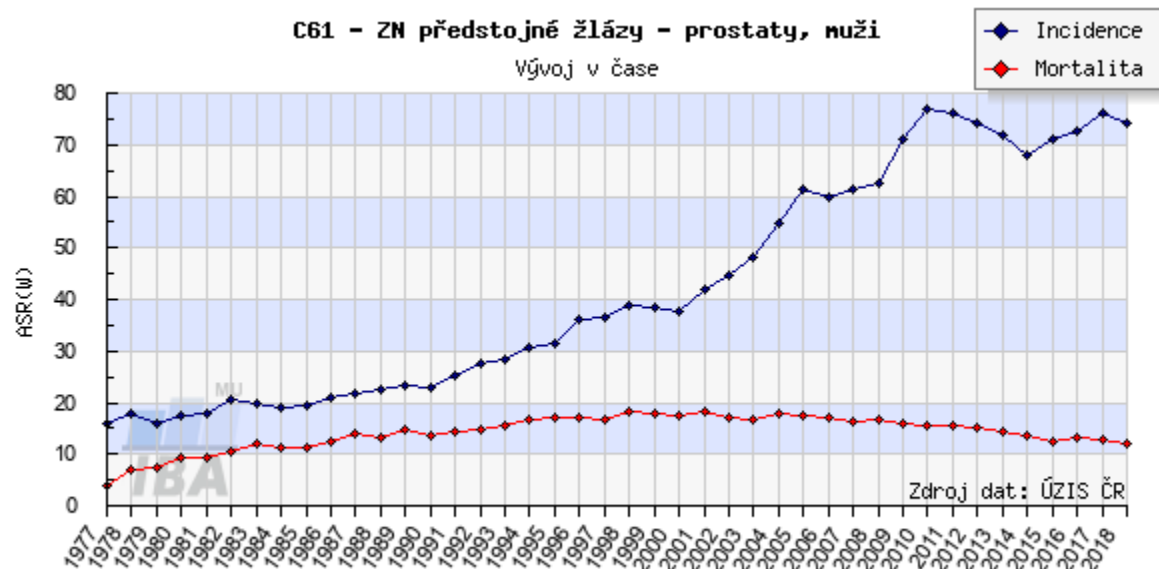


Analyzovaná data: N(inc)=216233, N(mor)=75974

<http://www.svod.cz>

C61 - ZN předstojné žlázy - prostaty, muži

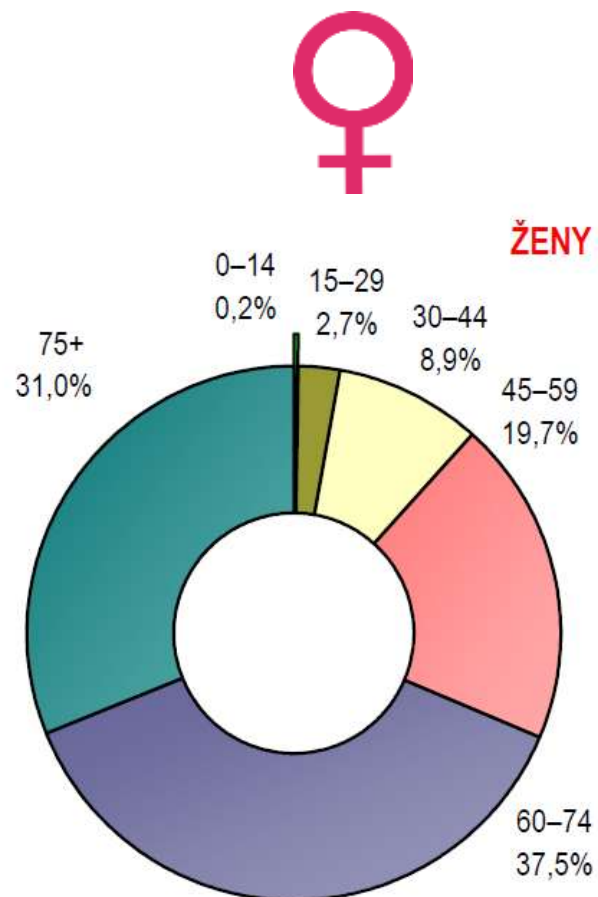
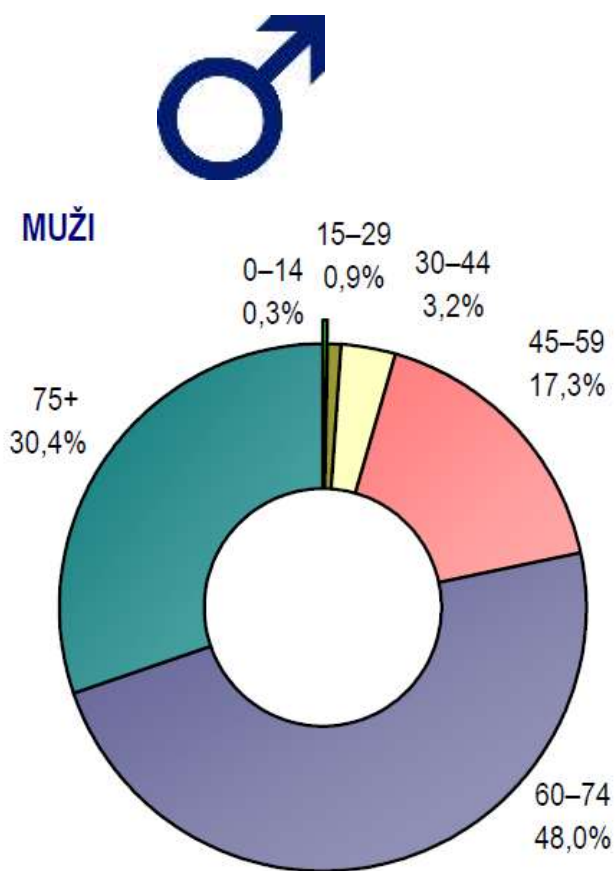
Vývoj v čase



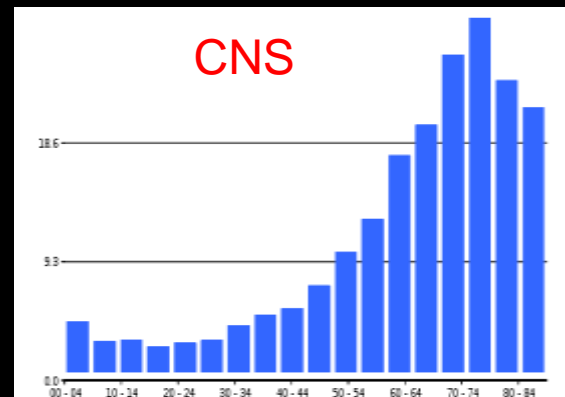
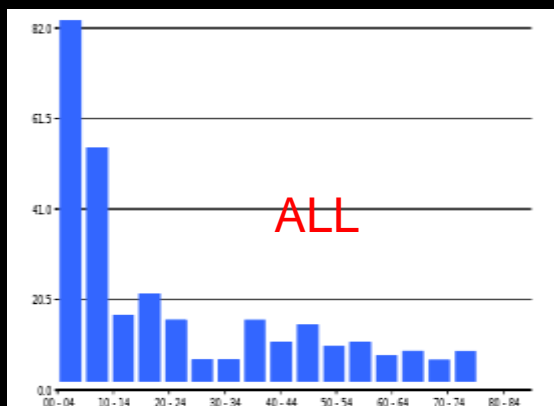
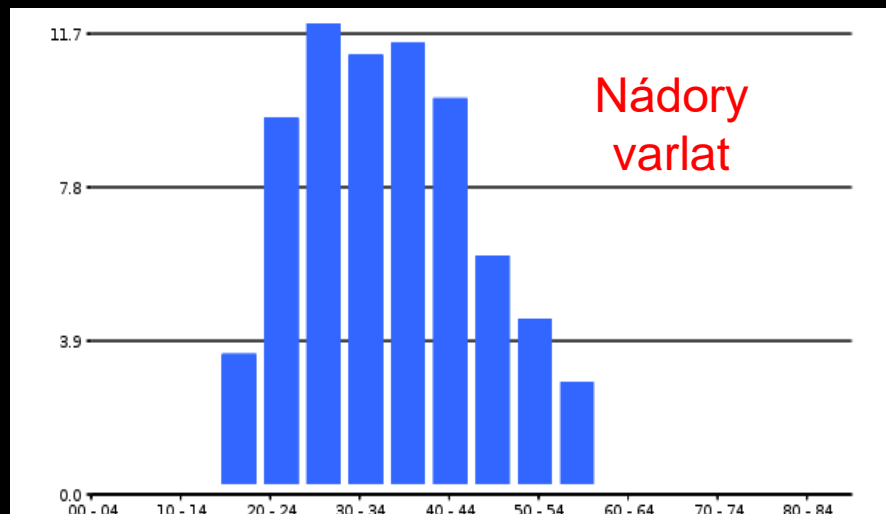
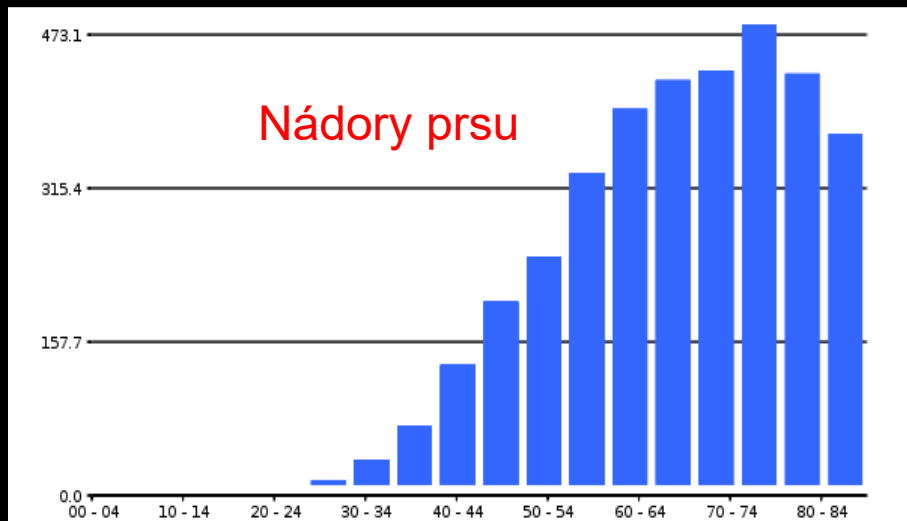
Analyzovaná data: N(inc)=151111, N(mor)=50464

<http://www.svod.cz>

Věková struktura nově hlášených nádorových onemocnění



Výskyt nádorů a věk



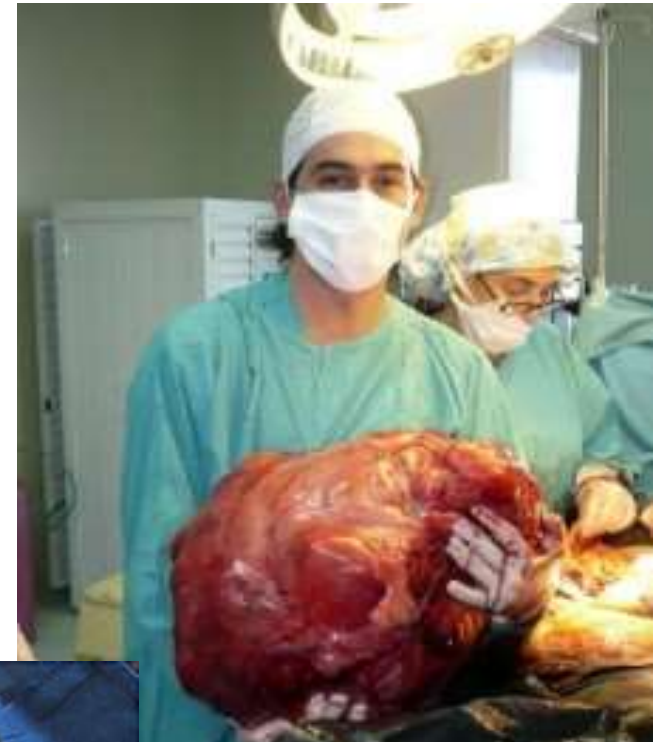
Kompletní info o epidemiologii nádorových onemocnění:

www.svod.cz

Portál epidemiologie zhoubných nádorů v ČR

(ÚZIS -Ústav zdravotnických informací a statistiky)

Co to je nádor?



Nádor

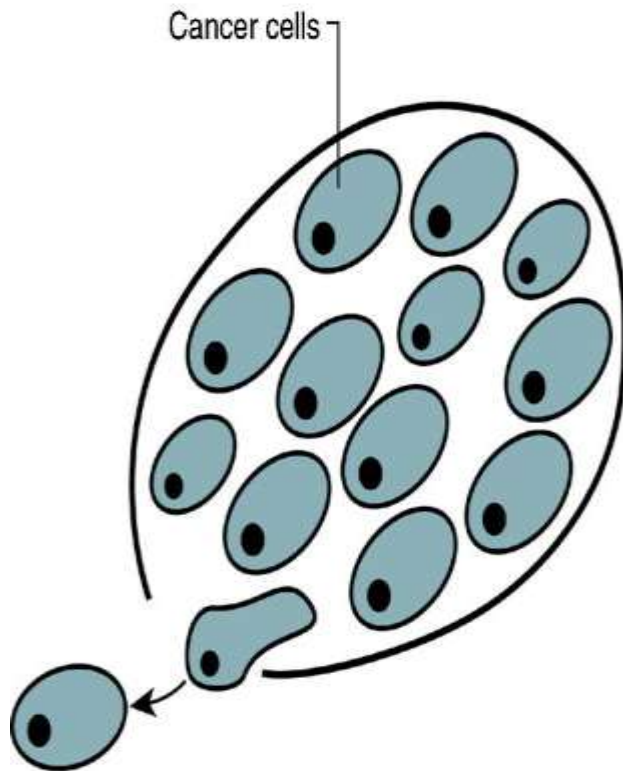
....abnormální, rychle rostoucí tkáň bez fyziologického významu, proliferující bez kontroly organismu....

Nádory benigni (nezhoubné) vs. **nádory maligní (zhoubné)**

....se schopností invaze do jiných(nesousedících) lokalit (**metastáze**) zpravidla krví nebo lymfou

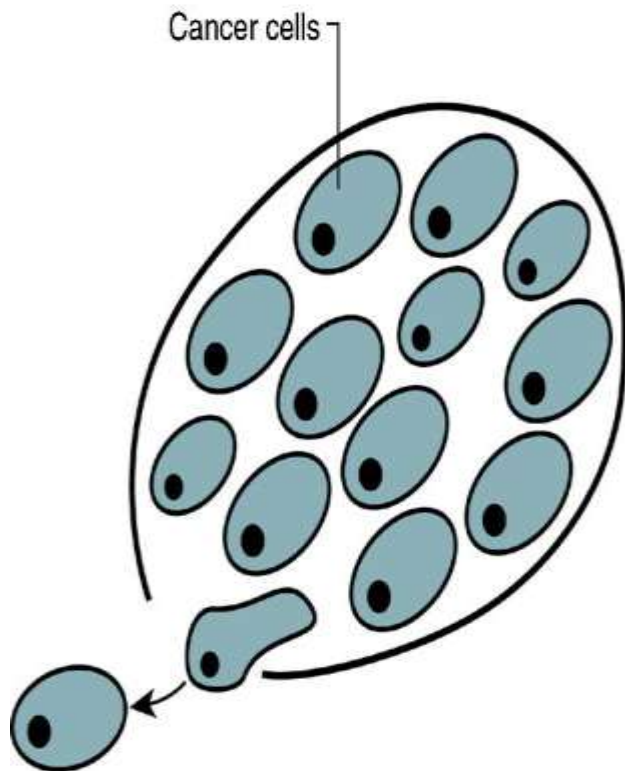
Maligní nádor

The Reductionist View

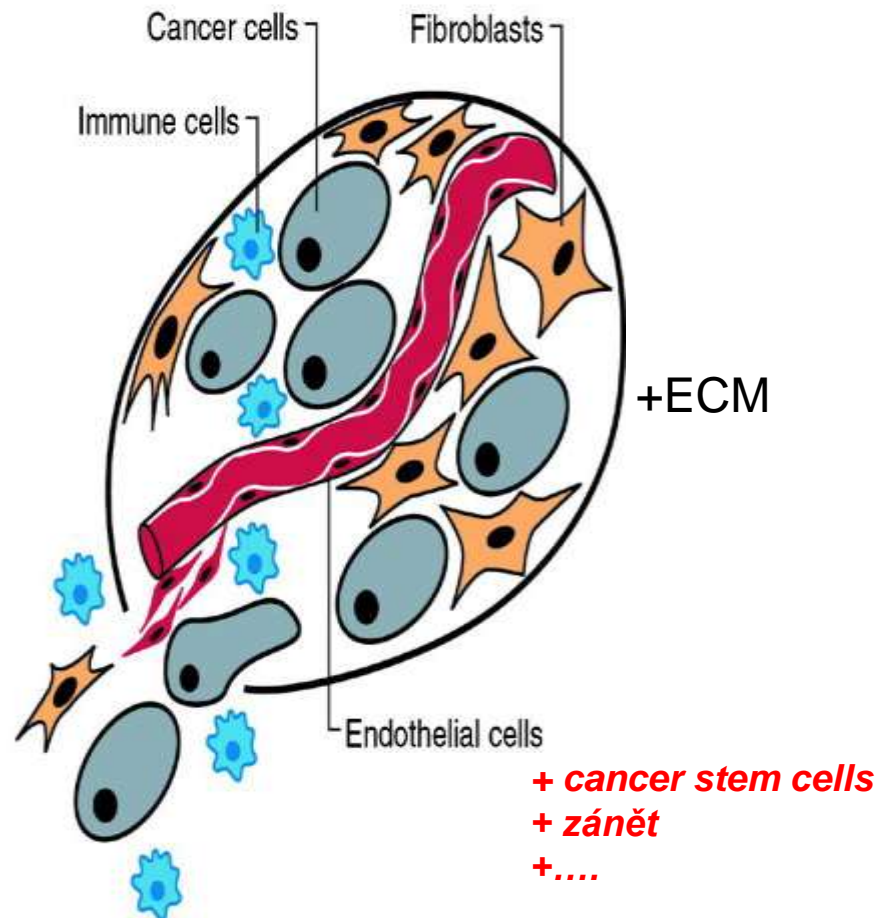


Maligní nádor

The Reductionist View



A Heterotypic Cell Biology



Rozdělení maligních nádorů dle původu nádorových buněk

- 1) nádory ektodermálního původu
z epitelů **karcinomy**
- 2) neuroektodermální nádory
(nádory nervů, CNS a melanocytů)
neuroblastom, retinoblastom, melanom
- 3) nádor z neepiteliálních (mesenchymálních) tkání (nádory vaziva, chrupavky, kostí, cév, svalů a krevních buněk)
sarkomy
leukémie, lymfomy a myelomy
- 4) smíšené nádory původem z pluripotentních buněk, tvoří ho buňky se znaky tkání různého původu (ektoderm, mezoderm, endoderm)
teratomy

Rozdělení maligních nádorů dle původu nádorových buněk

Typ buněk	název
epitel (<i>krycí</i>)	karcinom
- <i>Žlázový epitel</i>	adeno-karcinom
mezenchym	
<i>krevní buňky.</i>	leukémie, lymfom, myelom
<i>cévy</i>	angio -sarkom
<i>hladký sval</i>	leiomyo -sarkom
<i>kosterní sval</i>	rhabdomyo -sarkom
<i>kost</i>	osteo -sarkom
<i>tuk</i>	lipo -sarkom

Klasifikace solidních nádorů (bez leukemií a lymfomů)

Typing – Udává přesný **typ tkáně**, ze které nádor pochází (např. nádor vycházející ze sliznice žaludku z určitého typu jejích buněk). Je určen na základě **histologického vyšetření** nádoru.

Grading – Grading určuje **vyzrálост nádoru**. Čím vyšší má nádor grading, tím méně je podobný tkáni, ze které vychází, a tím je zhoubnější. Grading vychází **z histologického vyšetření** vzorku nádoru.

Staging – Udává **rozšíření nádorového procesu v těle**. U klasických nádorů (nikoliv u leukemií a lymfomů) se používá tzv. **TNM klasifikace** na základě různých vyšetření. Liší se pro jednotlivé typy nádorů

- T - (tumor)** - určuje rozsah nádoru (velikost, kam prorůstá)(T1-T4)
- N -(node)** - určuje, zda a jak moc jsou postiženy metastázami místní lymfatické uzliny. (N0-N4)
- ;
- M -(metastázy)** - určuje, zda jsou přítomné vzdálené metastázy v játrech, plicích, mozku, kostech apod. M0 (metastázy nepřítomny) nebo M1 (metastázy přítomny).

Vznik nádoru

Nádor je klonální onemocnění

- Nádor pochází z jedné nádorově transformované buňky, postupně se však rozrůžňuje
- Nádorová transformace normální buňky je způsobena několika genetickými (aberracemi, mutacemi) nebo epigenetickými změnami vedoucími k **aktivaci protoonkogenů/inaktivaci tumorsupresorů**

„Gain of function“ mutace v protoonkogenu

Typické proto-onkogeny:

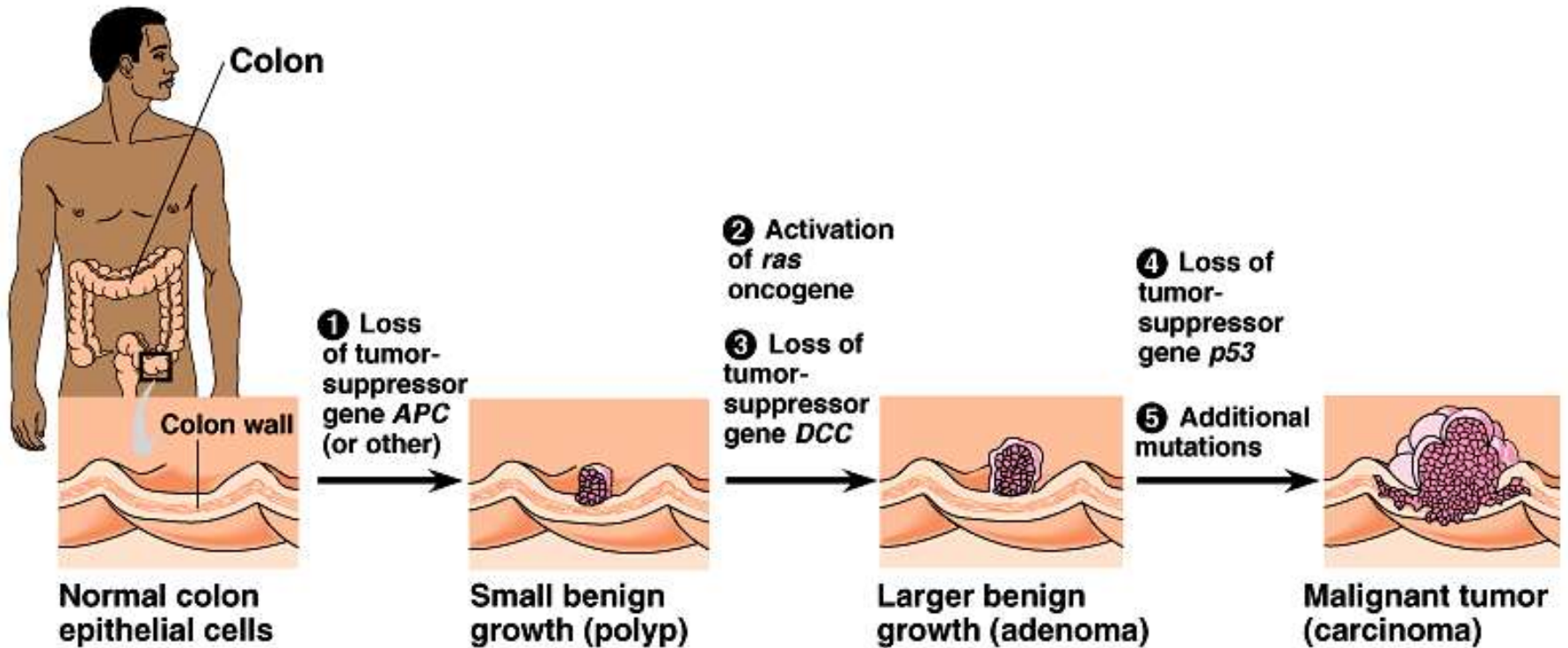
Růstové faktory a jejich receptory
Proteiny signální transdukce a TF
Regulátory buněčného cyklu

Gene	Associated tumor	Mechanism
abl	CML	9;22 translocation
bcl-2	Follicular and undifferentiated lymphomas	14;18 translocation
Cyclin D1	Mantle cell lymphomas	11;14 translocation
C-myc	Burkitt's lymphoma	8;14 translocation
L-myc	Lung tumor	amplification
N-myc	Neuroblastoma	amplification
erb-B2	Breast, ovarian, and gastric carcinomas	amplification
CDK4	Melanoma	amplification
ret	Multiple endocrine neoplasia II and III	point mutation
c-kit	Gastrointestinal stromal tumor (GIST)	point mutation
ras	Colon carcinoma	point mutation

„Loss of function“ mutace v tumorsupresoru

Ztráta funkce kontrolních „gatekeeper“ proteinů (tumor-supresorů)

Gene	Associated tumor	Chromosome
APC	Colorectal cancer (associated with FAP)	5
p16	Melanoma	9
WT1	Wilms' tumor	11
Rb	Retinoblastoma, osteosarcoma	13
BRCA2	Breast cancer	13
NF1	Neurofibromatosis type 1	17
BRCA1	Breast and ovarian cancer	17
p53	Most human cancers, Li-Fraumeni syndrome	17
DPC	Pancreatic cancer (stands for deleted in pancreatic cancer)	18
DCC	Colon cancer (stands for deleted in colon cancer)	18
NF2	Neurofibromatosis type 2	22

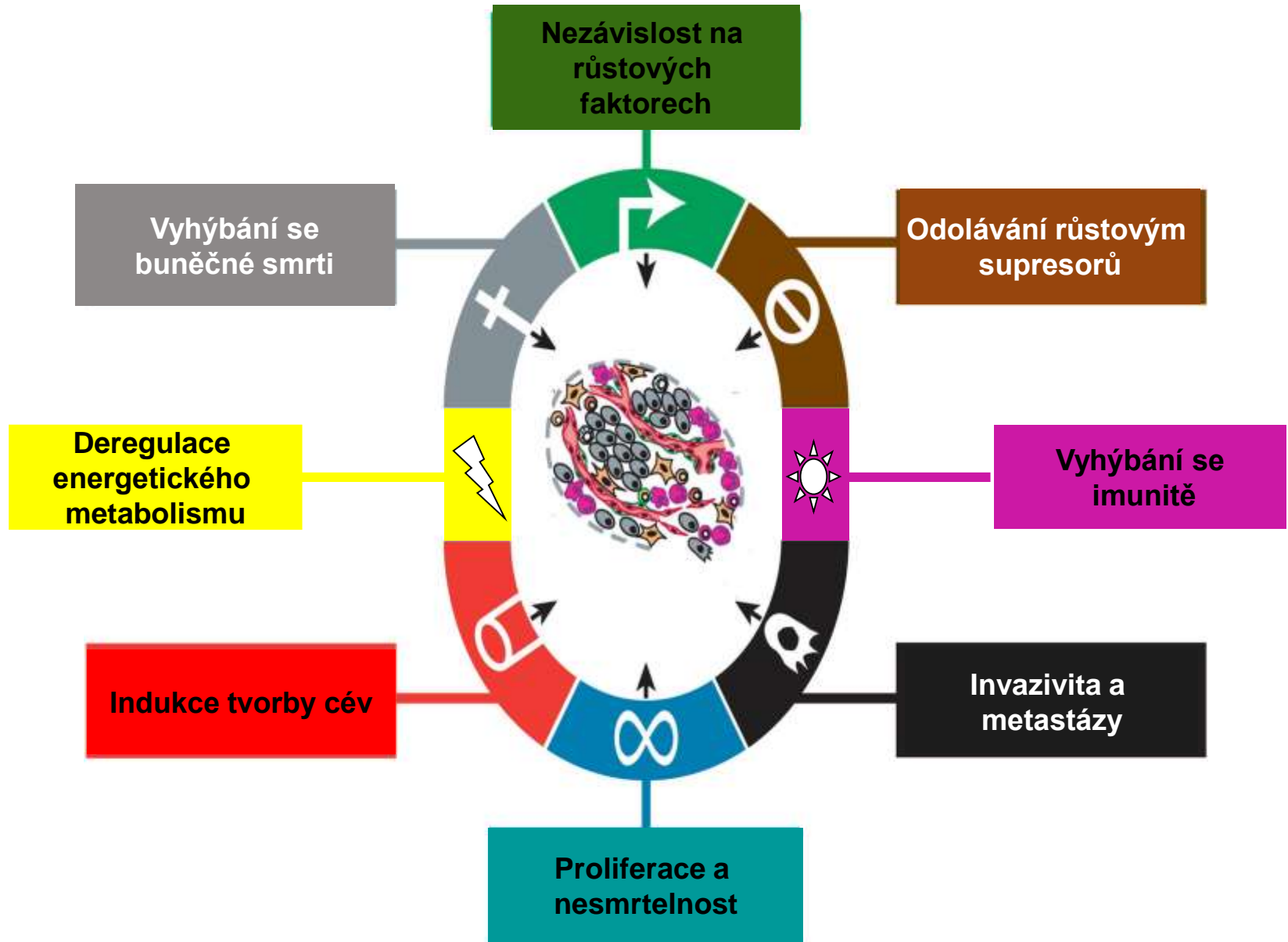


Vznik nádoru

Nádor je klonální onemocnění

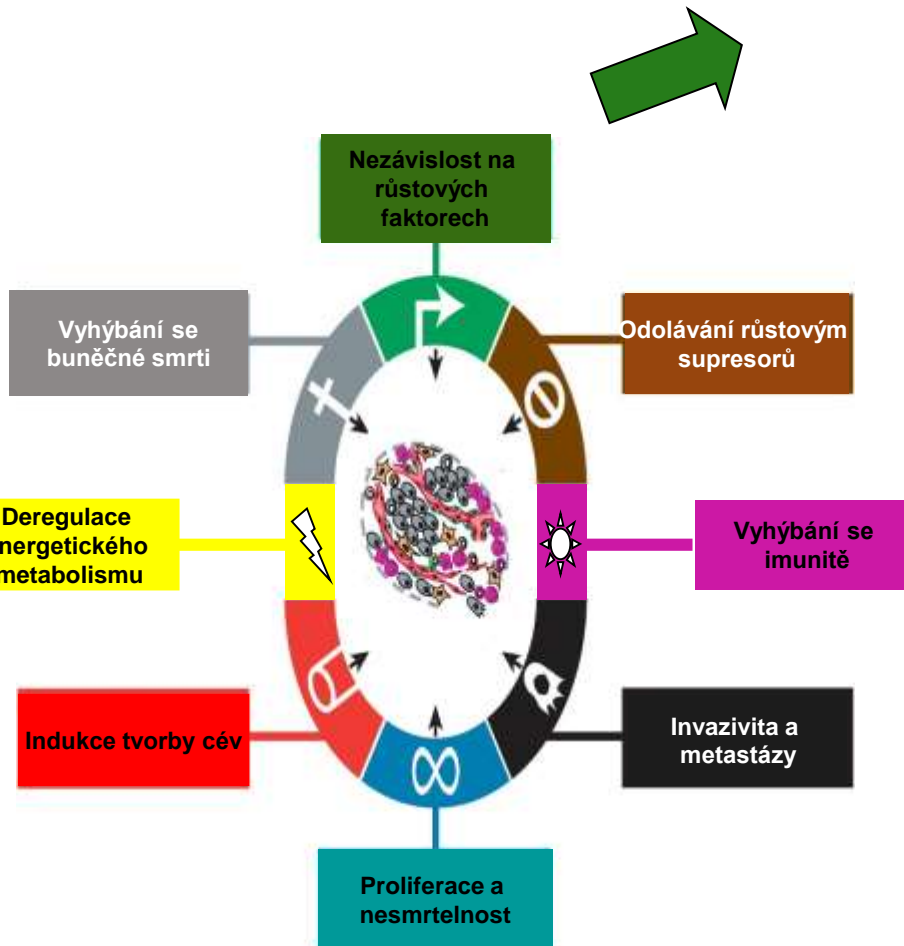
- Nádor pochází z jedné nádorově transformované buňky, postupně se však rozrůzňuje
- Nádorová transformace normální buňky je způsobena několika genetickými (aberracemi, mutacemi) nebo epigenetickými změnami vedoucími k **aktivaci protoonkogenů**
- **Výsledkem mutací a epigenetických změn je získ specifických vlastností**, které nádorovým buňkám poskytují různé selektivní výhody oproti zdravým okolním buňkám.

8 charakteristických vlastností nádorových buněk



Nezávislost na růstových faktorech – udržování stálé proliferace

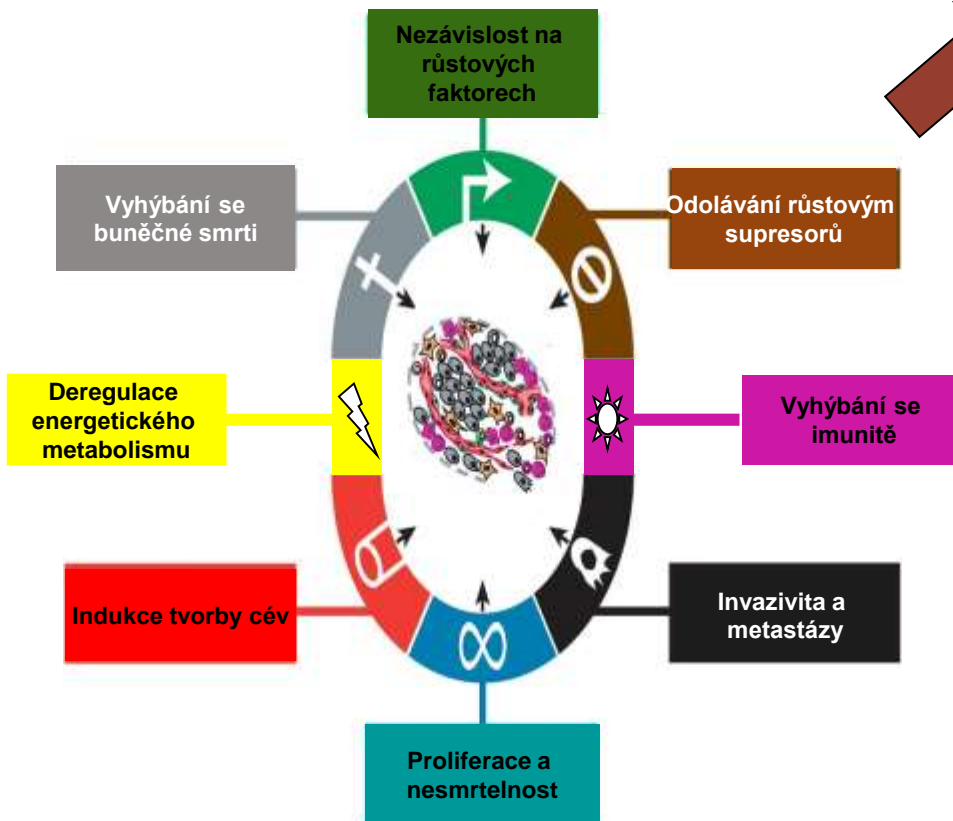
Nádorové buňky buď samy produkují růstové faktory a ovlivňují expresi receptorů pro ně, nebo signalizují jiným buňkám v okolí, které potom poskytují pro-proliferační signální molekuly, nebo „generují“ konstitutivní signál změnou někde na signální dráze (mutace B-Raf a signalizace na dráze MAP-kinázy, mutace PI3 kinázy na dráze PI3/Akt)



Odolávání růstovým supresorům

Mutace či změny exprese p53 a RB „tlumočníků“ suprese zevnitř i zvnějšku

Protirůstovým signálem je i kontaktní inhibice (řídí ji tumorsupresory NF2 a LKB a další, často mutované v nádorech)



Vzdorování buněčné smrti

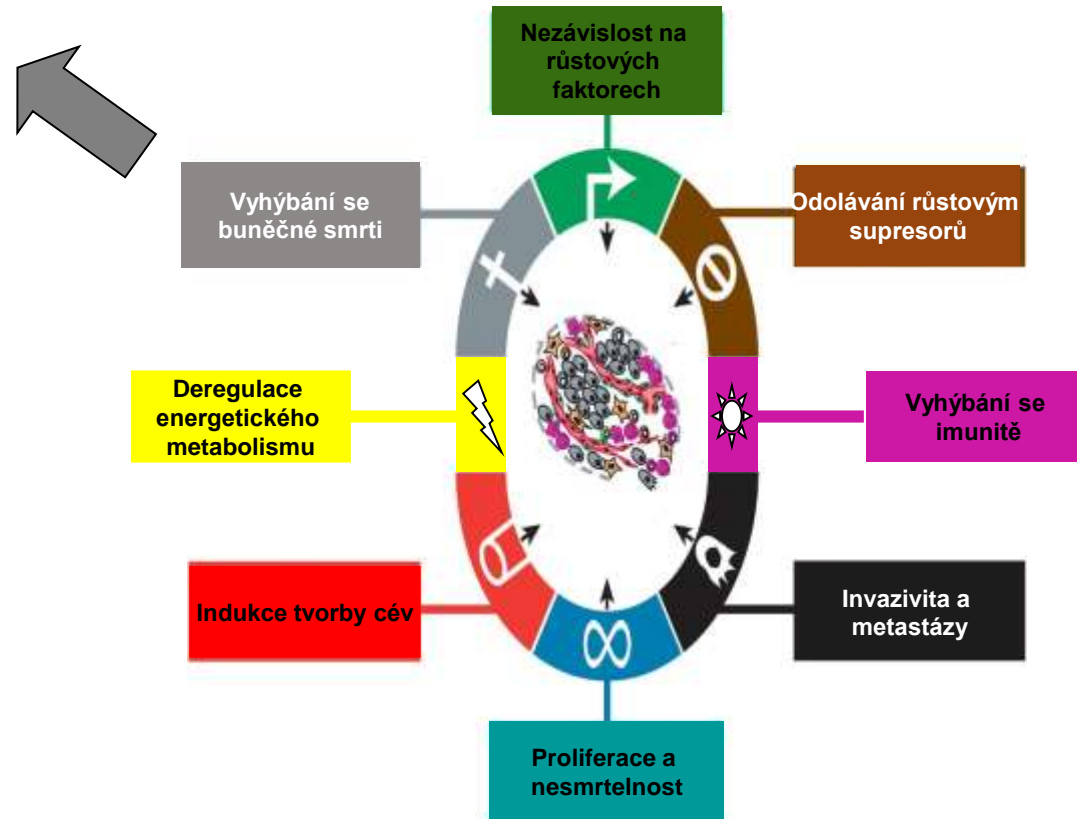
Mutace a exprese kaspáz

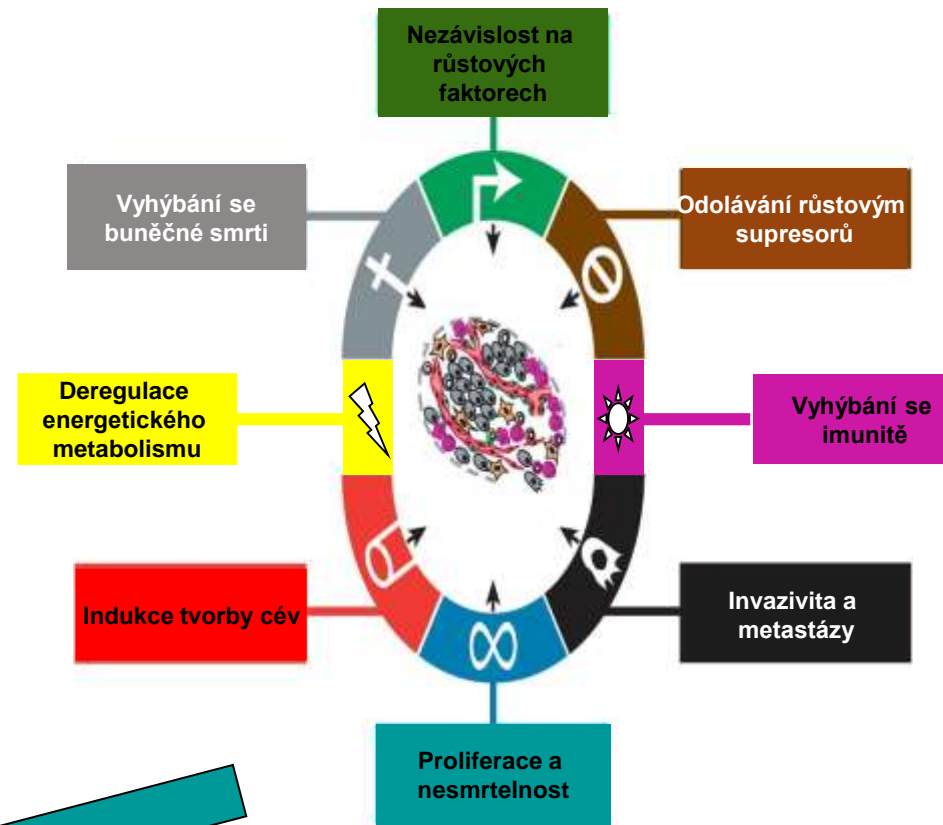
Mutace a exprese pro- a proti-apoptotických genů (BH3-only proteiny)

proapoptotické - (Bax, Bim, Puma)

Antiapoptotické - (Bcl-2, Bcl-XL)

Také vyhýbání se autofagii
(mutace beclinu-1)



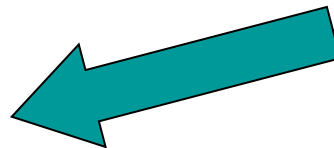


Replikativní nesmrtelnost

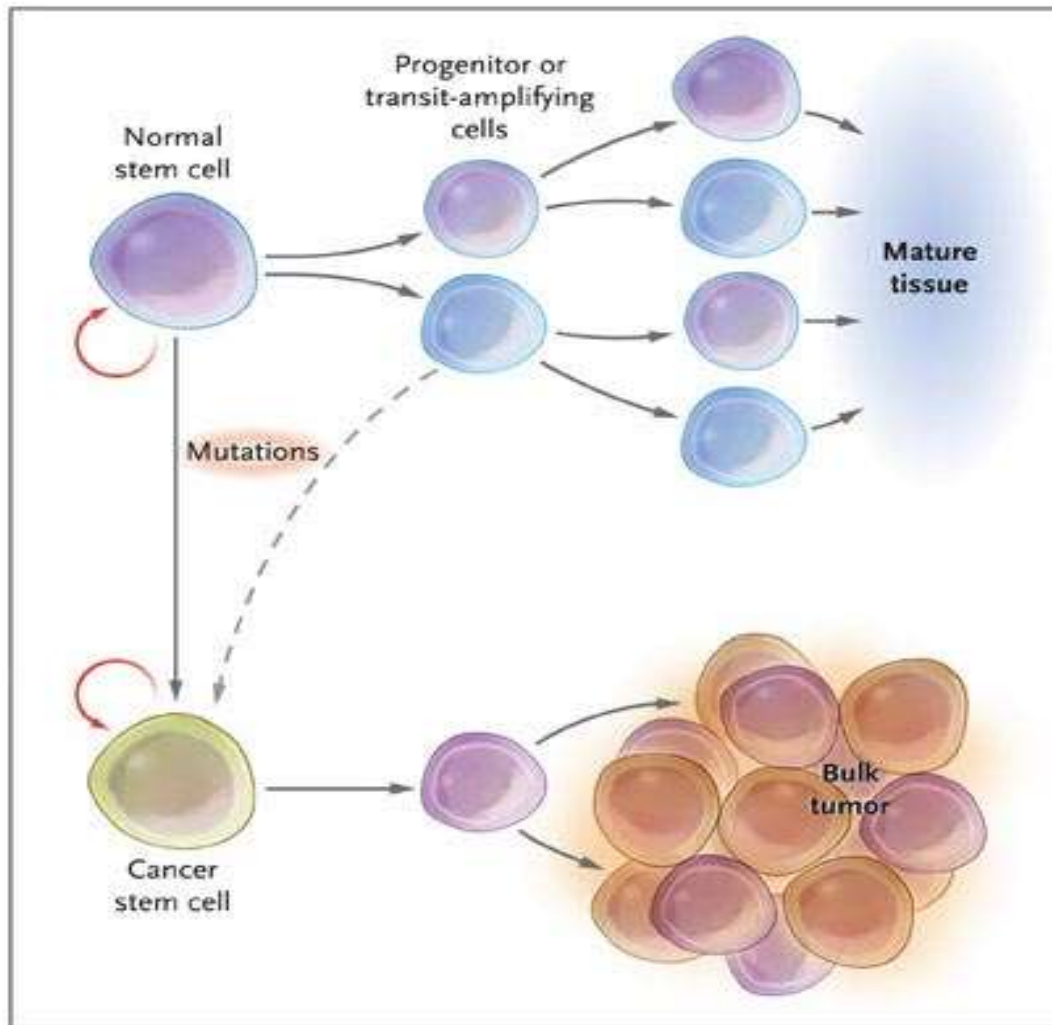
Expresí telomerázy nádorem (normální buňky téměř neexprimují) zajišťuje zpomalení/zastavení senescence až nesmrtelnost.

Platí asi jen pro nádorové kmenové buňky.

Kromě toho funguje podjednotka telomerázy (TERT) jako proliferační signál ve Wnt dráze

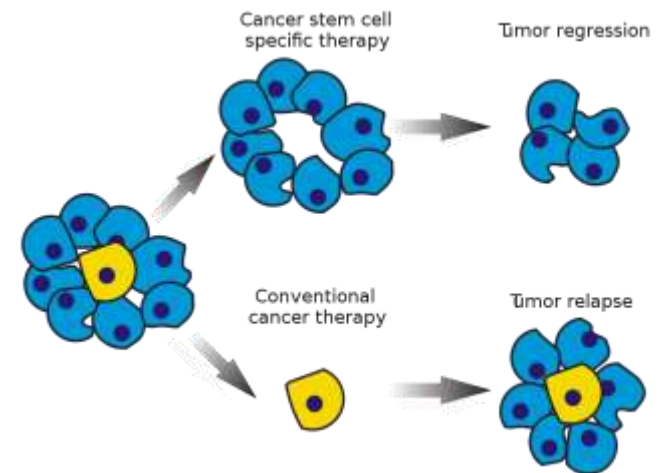


Nádorové kmenové buňky



The New England Journal of Medicine

- Přítomné ve všech nádorech
- Je to jen malý zlomek buněčné populace nádoru
- Často rezistentní na terapii
- Pokud přežijí iniciují růst dalšího nádoru
- **Měl by být stěžejním cílem terapie**
- Jsou to ty buňky, které při transplantaci iniciují růst v imunodeficientním zvířeti

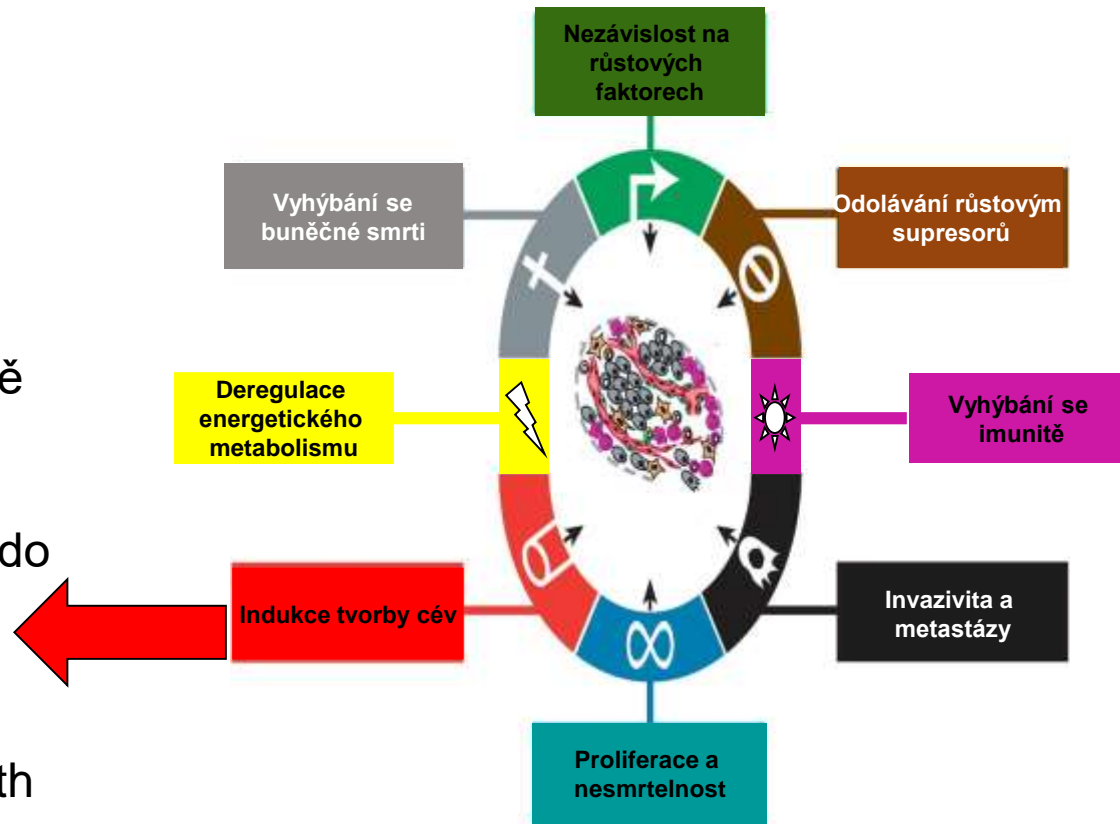


Indukce angiogeneze

„Angiogenní switch“ je konstitutivně zapnut. (v normálních dospělých tkáních jen při regeneraci). Bez přítomnosti cév doroste nádor jen do velikosti 1-2 mm. Vznikají de novo i prorůstáním z okolních tkání.

VEGF-A (vascular endothelial growth factor) je aktivátor angiogeneze, aktivovaný hypoxií a onkogenním signálem (Ras, Myc...). VEGFR 1-3 jsou receptorové TK.

Cévy nádoru mají zpravidla nedokonalou stavbu, chaotické, primitivní

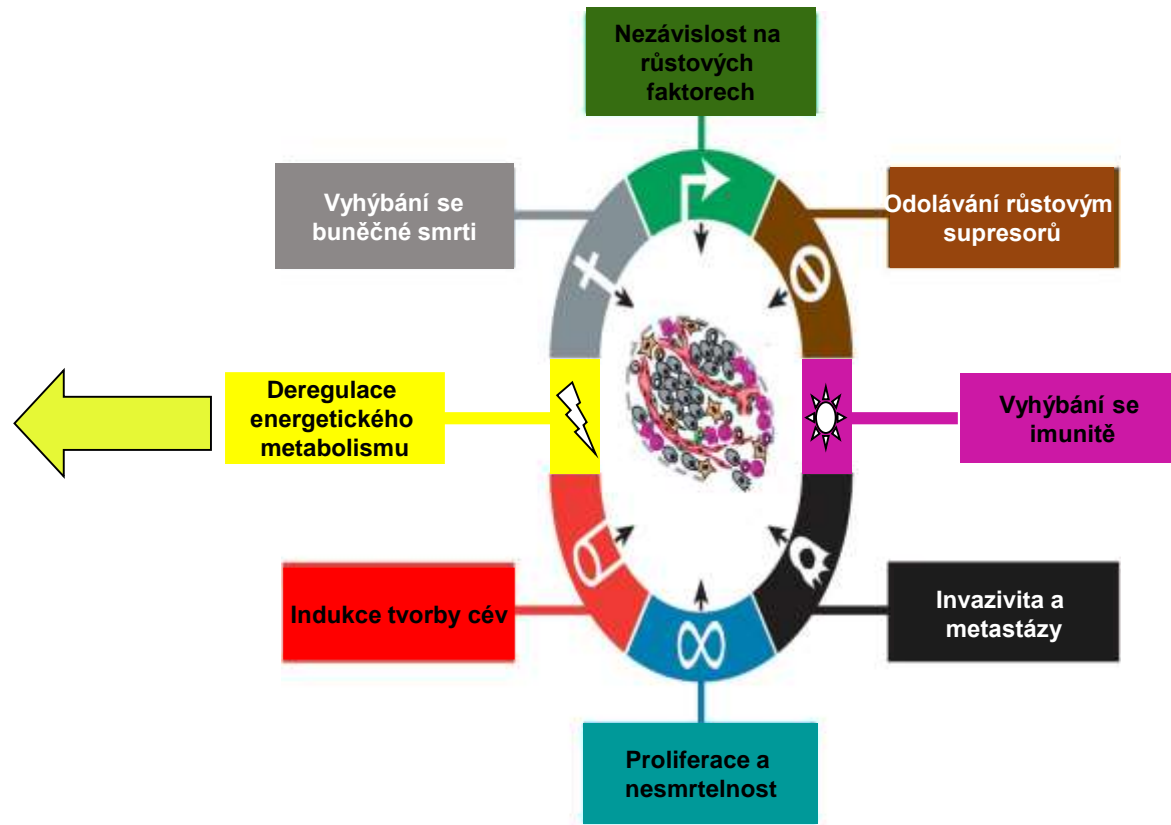


Změny energetického metabolismu

Těžiště energetického metabolismu nádorových buněk spočívá na (aerobní) glykolýze (Wartburgův efekt) místo na oxidativní fosforylaci v mitochondriích.

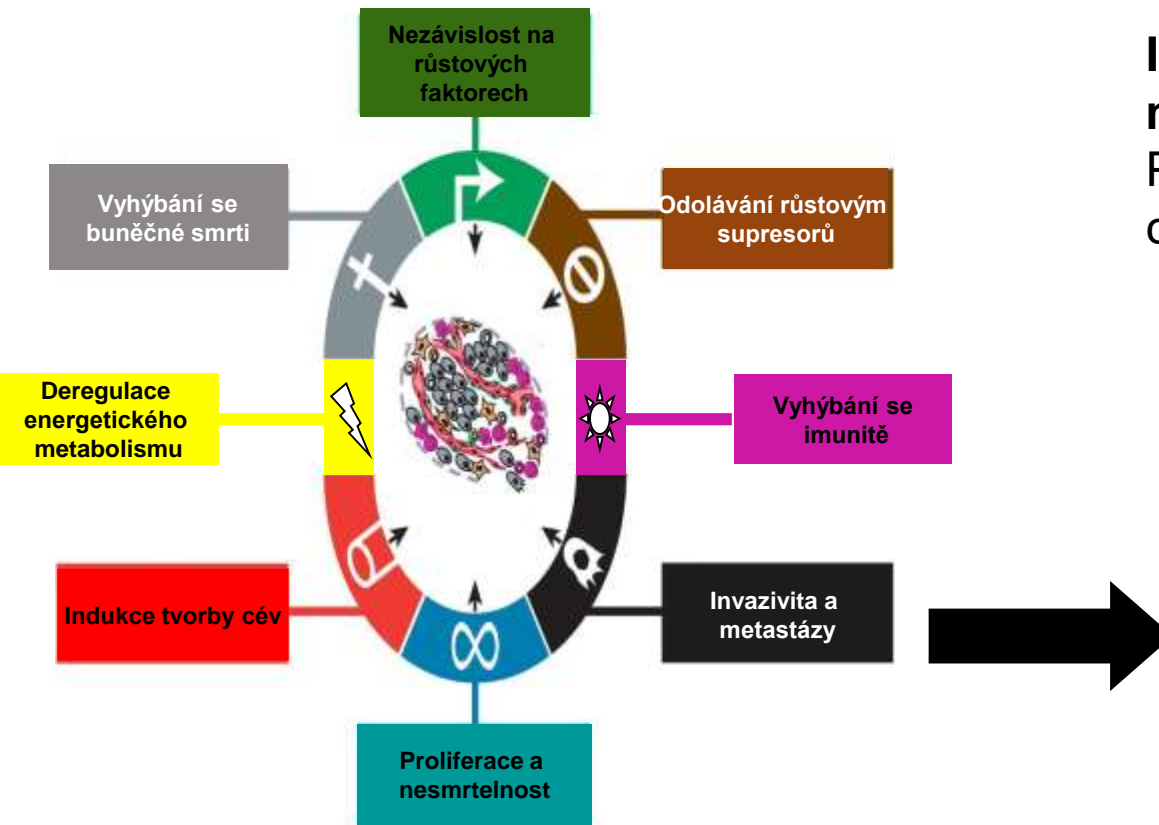
Nižší účinnost ale snazší odklonění meziproductů glykolýzy do jiných syntéz např. nukleotidů a AA důležitých pro rychlou proliferaci.

Nižší účinnost je kompenzována overexpresí transportéru GLUT1



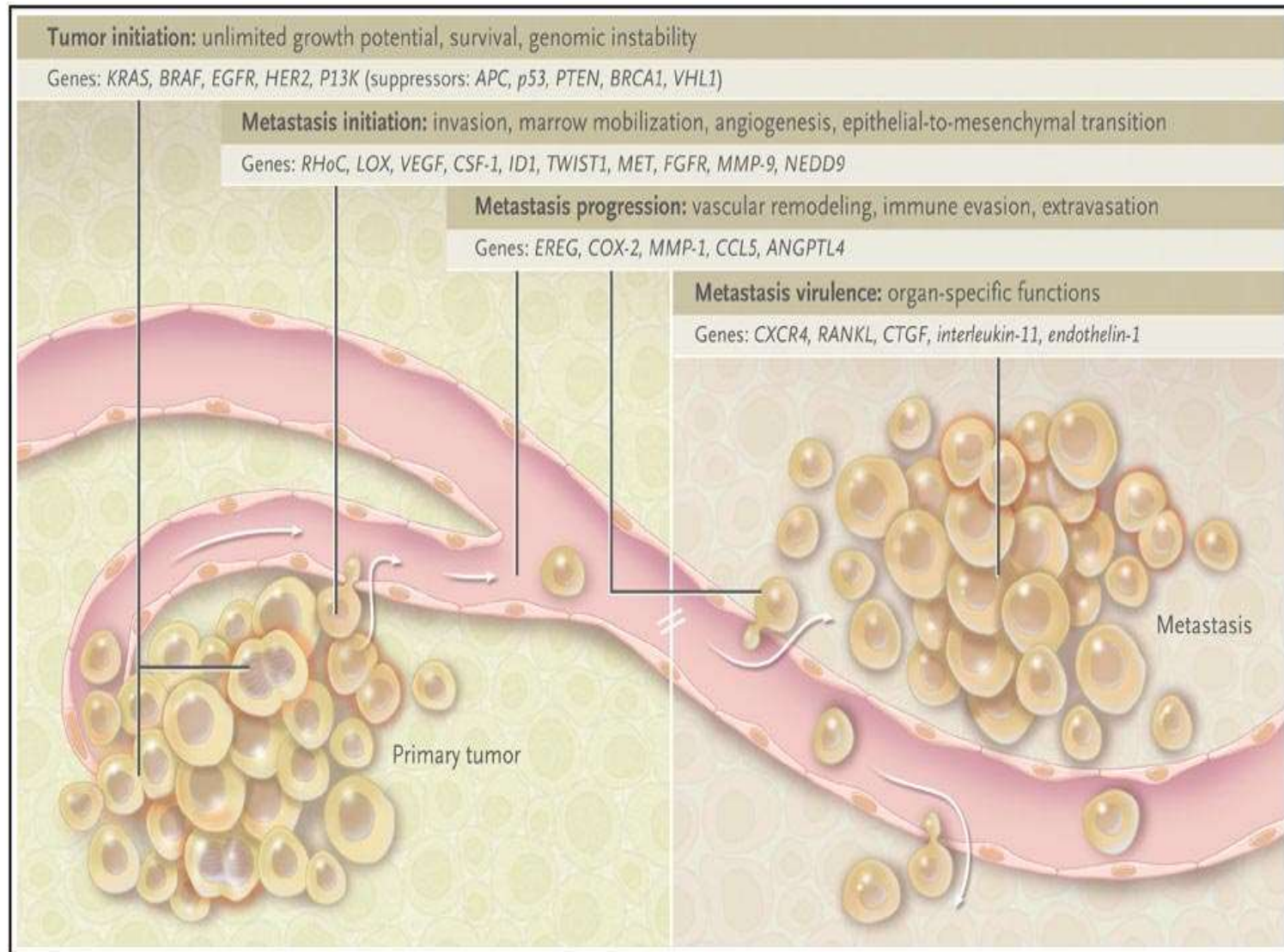
Invazivnost, schopnost tvorby metastáz

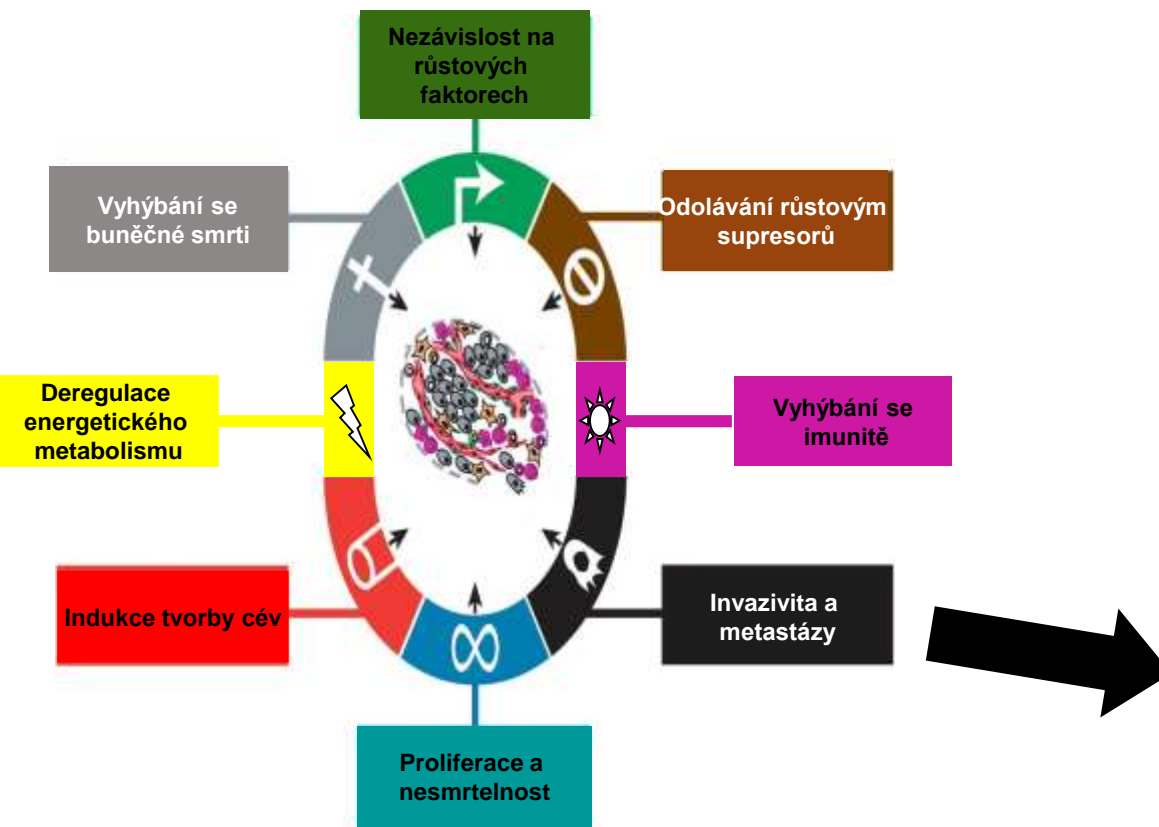
Podmínkou je „vycestovat“, „přežít cestu“, „usadit se“ a „rozmožít“.



Metastatická kaskáda

Invaze → transport → nidace → růst metastázy





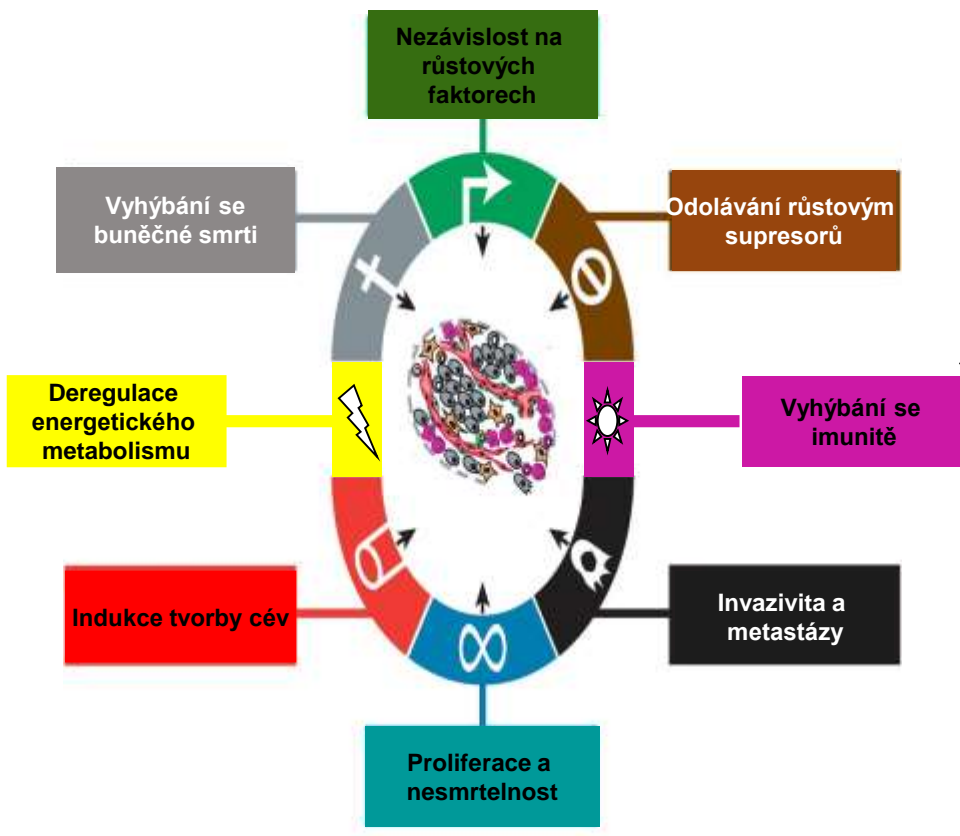
Invazivnost, schopnost tvorby metastáz

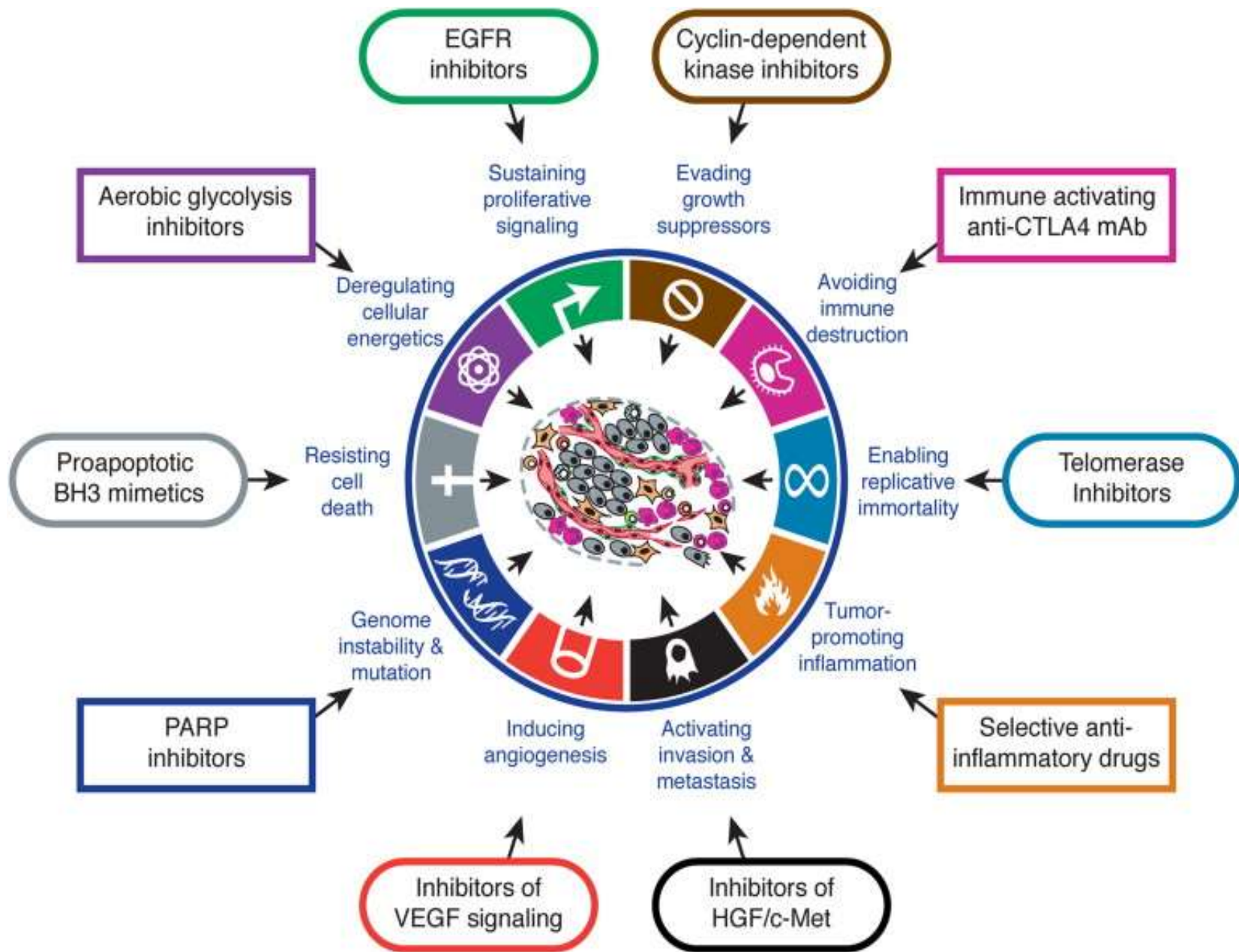
Podmínkou je „vycestovat“, „přežít cestu“, „usadit se“ a „rozmožít“.

Nutné změny tvaru buňky a její adhezivitě k jiným buňkám i k ECM (ztráta E-cadherinu, změny v integrinech a další alterace) Schopnost vycestovat, přežít v cirkulaci a proniknout do cílové tkáně umožňuje proces **EMT** (epiteliálně-mezenchymální tranzice – ztráta polaritity a získání migračních a invazivních schopností (+exprese enzymů degradujících ECM)). Na invazivitě se podílejí i buňky stromatu (např. makrofágy) produkcí enzymů degradujících ECM.

Únik imunitě

Nádory neunikají zcela, jsou ale jen pod omezeným dohledem (stejný nádor roste rychleji v imunodeficientních myších). Na protinádrové imunitě se podílejí jak vrozená, tak získaná imunita. Nádory mohou např. sekretovat TGF-beta a další látky a paralyzovat tak invadující CTL a NK buňky.





Protinádorová terapie





Papyrus Edwina Smitha
(cca 2000 př.n. l.)
Kopie stroegyptské „učebnice
chirurgie“
První popis nádorů a jejich
odstraňování žhavým nástrojem,
ale včetně informace, že „není léku“.

Hippocrates (460 př.n.l. –370 př.n.l.)
popisuje několik typů nádorů, označoval je
termínem **karkinos** *Καρκινος* (krab, rak) na
základě podobnosti řezu nádorem s cévami
s nohama kraba) a ordinoval *dietu, pouštění
žilou a projímadlo*

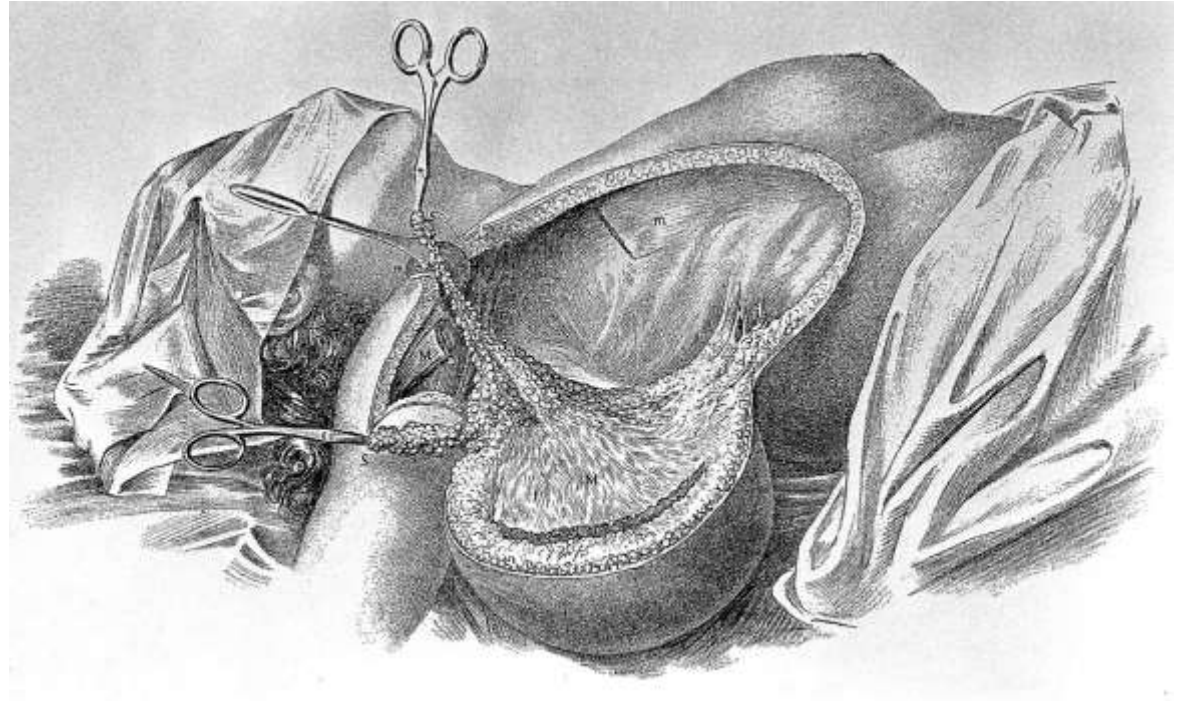
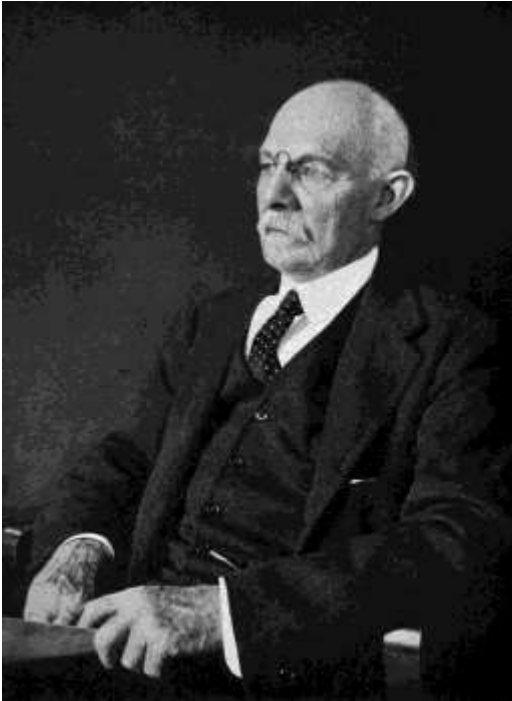


18. století

* 1775 první úvahy o souvislostech nádorů s prostředím
Percivall Pott (karcinom kůže šourku u kominických pomocníků)

19. století

* William Halsted – cca 1850-1910 radikální chirurgické mastektomie
* Objev radioaktivity a možnosti rentgenu



18. století

první úvahy o možných souvislostech nádorů s prostředím
Percivall Pott (karcinom kůže šourku u kominíků)

19. století

William Halsted - radikální chirurgické mastektomie
Objev radioaktivity a možnosti rentgenu

1903

první úspěšná radioterapie (nádory kůže)

1941

Charles Huggins - odstranění varlat nebo podání
estrogenu způsobí ústup nádoru prostaty

1942-1946

První klinické testy s alkylačními činidly

1944

Oswald Avery - DNA je nositelkou genetické informace

1948

**Sidney Farber demonstroval úspěšnou léčbu leukemie u dětí
aminopterinem**

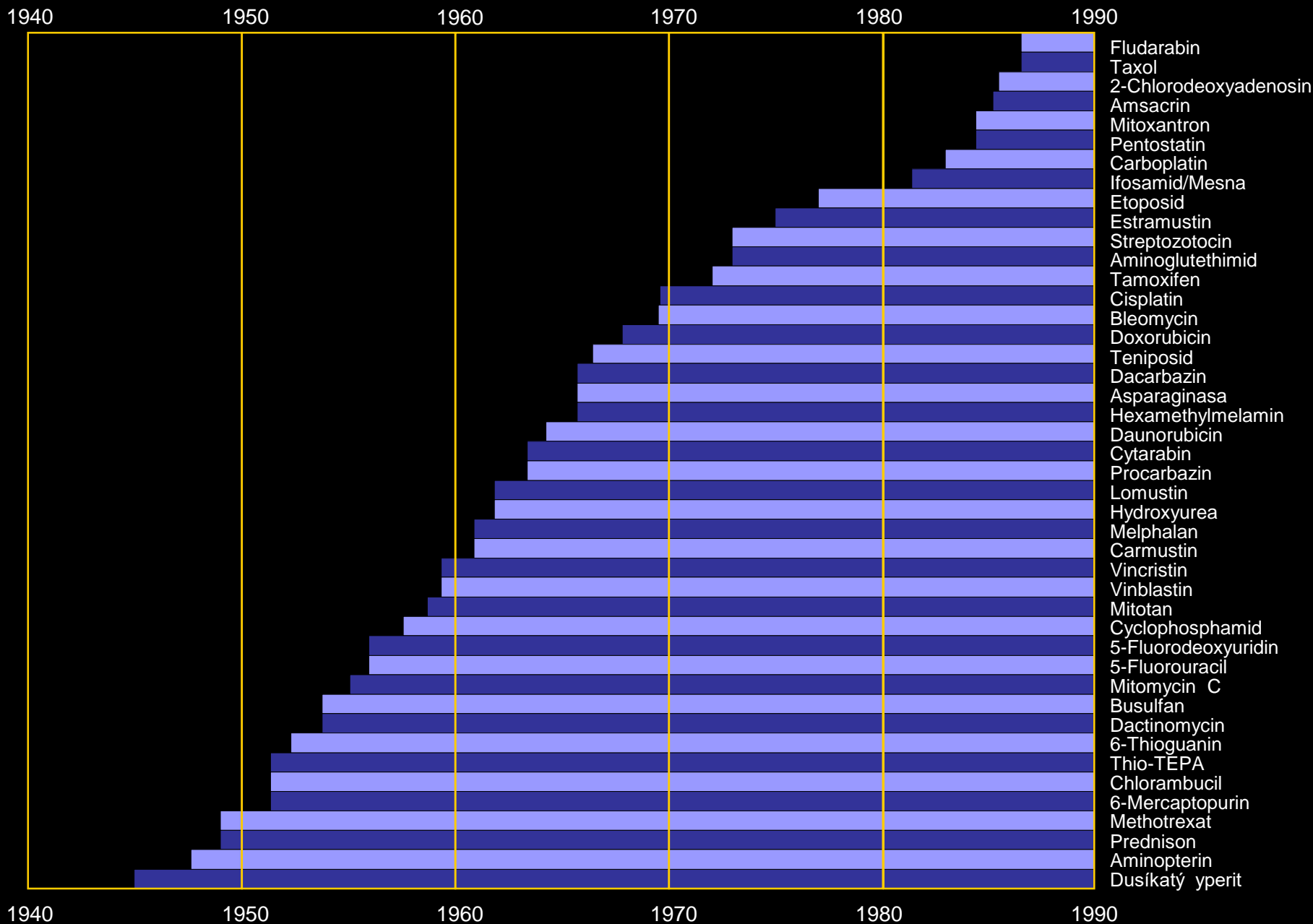
1955

Watson a Crick - struktura dvoušroubovice DNA

1950-1990

Zlatá éra klasické chemoterapie

ROK ZAVEDENÍ DO KLINICKÉ PRAXE



Pilíře onkologie

- Chirurgické odstranění nádoru
- Ozařování
- **Chemoterapie/Cílená a biologická léčba**
- Transplantace kostní dřeně

Klasická chemoterapie, cílená a biologická léčba

	NECÍLENÁ	MOLEKULÁRNĚ CÍLENÁ
MALÉ MOLEKULY	Klasická chemoterapie	<i>Imatinib, Temsirolimus ...</i>
BIOLOGICKÉ MOLEKULY	<i>Interferon alfa</i>	<i>Rituximab a další protilátky</i>
BUŇKY		<i>CAR-T buněčná terapie</i>

Cíle chemoterapie

Přinutit k buněčné smrti (apoptóza, nekróza...) veškeré nádorové buňky, nebo alespoň jejich zásadní frakci. Případně **alespoň zastavit jejich další proliferaci**.

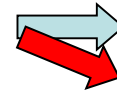
Kurativní vs. paliativní chemoterapie (léčebná a udržovací)

Klasická cytostatika

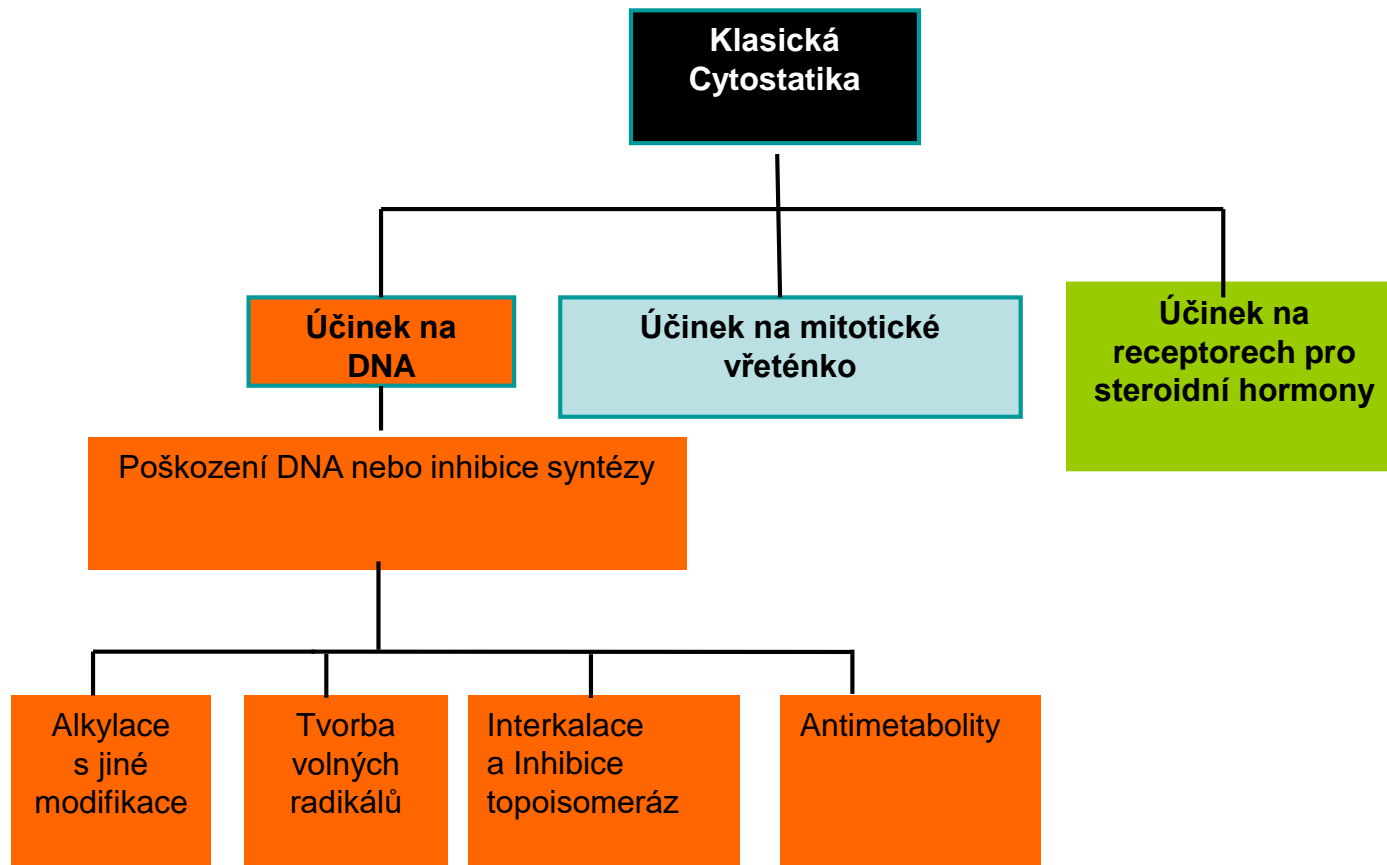
- Cytostatika působí převážně na buňky proliferující (nacházející se v buněčném cyklu)
- Buněčný cyklus normálních proliferujících buněk je kratší ve srovnání s nádorovými buňkami
- Klasická cytostatika působí **neselektivně** na nádorové i normální proliferující buňky

Jak přinutit k buněčné smrti rychle se dělicí buňky?

Poškozením DNA
Interferencí se syntézou DNA
Interferencí s mitózou
Interferencí s proliferačními signály



Zástava buněčného cyklu
Apoptóza



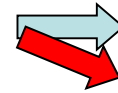
Jak přinutit k buněčné smrti rychle se dělicí buňky?

Poškozením DNA

Interferencí se syntézou DNA

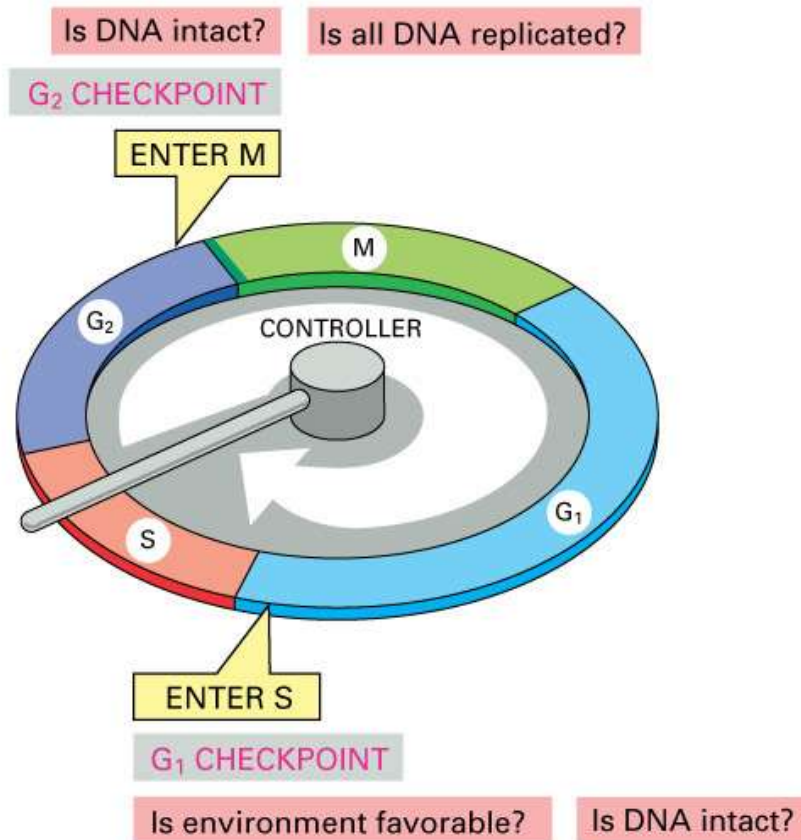
Interferencí s mitózou

Interferencí s proliferačními signály

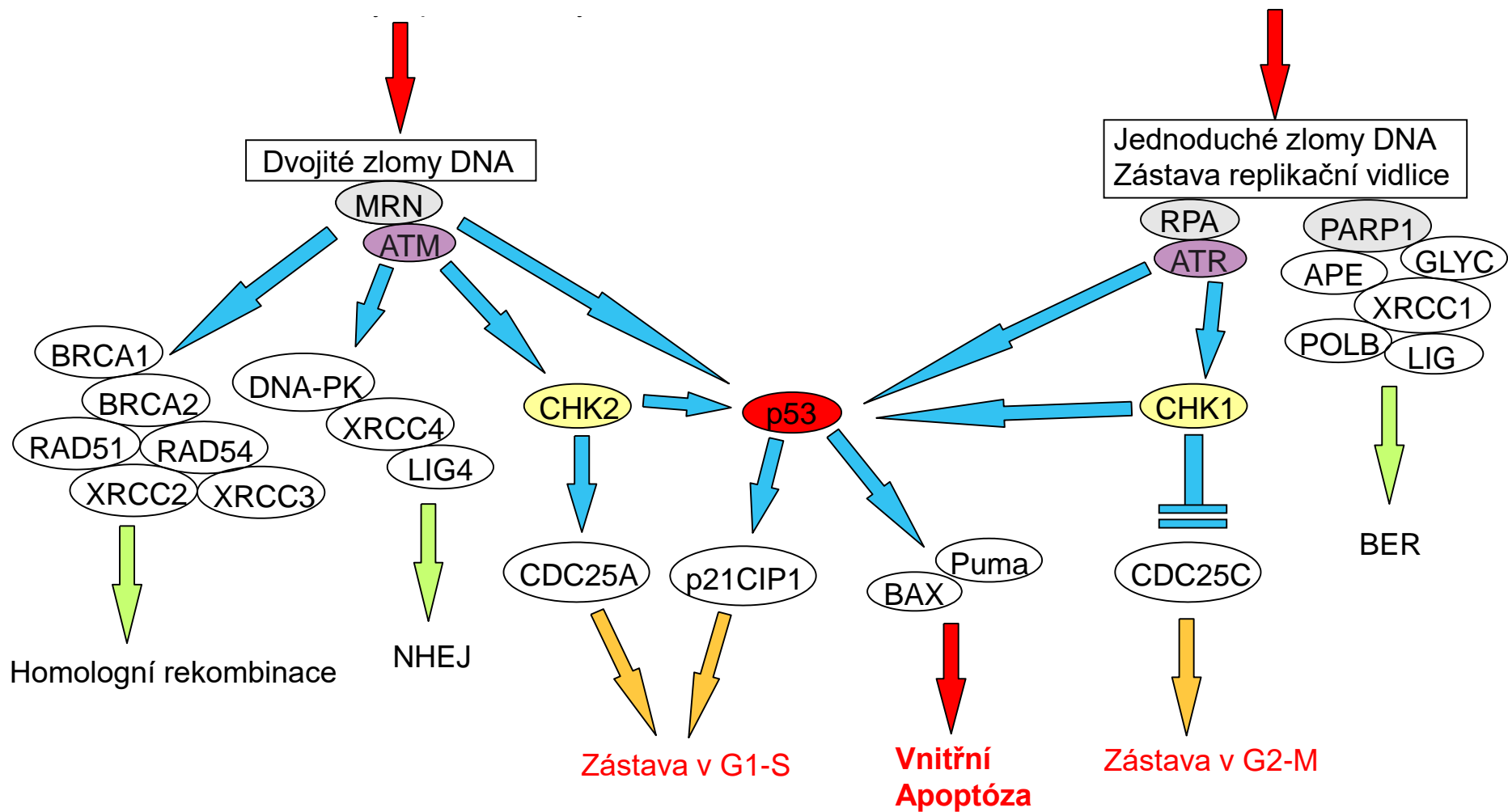


Zástava buněčného cyklu

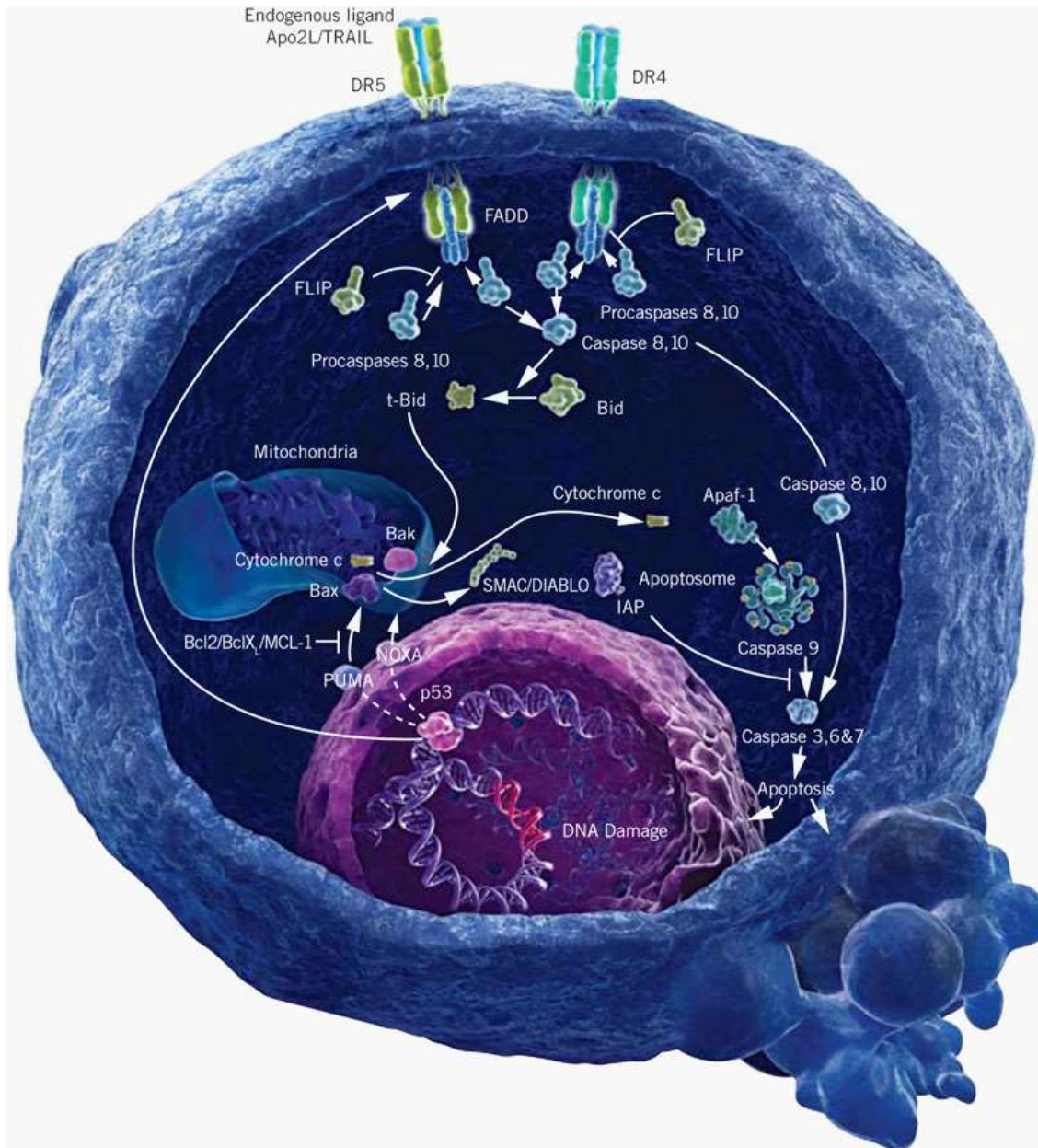
Apoptóza



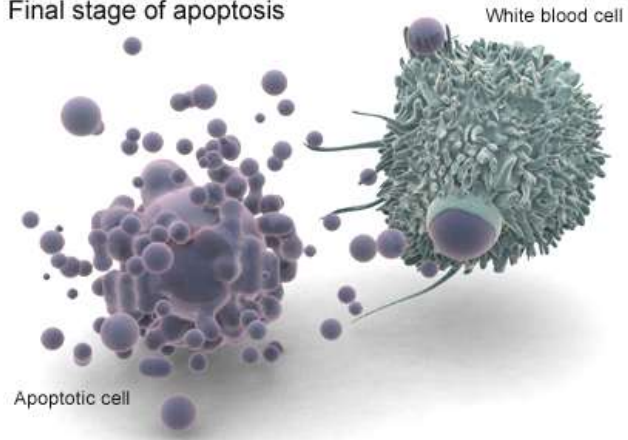
POŠKOZENÍ DNA, ATM, ATR, p53 a buněčná smrt



APOPTÓZA



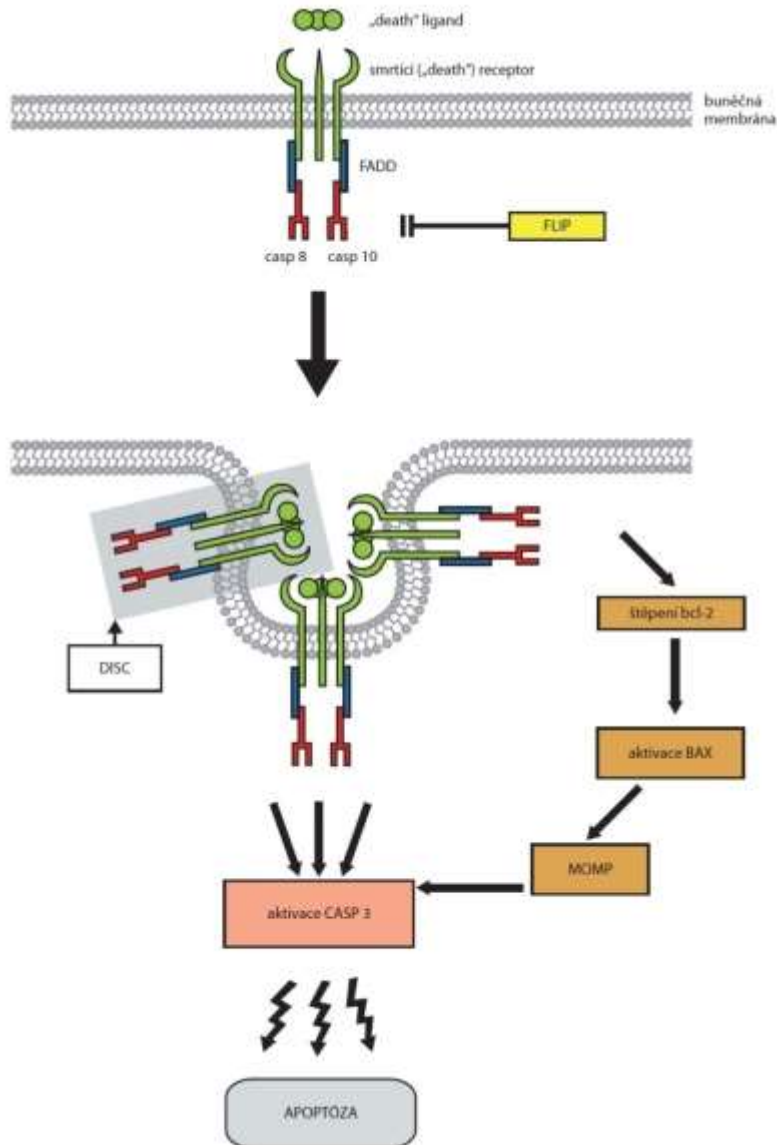
Final stage of apoptosis



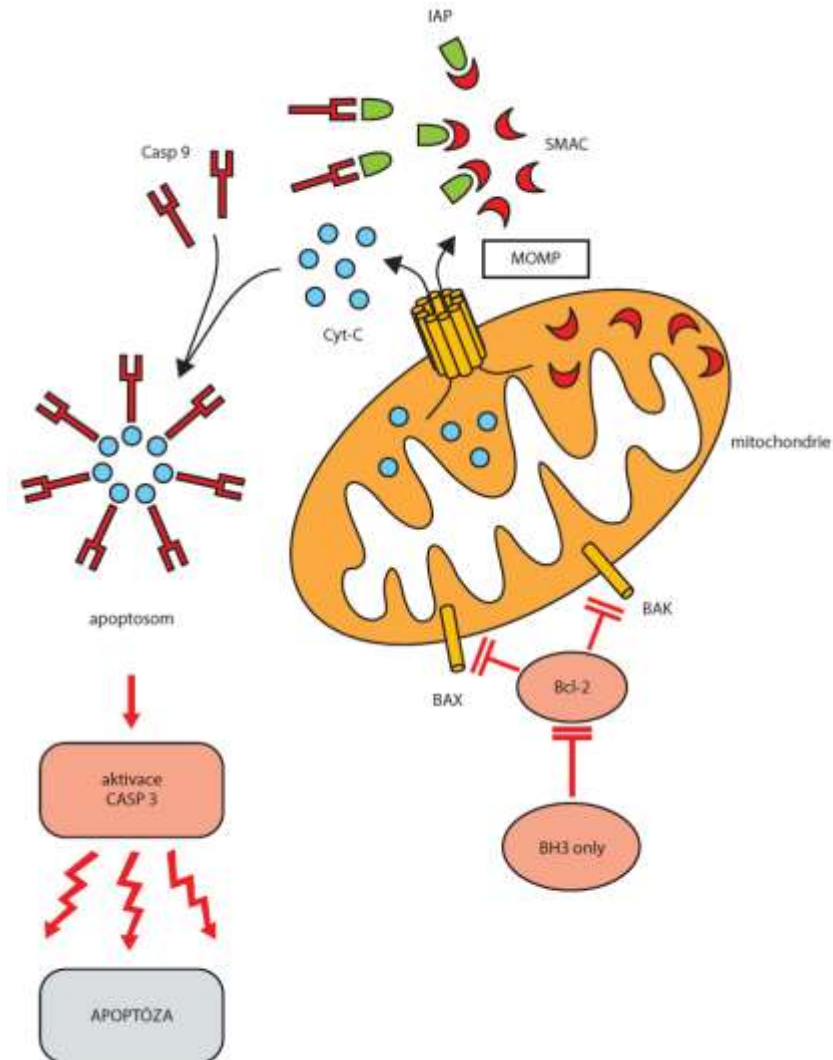
U.S. National Library of Medicine

APOPTOTICKÉ DRÁHY

Receptorová (vnější) apoptóza



Mitochondriální (vnitřní) apoptóza



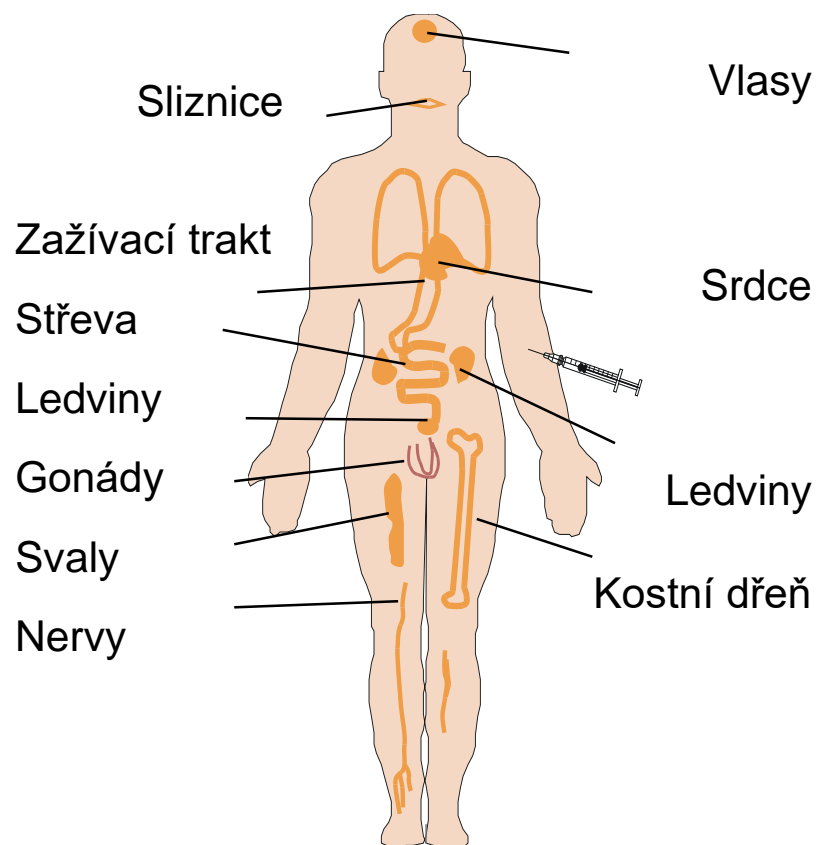
Typy podání a užití chemoterapie

- **Primární (indukční) terapie** – podání chemoterapie jako jediného prostředku s cílem navodit ústup nádoru
- **Neoadjuvant terapie** – před chirurgickým výkonem nebo před radioterapií. Cílem je zmenšení nádorové masy před operací
- **Adjuvantní terapie** – doplňuje účinnost provedeného chirurgického odstranění nebo ozařování. Cílem je likvidovat zbytkovou nemoc po jiném zásahu
- **Souběžná (konkomitantní) terapie** – probíhá současně s ozařováním, aby došlo k větší odpovědi nádoru na radiaci

Vedlejší efekty klasické chemoterapie

suprese kostní dřeně - změny krevního obrazu (nedostatek destiček, bílých nebo červených krvinek- snížení imunity, riziko infekce a krvácení)

- ztráta vlasů
- nevolnost, zvracení
- záněty sliznice úst
- zánět zažívacího traktu, průjemy
- kožní projevy
- svalová bolest
- úzkosti, poruchy spánku
- neplodnost
- nefrotoxicita,
- hepatotoxicita,
- neurotoxicita,
- kardiotoxicita
- teratogenní účinek



Klasická Cytostatika

Genotoxické látky

Účinek na DNA

Účinek na mitotické vřeténko

Účinek na receptorech pro steroidní hormony

Poškození DNA nebo inhibice syntézy

Agonisté

Antagonisté

Alkylace s jiné modifikace

Interkalace a Inhibice topoisomeráz

Tvorba volných radikálů

Antimetaboly

Poškození existující DNA (genotoxicita)

Poškození DNA při syntéze, interference s ní a další efekty

GENOTOXICKÉ LÁTKY

Alkylační činidla a deriváty platiny

Interkalační látky

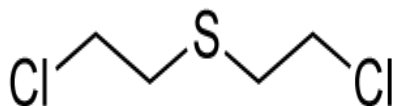
Inhibitory DNA topoizomeráz

Látky způsobující rozštěpení DNA

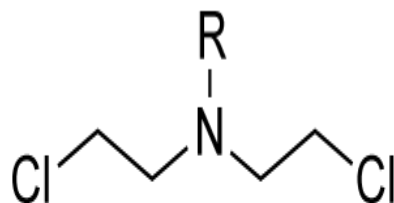
Nitrogen mustard (dusíkatý yperit) aneb Jak to všechno začalo?

Yperit (hořčičný plyn, sulfur mustard) – bojová **zpuchýřující látka** použitá již v I. Světové válce (1915, Ypres), další zkušenosti při úniku yperitu z vybombardované válečné spojenecké lodi v přístavu Bari (WWII) - **mimo jiné poškozoval kostní dřev a lymfatické uzliny.**

Dusíkatý yperit (mustin, nitrogen mustard) je nevhodný jako bojová látka ale má významné biologické účinky- **zabíjí rychle proliferující buňky**
Terapeuticky využíván cca od roku 1945 (lymfomy), jako první cytostaticum, odvozen od něj **cyklofosamid** a další alkylační látky



sulfur mustard
yperit



nitrogen mustard
dusíkatý yperit

GENOTOXICKÉ LÁTKY

Alkylační látky a deriváty platiny

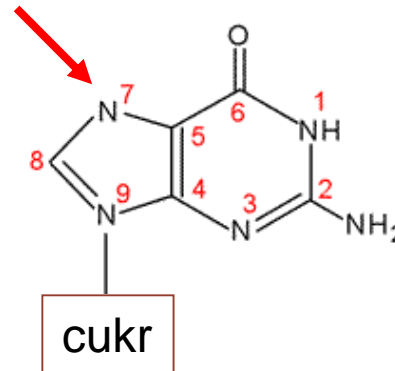
Alkylační činidla

Látky schopné alkylovat (modifikovat připojením uhlíku nebo uhlíkatého zbytku) především dusíkaté báze (C, A, ale hlavně G). Reaktivní modifikace vede nejčastěji ke vzniku G-G crosslinku (inter-chain nebo intra-chain) následkem je omezení replikace a transkripce \longrightarrow signalizace poškození DNA \longrightarrow Oprava

Alkylují ale také proteiny.

APOPTÓZA

Adukty nejčastěji na G
(v poloze N7)



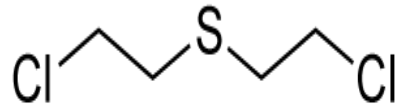
Alkylační látky a deriváty platiny

Látky odvozené od yperitu

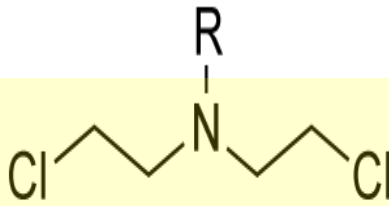
Deriváty nitrozomočoviny

Jiné alkylační látky

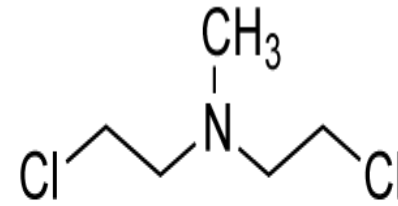
Deriváty platiny



sulfur mustard
yperit

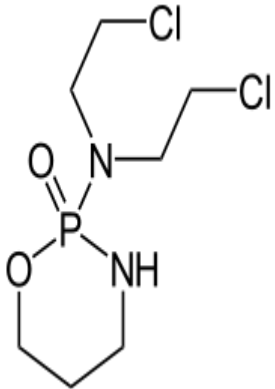


nitrogen mustard
dusíkatý yperit

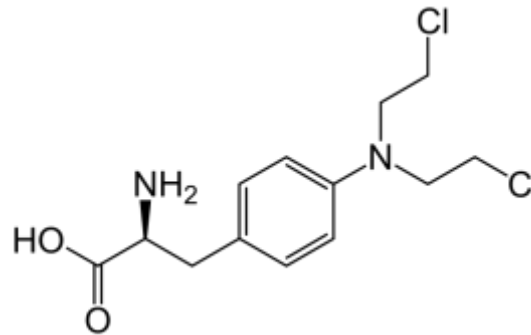


mechlorethamine

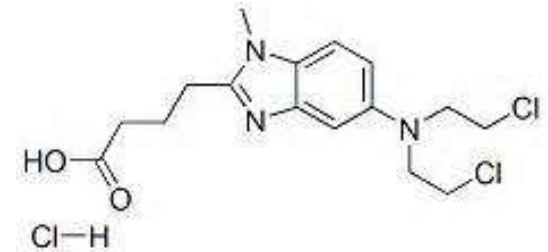
Cyklofosfamid



Melfalan



Bendamustin

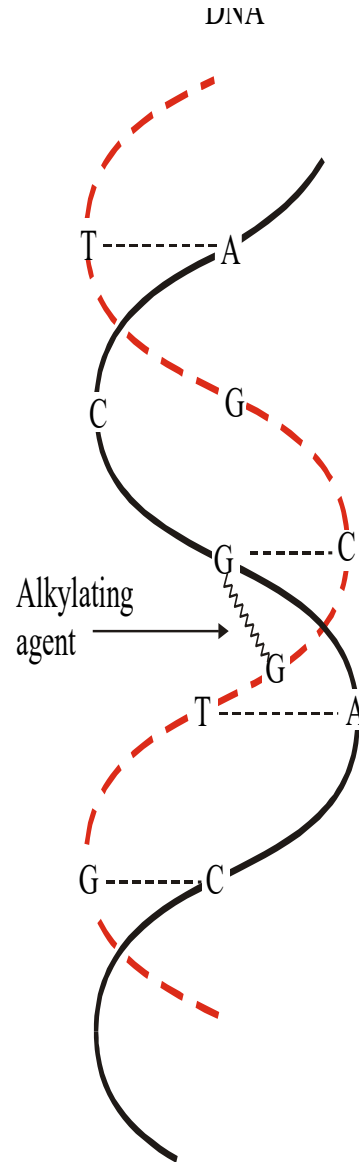
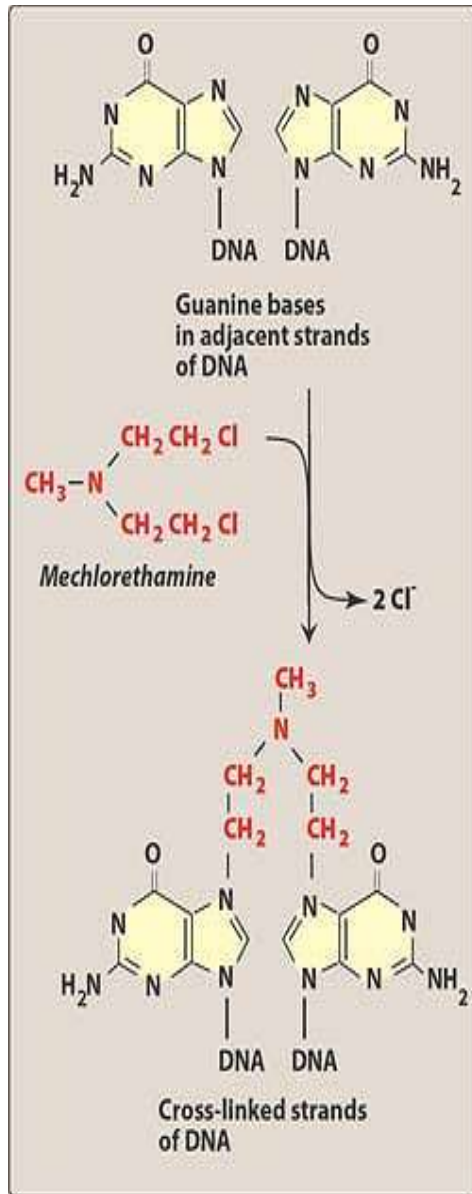


(chlorambucil, ifosfamid...)

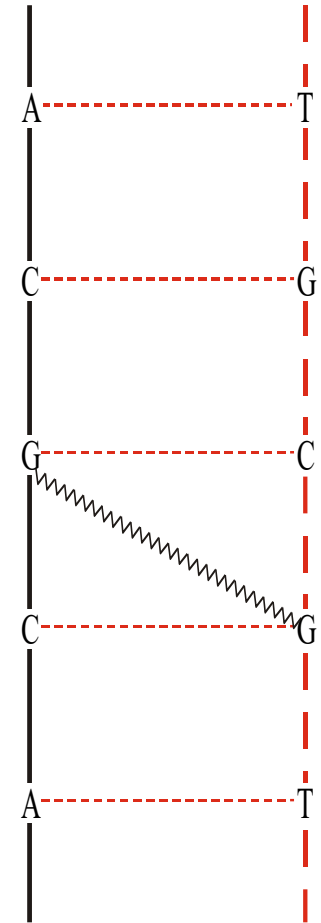
Po aktivaci alkylačního činidla a průniku do jádra dochází k alkylationi G (nejčastěji N7) a crosslinku řetězců DNA

Mechanismus účinku alkylačních látek

Vznik INTERSTRAND (meziřetězcového) crosslinku

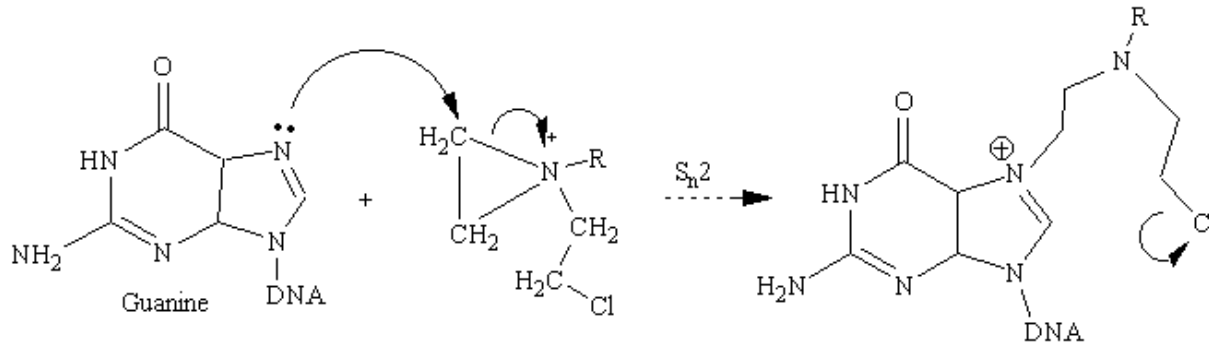
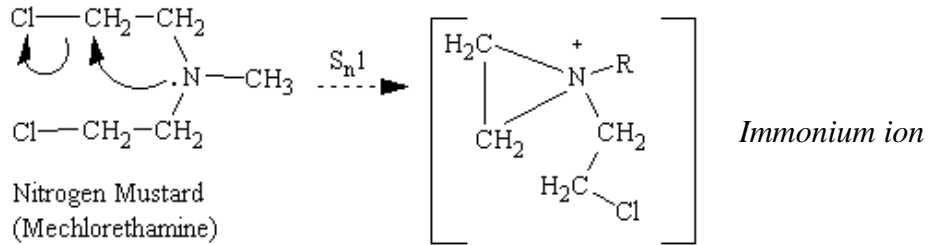


i.e.

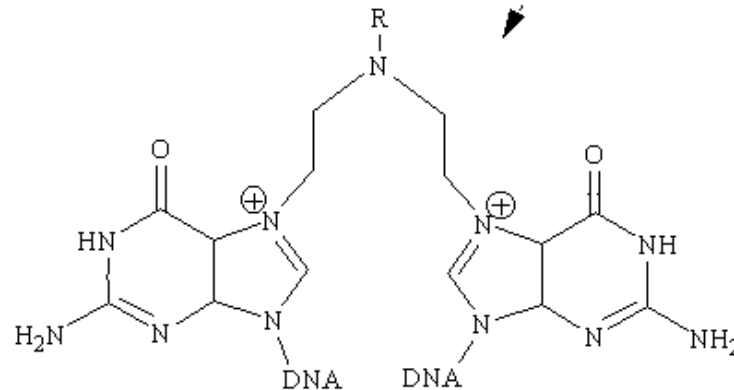


A = adenine
C = cytosine
G = guanine
T = thymidine

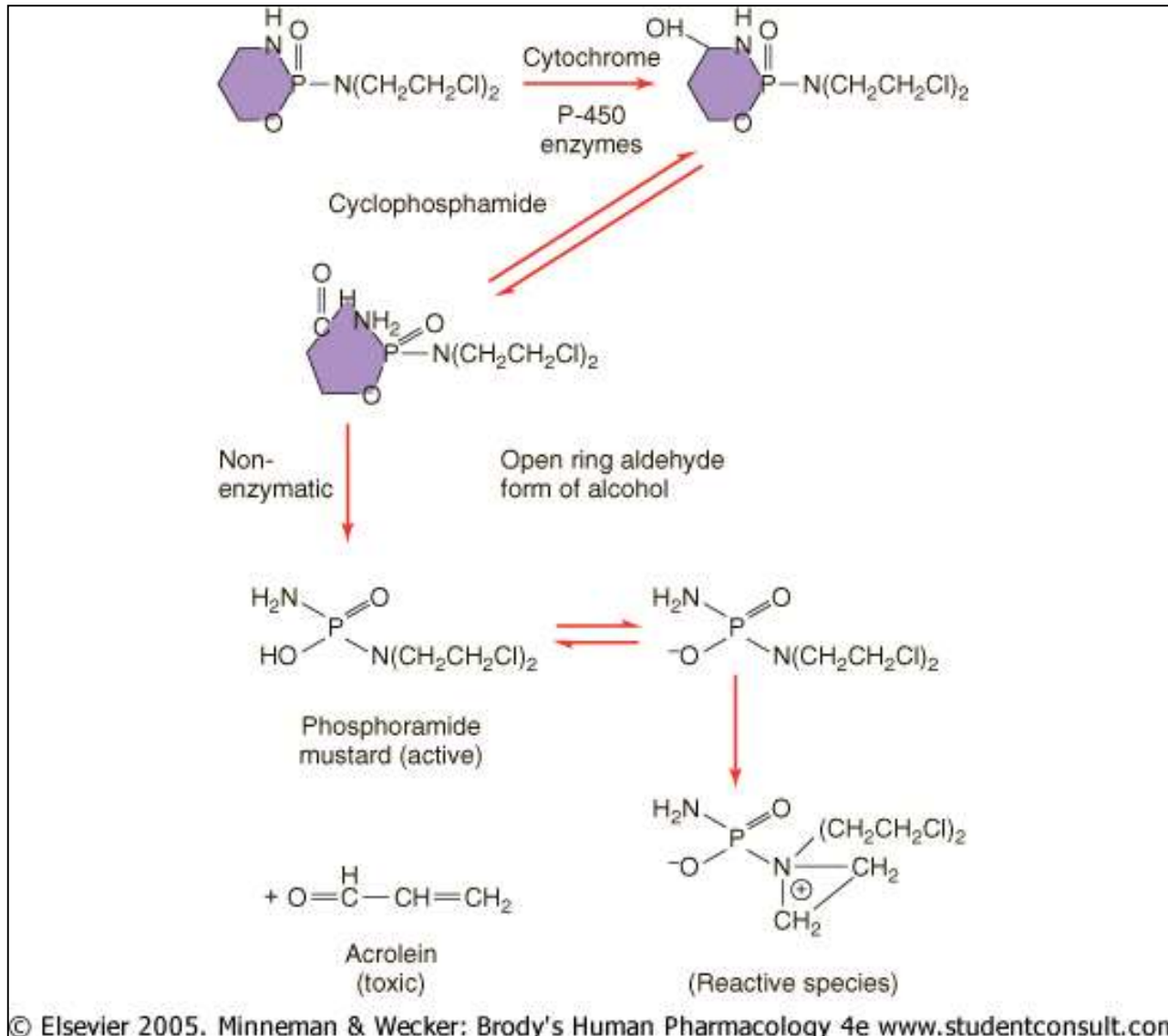
Reakce alkylačních činidel odvozených od yperitu (Nukleofilní substituce)



1. Cyclization
2. Guanine



Některé alkylační látky (cyklofosfamid) jsou **ve formě proléku** (prodrug)
 - musí být nejprve enzymaticky metabolizovány

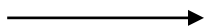


Výsledné efekty alkylačních látek

- Zástava replikace
- Mismatch v průběhu replikace, pokud k ní dojde
- Delece guaninu
- Zlomy řetězců nebo jiné poškození (ss)

+ alkylace proteinů

Tvorba krosslinků
(intra- nebo inter-strand)



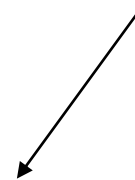
Rozeznání poškození
DNA



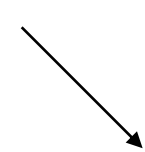
ATM/ATR



p53



Zástava buněčného cyklu



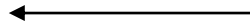
Bax, Puma...



APOPTÓZA



DNA repair



Přežití a návrat
do cyklu

Alkylační látky a deriváty platiny

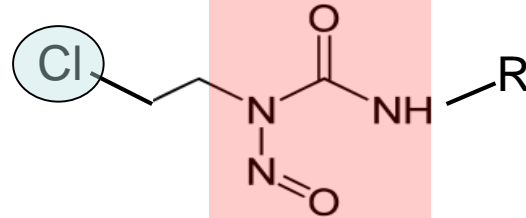
Látky odvozené od yperitu

Deriváty nitrozomočoviny

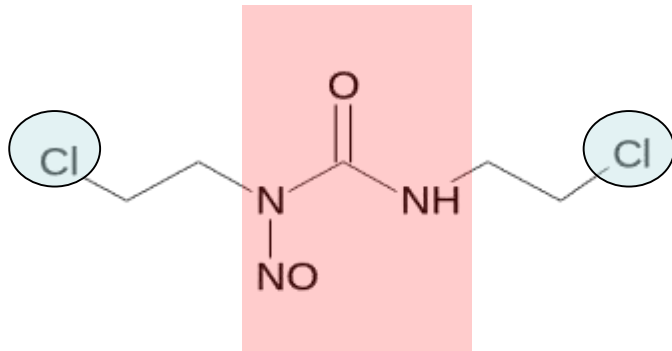
Jiné alkylační látky

Deriváty platiny

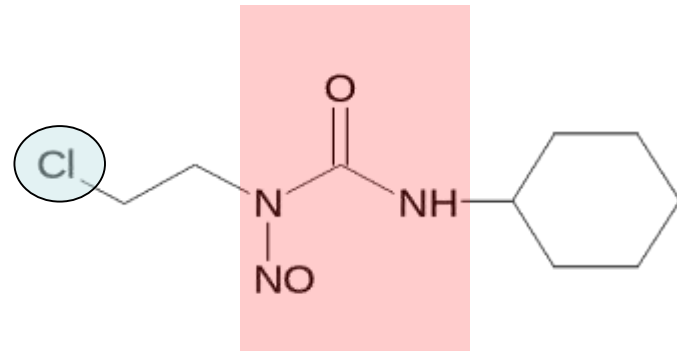
Nitrosomočovina (Nitrosourea)



Chloroethyl nitrosourea



Carmustine (BCNU)



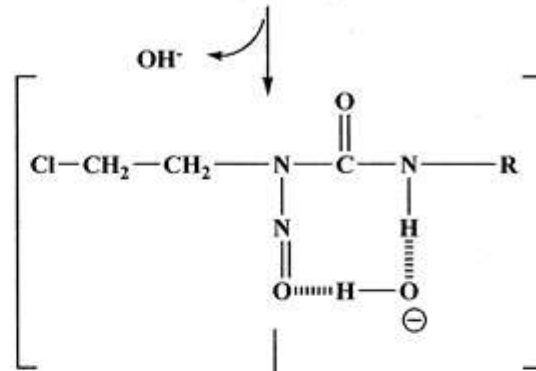
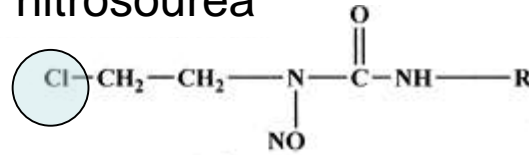
Lomustine (CCNU)

Rozpodají se na chloroethyl diazohydroxid a izokyanát

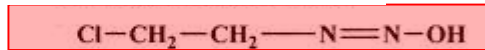
Alkylace DNA

Karbamylace proteinů (Lys)

Chloroethyl nitrosourea

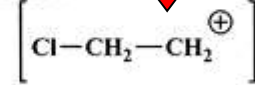


Chloroethyl diazohydroxide



+ OH⁻ + RNCO

Carbonium ion

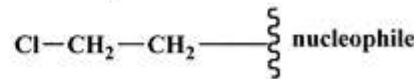


izokyanát

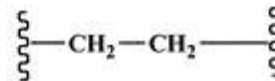


karbamylace volných aminoskupin proteinů (Lys a N-konec)

+ N₂ + OH⁻



dechlorination



Bifunctionality

Alkylace guaninu, G-G a G-C INTERSTRAND krosslinky



Efekt alkylačních činidel odvozených od nitrozomočoviny

Alkylace guaninu, G-G a G-C crosslink



Problematická transkripce a replikace, delece

Inaktivace proteinů (Alkylace SH skupin cysteinů)

thioredoxin reduktáza, glutathion reduktáza



Narušení redoxrovnováhy (oxidační stres)

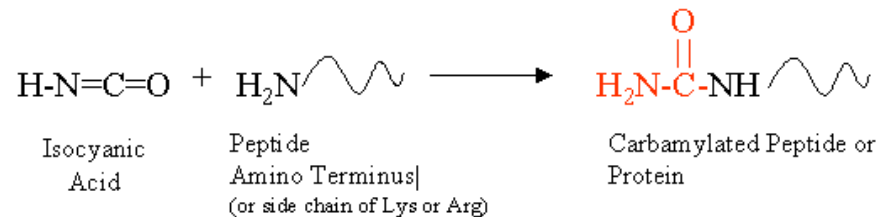
ribonukleotid reduktáza



Narušení produkce dNTPs pro DNA syntézu

a další

Karbamylace proteinů (Lys a N-konec)



Alkylační látky a deriváty platiny

Látky odvozené od yperitu

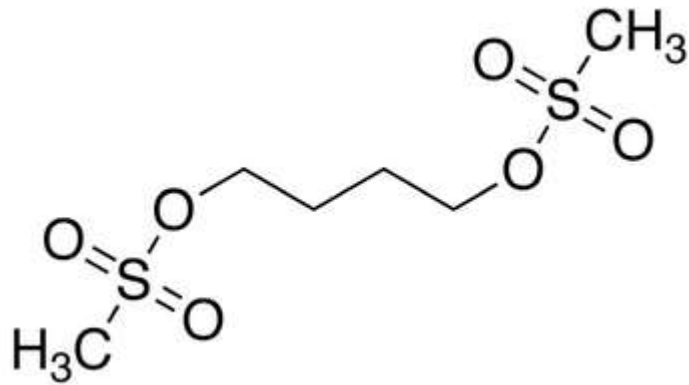
Deriváty nitrozomočoviny

Jiné alkylační látky

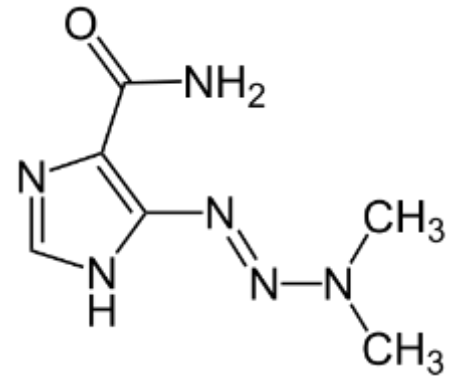
Deriváty platiny

Další alkylační látky

Sulfonáty (**busulfan**)



Triaziny (**dacarbazin**)



Alkylační látky a deriváty platiny

Látky odvozené od yperitu

Deriváty nitrozomočoviny

Jiné alkylační látky

Deriváty platiny

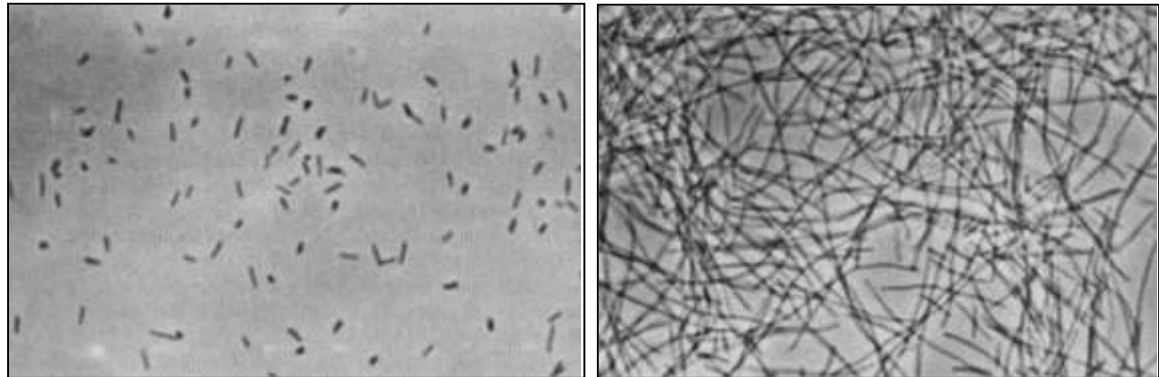
Platinové deriváty, aneb jak náhoda vedla k objevu komerčně nejúspěšnějšího cytosatika



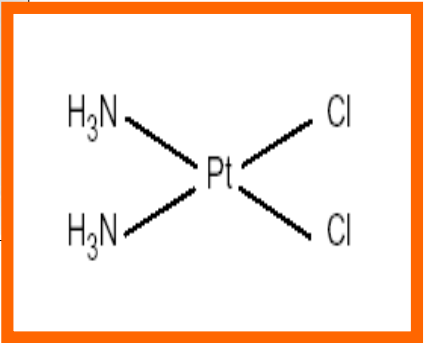
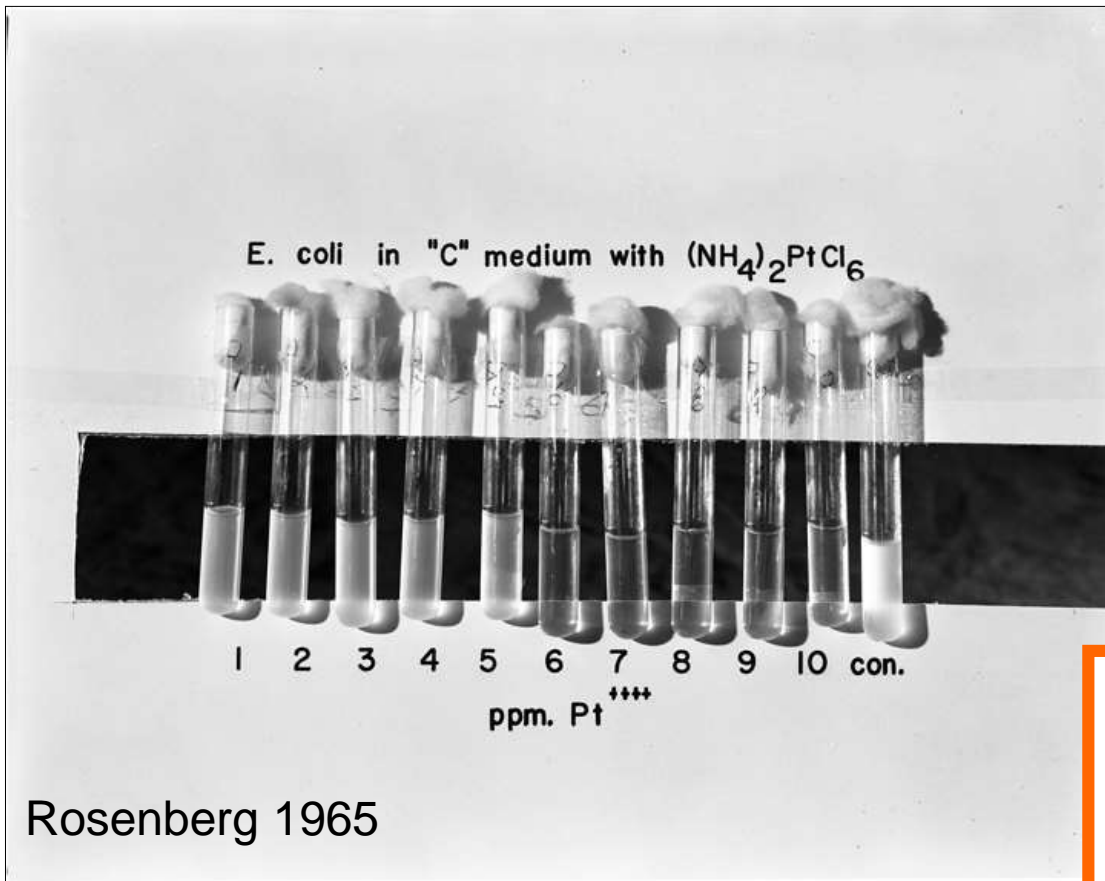
Barnett Rosenberg (Michigan State University)

1964 testoval svou hypotézu, že elektrické poli způsobí
dizorganizaci bakteriálního chromozómu a bakterie se nebudou
dělit normálně.

Vložil suspenzi *E. coli* mezi dvě platinové elektrody
dělení bakterií se zastavilo a vznikly dlouhé vláknité formy



S jiným typem elektrod se to nedělo, muselo se jednat o chemikálii z elektrod a
případně z média.



***cis*-dichlorodiamin-platina
(cisplatina)**

**1968 - cisplatinou vyléčil nádor u myši
1978 - cisplatina schválena NIH k terapii**

BIOPHYSICS

Inhibition of Cell Division in *Escherichia coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode

IN an investigation of the possible effects of an electric field on growth processes in bacteria, we have discovered a new and interesting effect. In *E. coli*, the presence of certain group VIIIb transition metal compounds in concentrations of about 1-10 parts per million of the metal in the culture medium causes an inhibition of the cell division process. The bacteria form long filaments, up to 300 times the normal length, which implies that the growth process is not markedly affected.

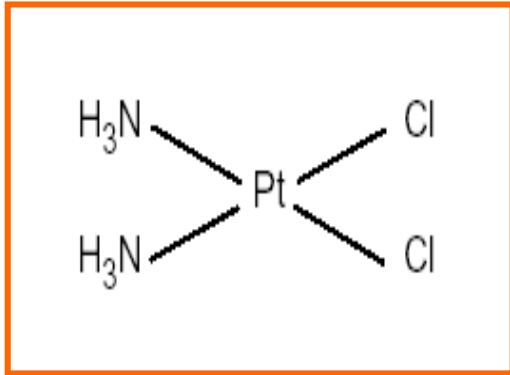
Experiments were performed in a continuous culture apparatus in a chamber of special design. The nutrient medium was the chemically defined 'C' medium of Roberts *et al.*¹ used with 1 g of glucose/l. and 0.026 g/l. MgCl₂. The chamber was maintained at 37° ± 0.1° C. *E. coli* B and K-12 were used to inoculate the chamber. Compressed air was bubbled through a glass frit bubbler. Two half-cylindrical platinum mesh electrodes were built into the chamber. Once the bacterial population reached a steady state (about 24 h) as determined by turbidity measurements, it maintained its constant value (± 2 per cent

A number of physical and chemical agents are known to cause filamentous growth, that is, inhibit cell division but not growth. Among these are dyes such as methylene blue² and penicillin³, near ultra-violet irradiation⁴, transfer to an unaccustomed medium, osmotic pressure changes, temperature changes⁵, and magnesium deficiency or excess⁶.

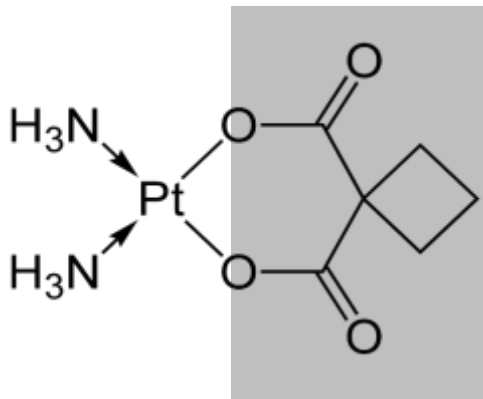
We have, with a variety of tests, eliminated the possibilities that ultra-violet light, temperature, pH, and magnesium concentration are involved in this effect of the electric field. We have also found that adaptive mechanisms and mutation effects are not involved.

It is possible that a chemical change is produced in the medium by electrolysis and that these new chemical products are the causative agents. To test this the nutrient was pumped into one chamber with electrodes in it (electrolysis chamber) before pumping it into a second chamber without electrodes which had been inoculated (bacterial chamber). The electric current was passed through the electrolysis chamber. No electric current was present in the bacterial chamber. If a new chemical species is created in the electrolysis chamber and it has a sufficiently long life it will appear in the bacterial chamber. The test conclusively showed that one or more long-lived new chemical species was created by the electric current and is responsible for the bacterial elongation. It caused elongation if oxygen was present in the electrolysis cham-

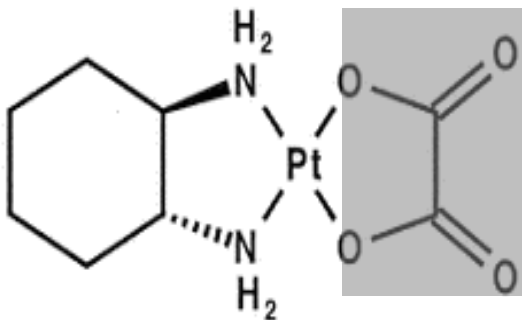
Deriváty platiny s protinádorovým účinkem



Cisplatina



Karboplatina

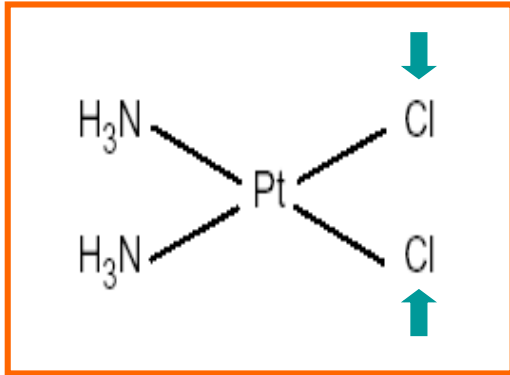


Oxaliplatina

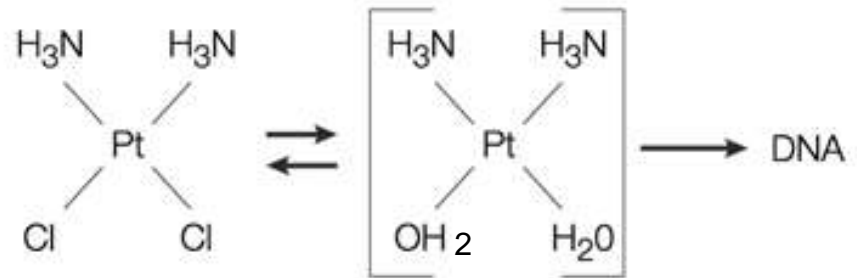
Deriváty platiny s protinádorovým účinkem

Vstupují do buňky pasivně
a/nebo transportérem CTR1

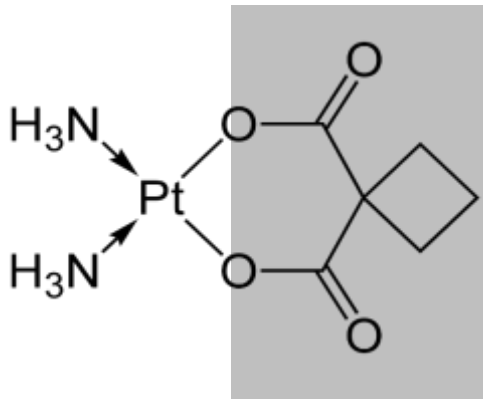
V cytosolu dojde k hydrolyze
(k aktivaci)



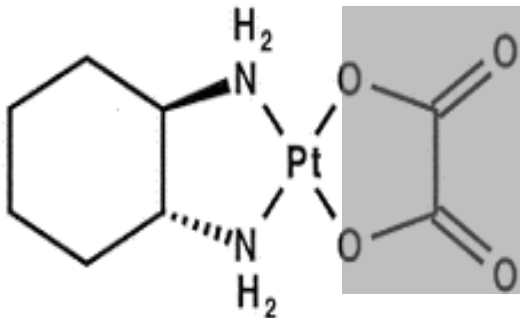
Cisplatina



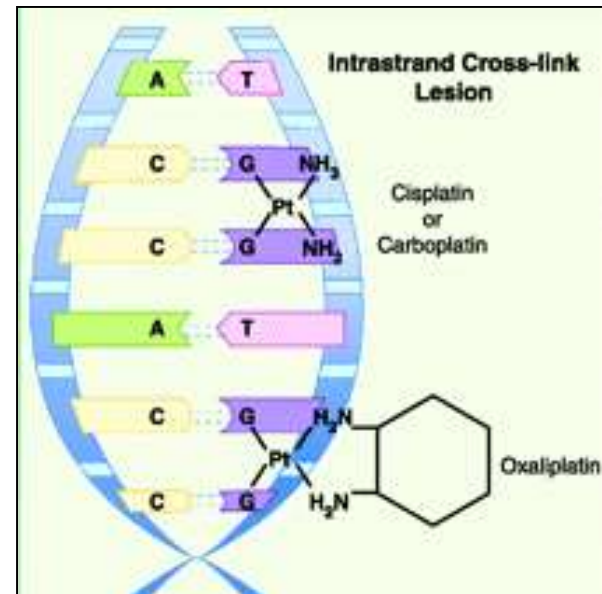
a tvorbě DNA aduktů



Karboplatina



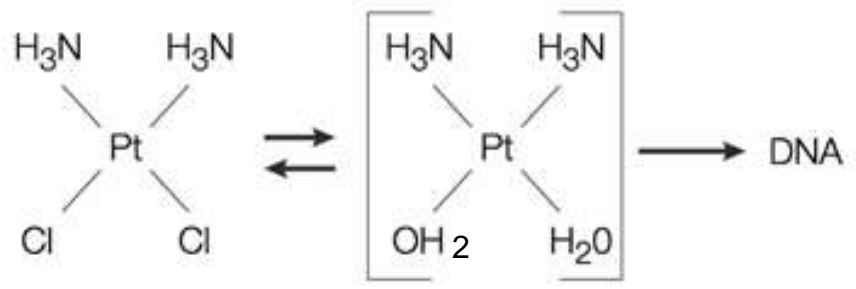
Oxaliplatina



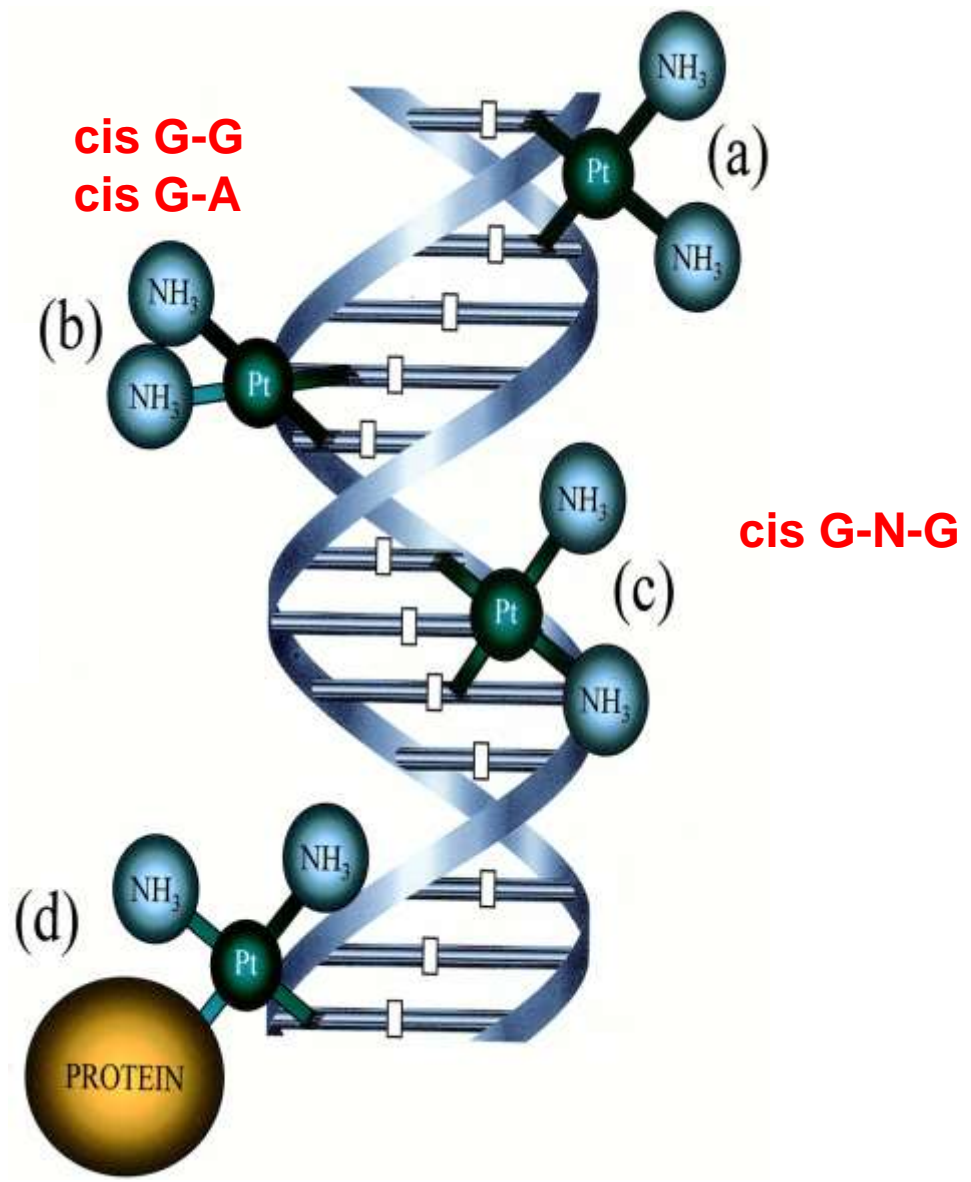
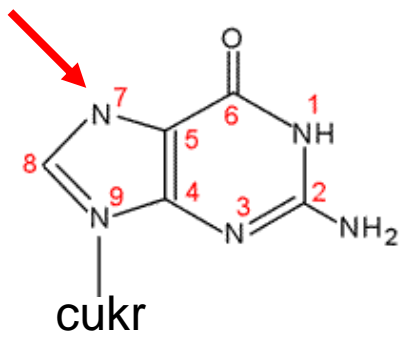
Platinové deriváty vytvářejí DNA kroslinky (převážně **intrařetězcové** na rozdíl of alkylujících látek)

**(trans G-G)
jen vzácně!**

Nižší koncentrace Cl⁻ v cytosolu vede k hydrolyze (k aktivaci)

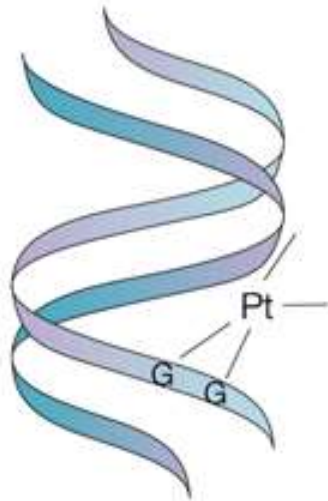


Adukty nejčastěji na G
(v poloze N7)

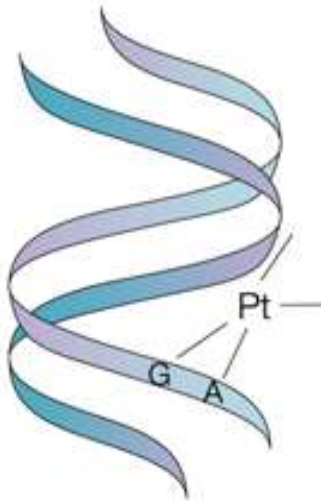


Intrastrand adducts

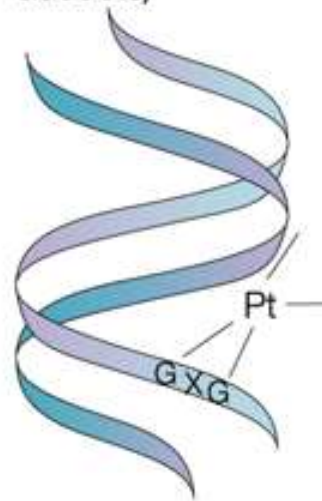
(About 65%)



(About 25%)

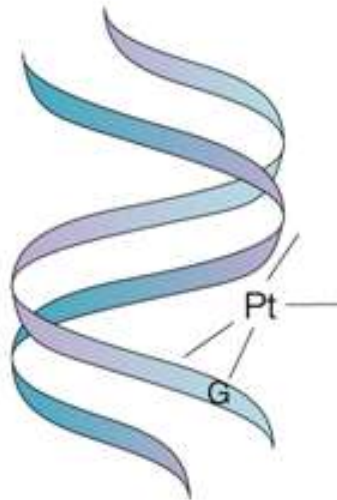


(Rest of intrastrand adducts)

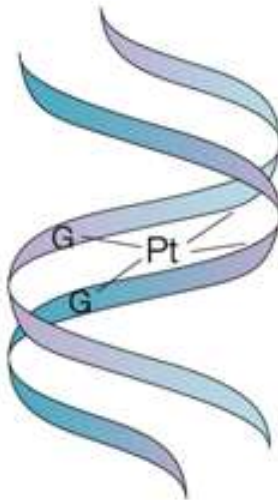


Other types of adduct

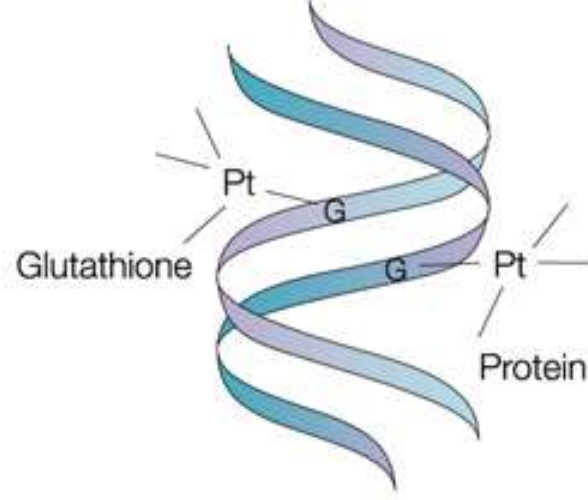
Monoadduct



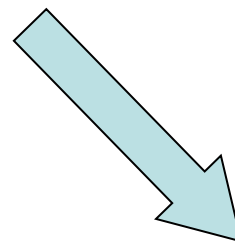
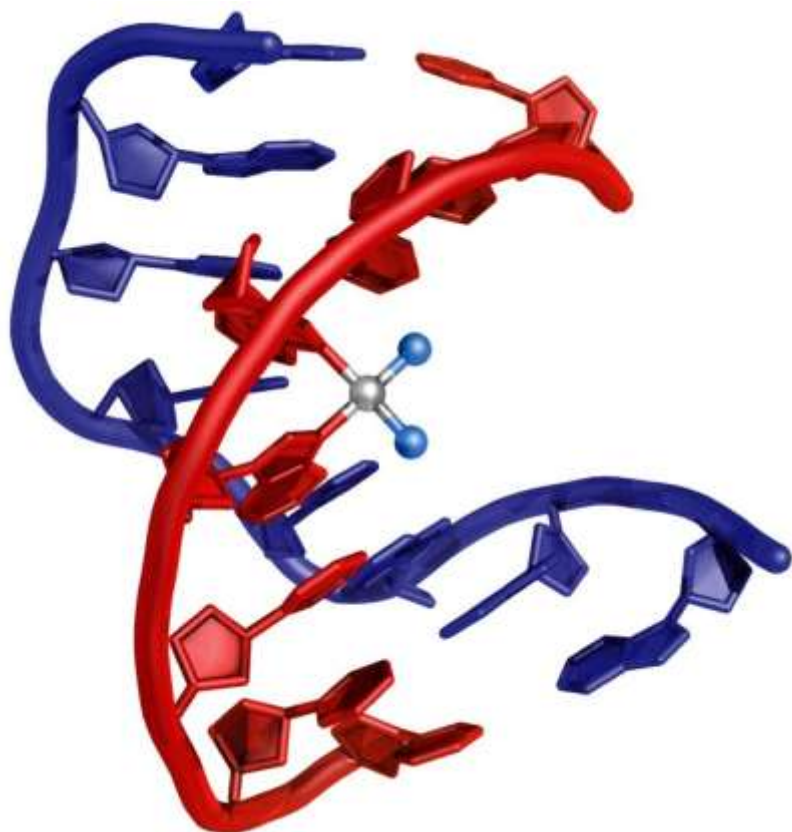
Interstrand adduct (<1%)



Intermolecular adduct



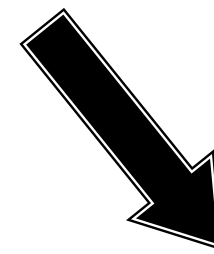
Pt-adeny (intrastrand) vedou k distorzi dvoušroubovice DNA (včetně mtDNA)



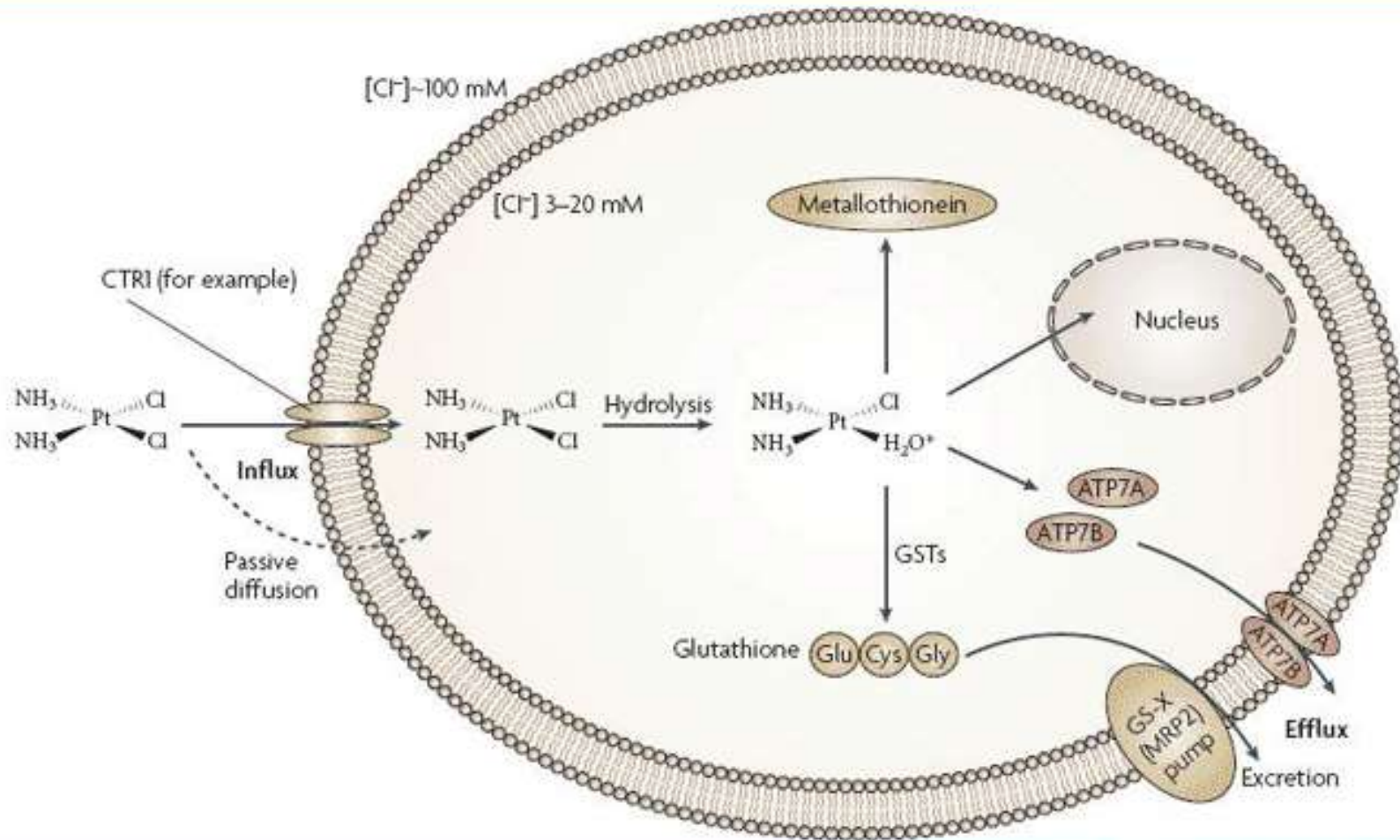
Inhibici replikace
Inhibici transkripce
Poškození telomer (bohaté na G)



Aktivace DNA oprav



Apoptóza



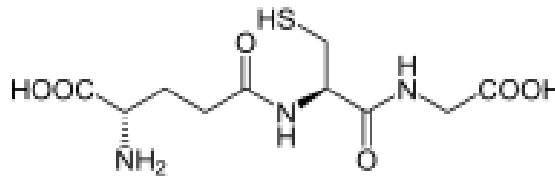
Další efekty platinových derivátů vázaných na DNA

- inaktivace proteinů DNA repairu
- interakce s transkripčními faktory (alterace transkripce)

ALE! Pouze 1% Pt-derivátů je v buňce navázáno na DNA

Další efekty volných platinových derivátů

- oxidativní stres vlivem inhibice antioxidantních enzymů (GST, SOD, kataláza...)
(vysoká afinita k –SH enzymům a glutathionu)
- Interaguje s membránovými proteiny i fosfolipidy a mění fluiditu membrán
- **uvolnění cytochromu c z mitochondrií a spouštění apoptotických drah**



Glutathion (GSH)

GENOTOXICKÉ LÁTKY

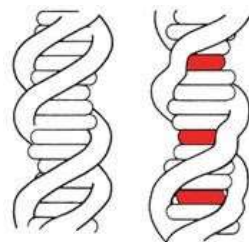
Alkylační činidla a deriváty platiny

Interkalační činidla, inhibitory DNA topoizomeráz

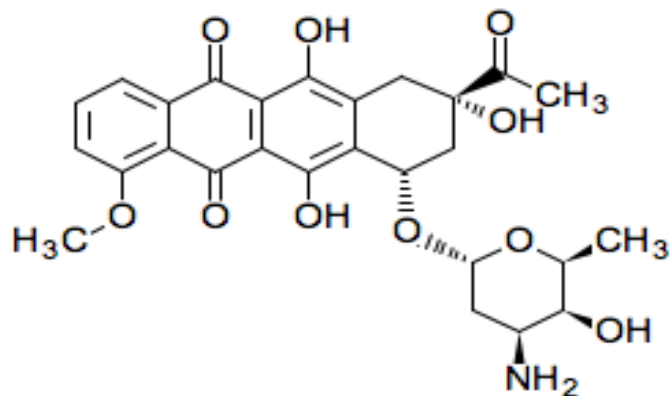
Látky způsobující rozštěpení DNA

Interkalační látky (antracykliny)

Antracykliny - Planární molekuly se 4 armoatickými jádry
(antibiotika izolovaná ze streptomycet 1960-1963 a jejich deriváty)

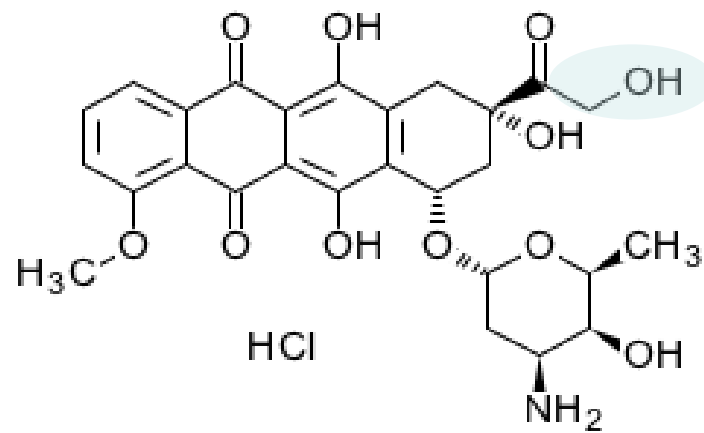


Daunorubicin

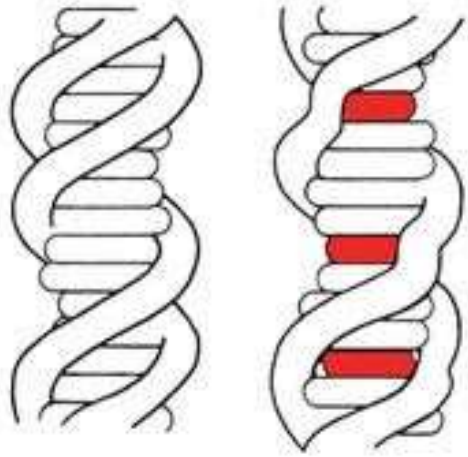


Doxorubicin

(komerční název adriamycin, idarubicin)



Interkalace doxorubicinu do dsDNA



Doxorubicin

Doxorubicin-DNA structure

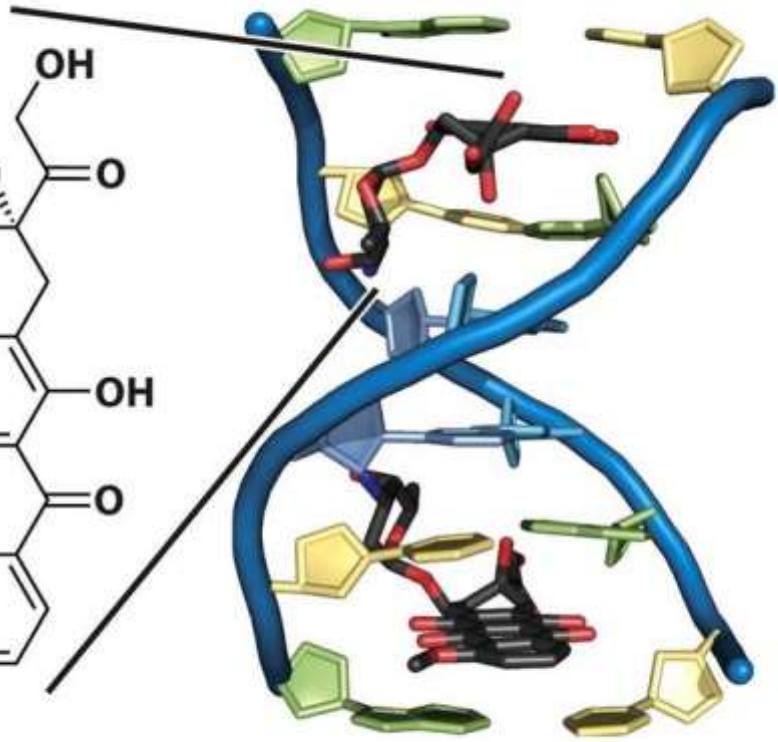
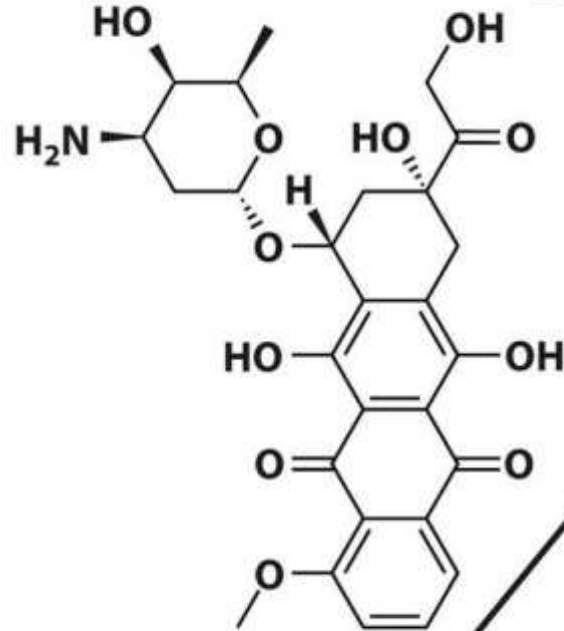
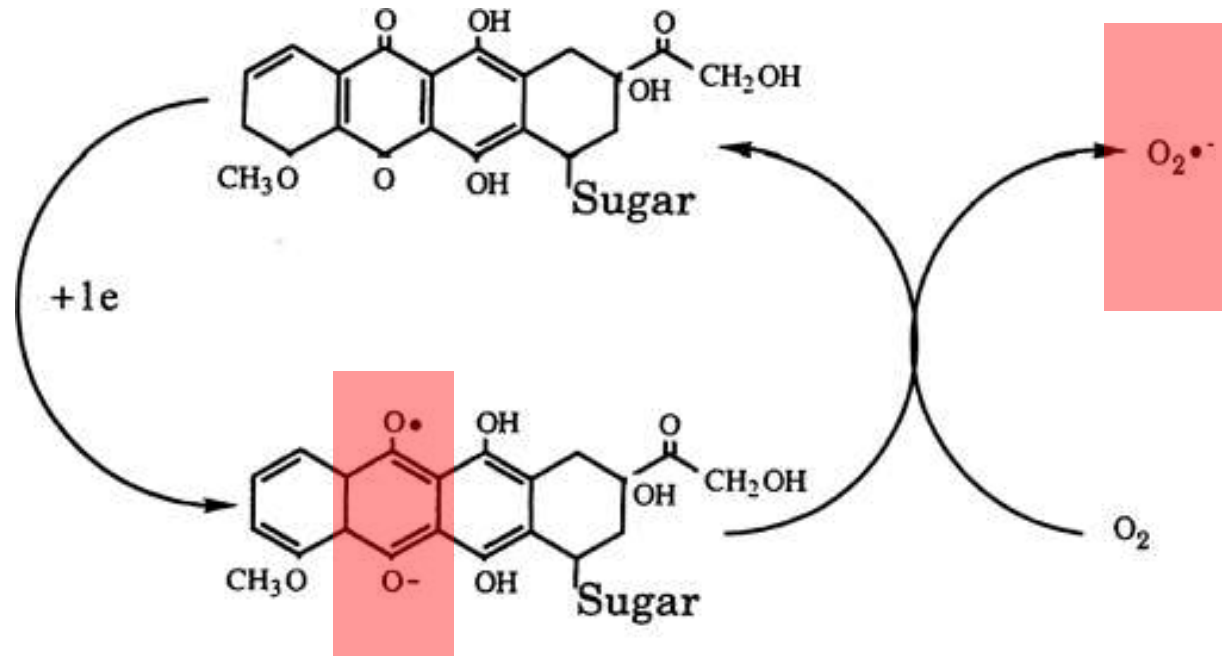


Figure 12-14c
Molecular Biology: Principles and Practice
© 2012 W. H. Freeman and Company

Generování volných radikálů antracykliny

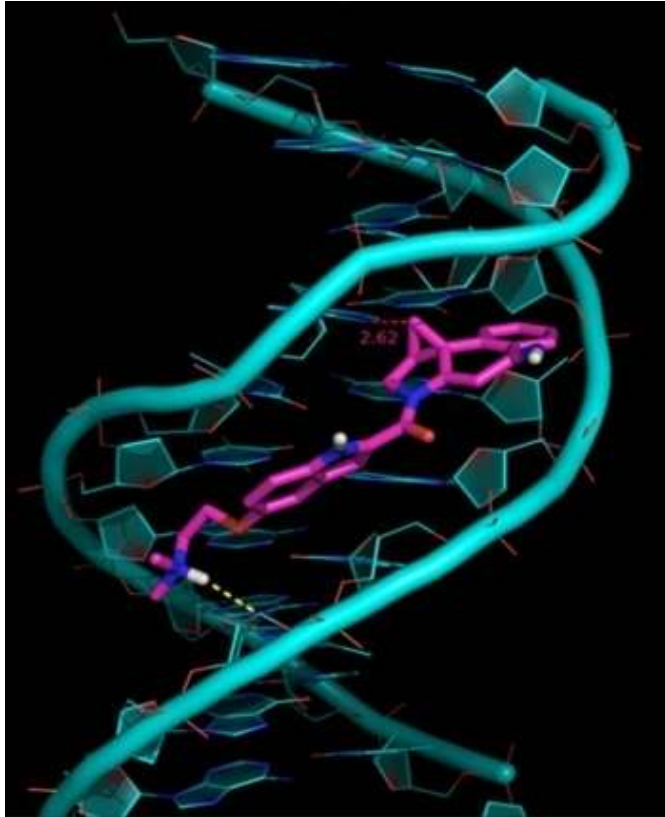
chinonová forma



semichinonová forma

O₂^{•-} = superoxide

Antracykliny – mechanismus účinku



- Interkalace molekuly do DNA způsobí inhibici transkripce a replikace
inhibici topizomerázy II → **dvouřetězcové zlomy**
- generují kyslíkové radikály
- vytěsňují histony z DNA a tak ovlivňují transkripci (účinnost nejen v S-fázi)

Table 1 – DNA topoisomerases

Topoisomerase I	Topoisomerase II
100 kDa	170 kDa; 180 kDa
Makes single-strand DNA breaks	Makes double-strand DNA breaks
ATP independent	ATP dependent
Genes located on chromosome 20q12	Gene located on chromosomes 17q21 and 3p24
	Two types, alpha and beta

Kardiotoxicita - poškozují srdeční sval

Inhibitory DNA topoizomeráz

Aktivita topoizomeráz – uvolnění nadšroubovicovitého vinutí při replikaci nebo transkripci.

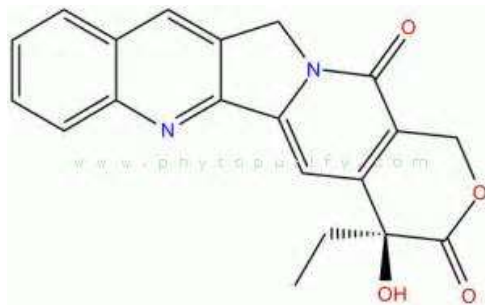
Inhibicí aktivity topoizomeráz po rozštěpení řetězce DNA nedojde k opětovnému spojení řetězců vznikají tak **ss nebo ds zlomy, mechanismus není zcela jasný**

DNA topoisomerases	
Topoisomerase I	Topoisomerase II
100 kDa	170 kDa; 180 kDa
Makes <u>single-strand DNA breaks</u>	Makes <u>double-strand DNA breaks</u>
ATP independent	ATP dependent
Genes located on chromosome 20q12	Gene located on chromosomes 17q21 and 3p24
	Two types, alpha and beta

Topoizomeráza I a II **jsou přítomné prakticky jen v aktivně se dělících buňkách – vhodné cíle terapie**

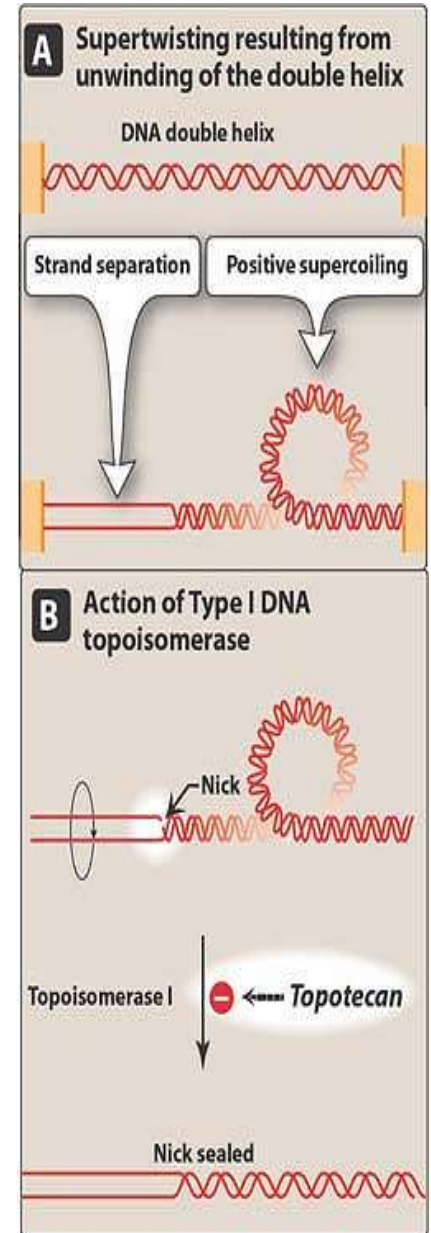
Inhibitory TOPOIZOMERÁZY I.

Deriváty **kamptothecinu** z kůry stromu *Camptotheca acuminata*
topotecan a irinotecan



kamptothecin

Vznik jednořetězcových zlomů v DNA



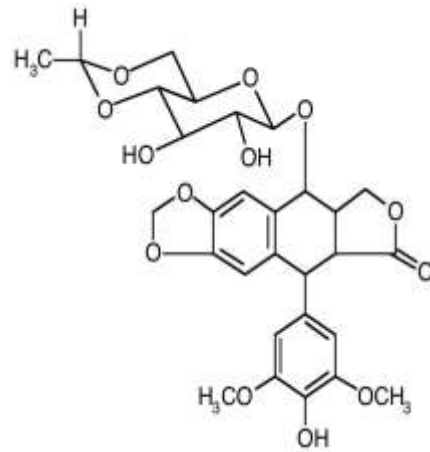
Inhibitory TOPOIZOMERÁZY II.

Deriváty epipodofylotoxinu z kořene

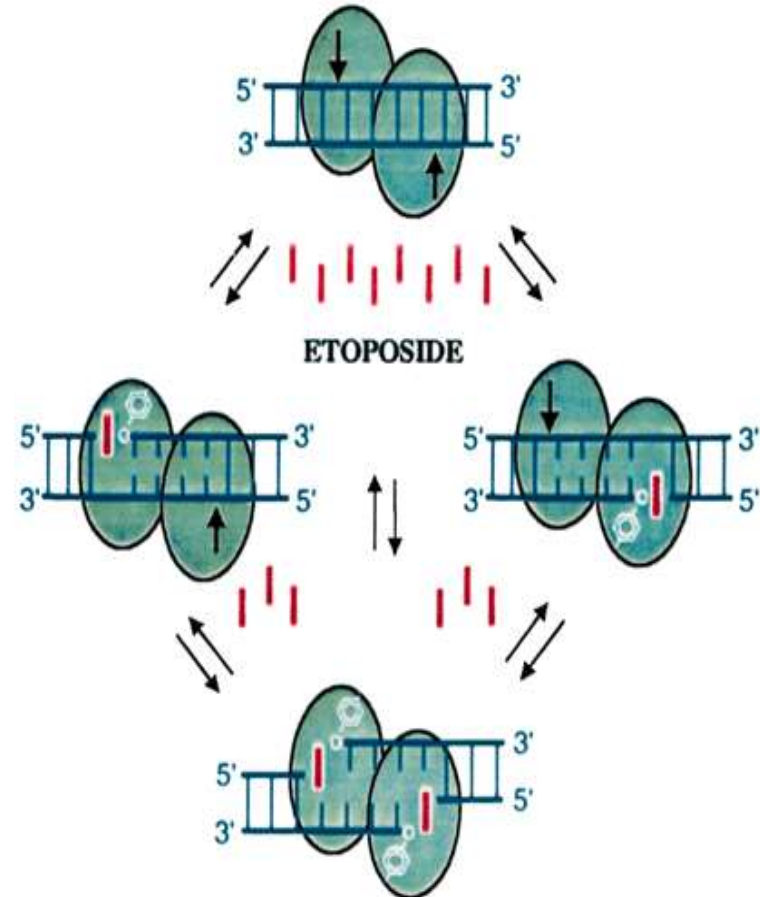
Podophyllum peltatum

(noholist štítnatý)

Etoposid, teniposid



Etoposid



Vznik ternárního komplexu s DNA a topizomerázou brání znovuspojení řetězců a kumulaci dvouřetězcových zlomů

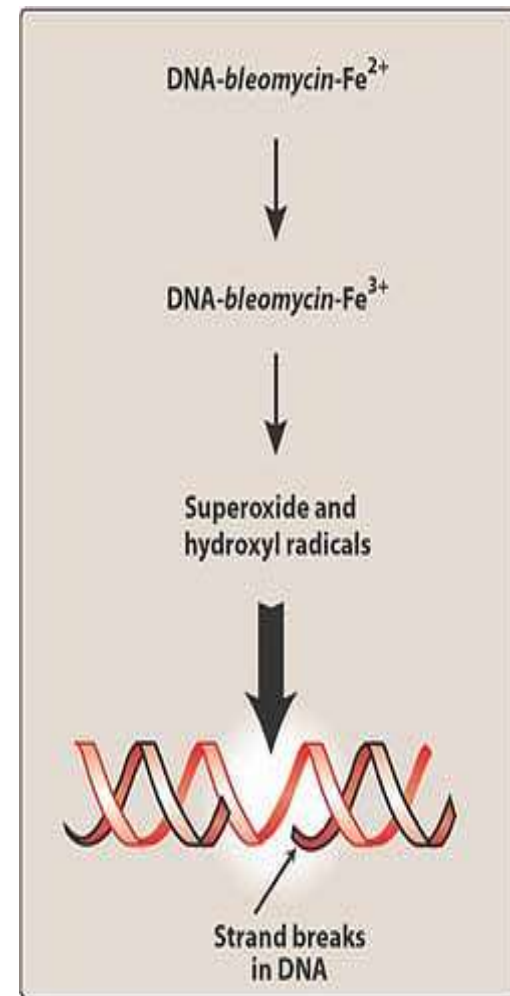
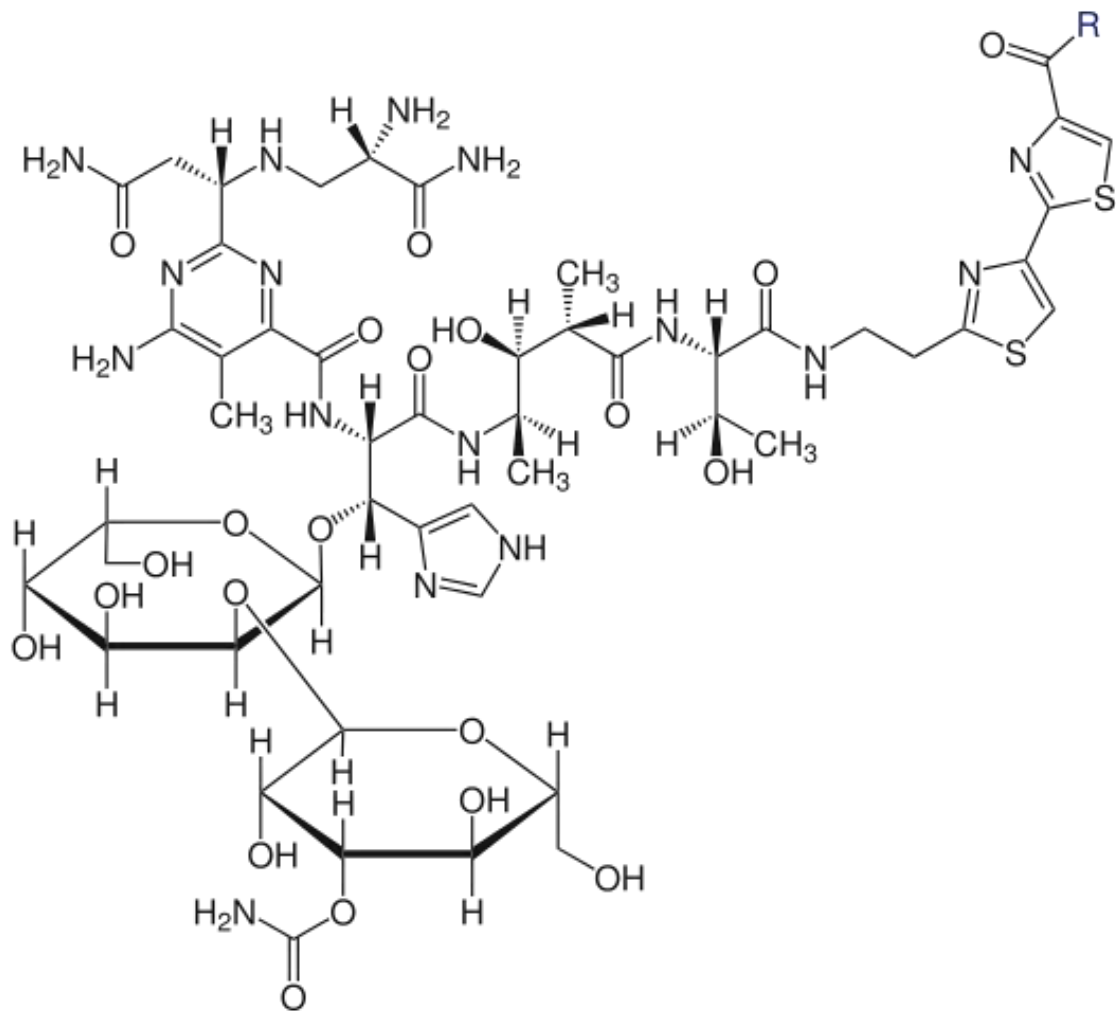
GENOTOXICKÉ LÁTKY

Alkylační činidla a deriváty platiny

Interkalační činidla

Inhibitory DNA topoizomeráz

Látky způsobující rozštěpení DNA



Klasická Cytostatika

*genotoxické
látky
a
antimetaboly*

Účinek na
DNA

Účinek na mitotické
vřeténko

Účinek na
receptorech pro
steroidní
hormony

Poškození DNA nebo inhibice
syntézy

Agonisté

Antagonisté

Alkylace
s jiné
modifikace

Tvorba
volných
radikálů

Interkalace
a inhibice
topoisomeráz

Antimetaboly
a
hydroxyurea

Poškození existující DNA
(genotoxicita)

Poškození DNA při syntéze,
interference s ní a další efekty

ANTIMETABOLITY

antimetabolity

strukturní analogy vitaminů, regulačních látek nebo substrátů enzymů, blokující (obvykle mechanismem kompetice o vazebné místo) jejich působení.

Analogy kyseliny listové

Purinové antimetabolity

Pyrimidinové antimetabolity

Hydroxymočovina

Antimetaboly – analogy stavebních jednotek NA

- Inkorporace do DNA, inhibice replikace, indukce zlomů a inhibice oprav
 - Inhibice klíčových enzymů
 - Methylace DNA

Fungují především (ale ne výhradně) v S fázi

Analogy kyseliny listové

Metotrexát
(Inhibitor DFR)

Purinové analogy

Merkaptoguanin
(analog báze)

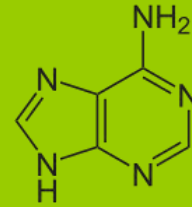
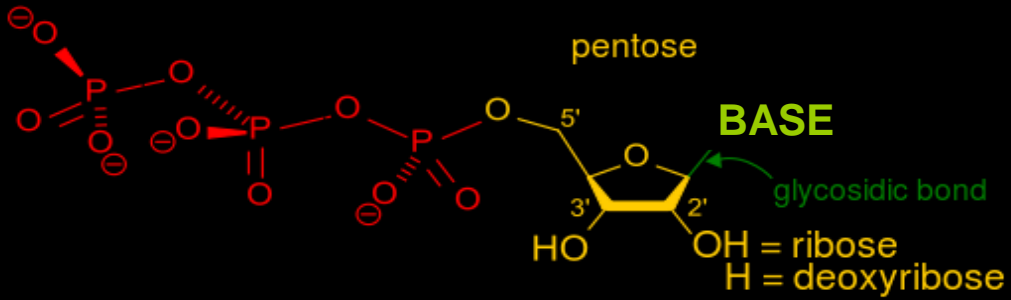
Fludarabin
(analog nukleosidu)

Pyrimidinové analogy

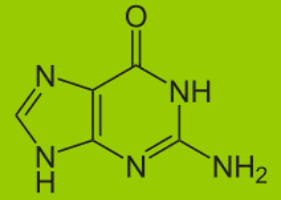
Fluoruracil
(analog báze)

Cytarabin
(analog nukleosidu)

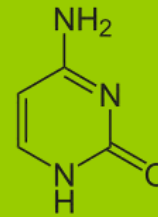
A hydroxymočovina...



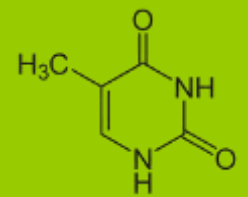
Adenin



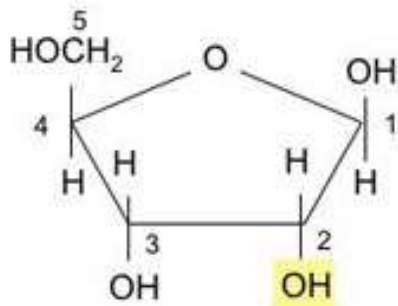
Guanin



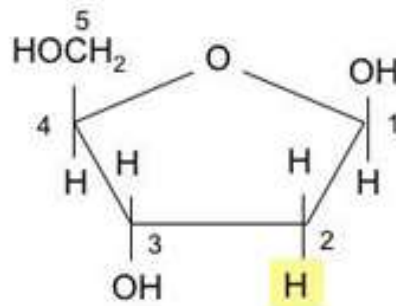
Cytosin



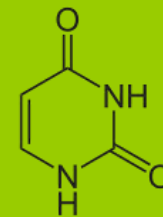
Thymin



Ribose



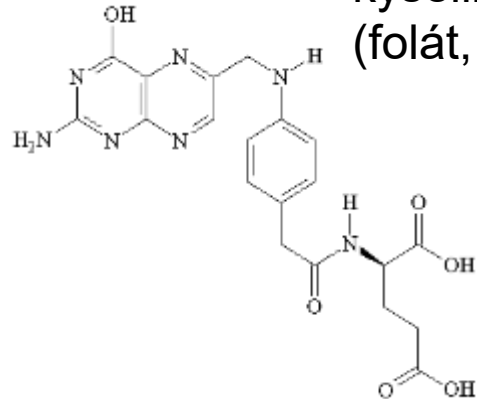
Deoxyribose



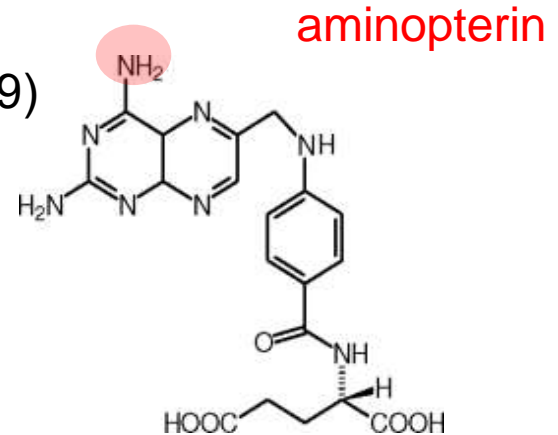
Uracil



Nature Reviews | Cancer



kyselina listová
(folát, vitamín B9)



1947 - **Sidney Farber** (Harvard Medical School)

Bylo známo, že podání **kyseliny listové** obnoví krvetvorbu při anemii z nedostatku folátu. Pokoušel se **kyselinou listovou** léčit leukemii u dětí – došlo k rychlé progresi onemocnění. Začal tedy hledat „anti-folát“ – použil **aminopterin** kterým dosáhl ústupu (remise) akutní lymfoblastické leukemie (ALL) u několika dětí.

The New England Journal of Medicine

Copyright, 1948, by the Massachusetts Medical Society

Volume 238

JUNE 3, 1948

Number 23

TEMPORARY REMISSIONS IN ACUTE LEUKEMIA IN CHILDREN PRODUCED BY FOLIC ACID ANTAGONIST, 4-AMINOPTEROYL-GLUTAMIC ACID (AMINOPTERIN)*

SIDNEY FARBER, M.D.,† LOUIS K. DIAMOND, M.D.,‡ ROBERT D. MERCER, M.D.,§
ROBERT F. SYLVESTER, JR., M.D.,¶ AND JAMES A. WOLFF, M.D.||

BOSTON

Sufficient encouragement was obtained from these observations to justify further studies on the effect of more powerful antagonists to folic acid on the course of acute leukemia in children. Since November, 1947, when a sufficiently pure substance became available, to the time of this writing (April 15, 1948) we have made studies on 16 children with acute leukemia to whom the most powerful folic acid antagonist we have yet encountered, 4-aminopteroyl-glutamic acid (aminopterin††) was administered by intramuscular injection. Many of these children were moribund at the onset of therapy. Of 16 infants and children with acute leukemia treated with aminopterin 10 showed clinical, hematologic and pathological evidences of improvement of important

nature of three months' duration at the time of this report. Six patients did not respond well; 4 of these are now dead, and 2 were unimproved. This paper presents detailed clinical, hematologic and bone-marrow studies in 5 children selected from these 10 who showed evidences of important improvement—the course in the other cases was essentially similar. The patients are selected for the purpose of illustrating some of the problems concerned with the use of aminopterin and because they demonstrate the best results that we have

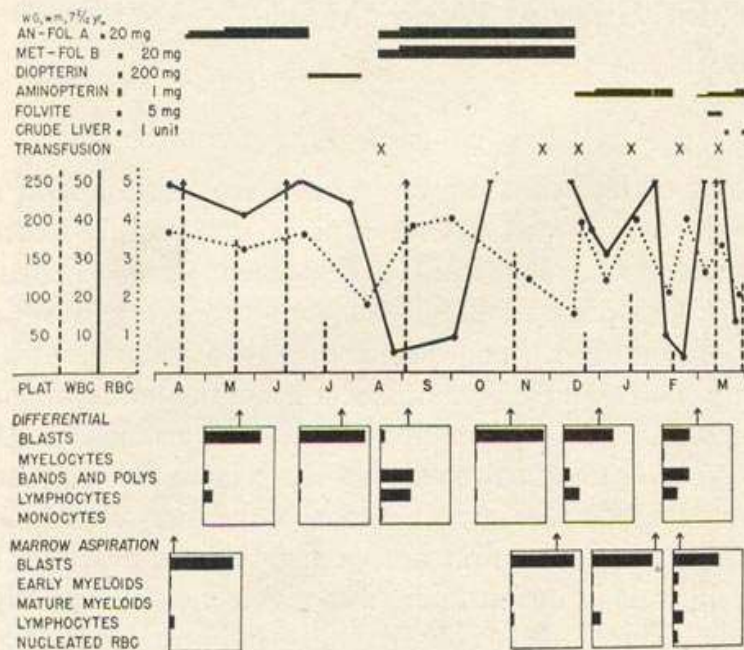


FIGURE 1. Course of Leukemia in Case 1.

observed. The toxic effects are stressed in these histories, and the temporary nature of the remissions is emphasized.

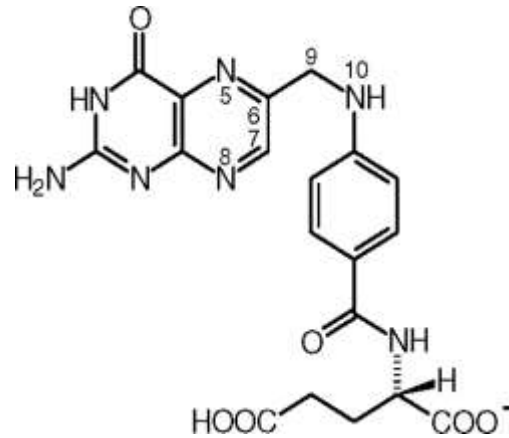


Nature Reviews | Cancer

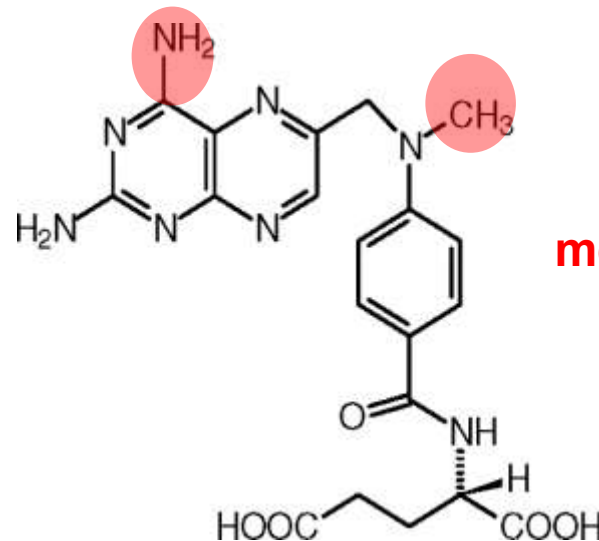
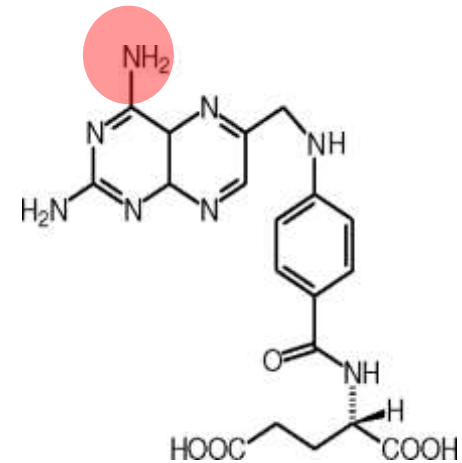
Sidney Farber

1953 -
aminopterin nahrazen
metotrexátem (MTX)
a schválen FDA.

kyselina listová
(folát)



aminopterin

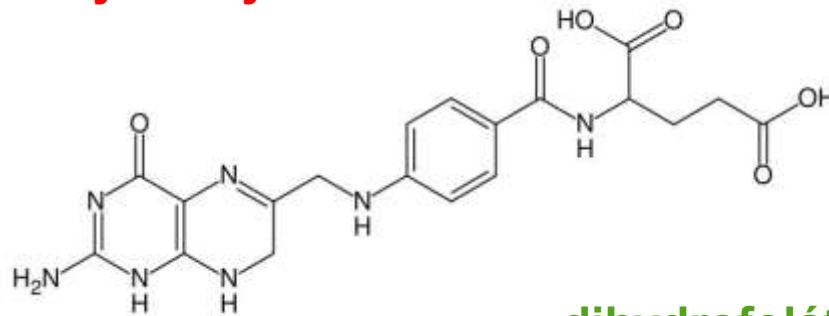
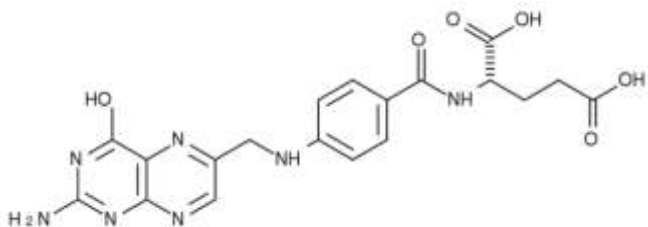


metotrexát (MTX)

KYSELINA LISTOVÁ

Donor jednouhlíkatých zbytků

kyselina listová
(folát)



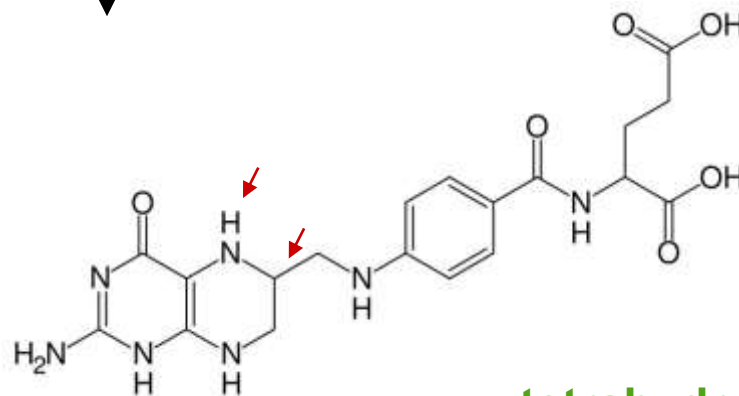
dihydrofolát

NADPH

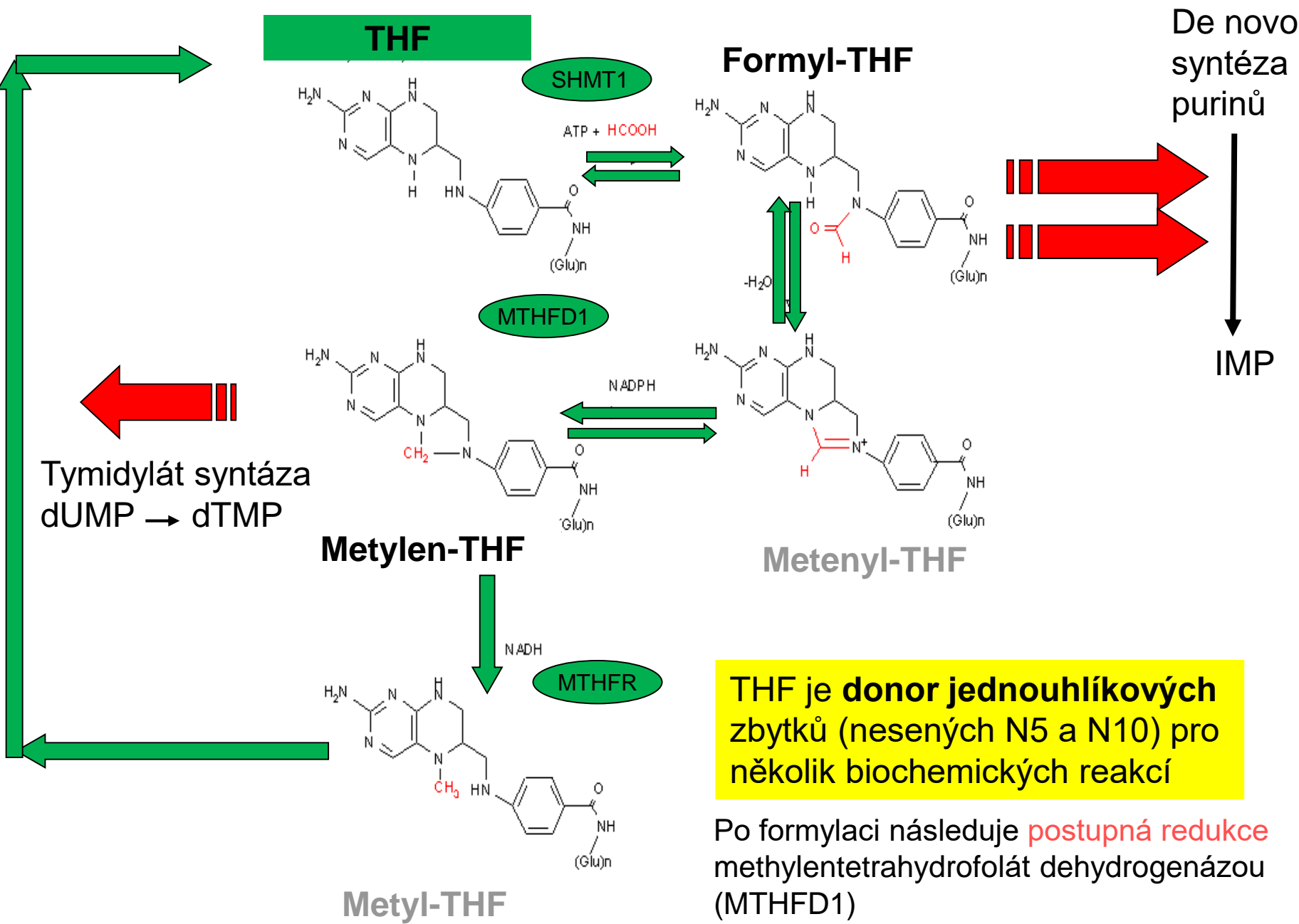


NADP+

Dihydrofolát
reduktáza
(DHFR)

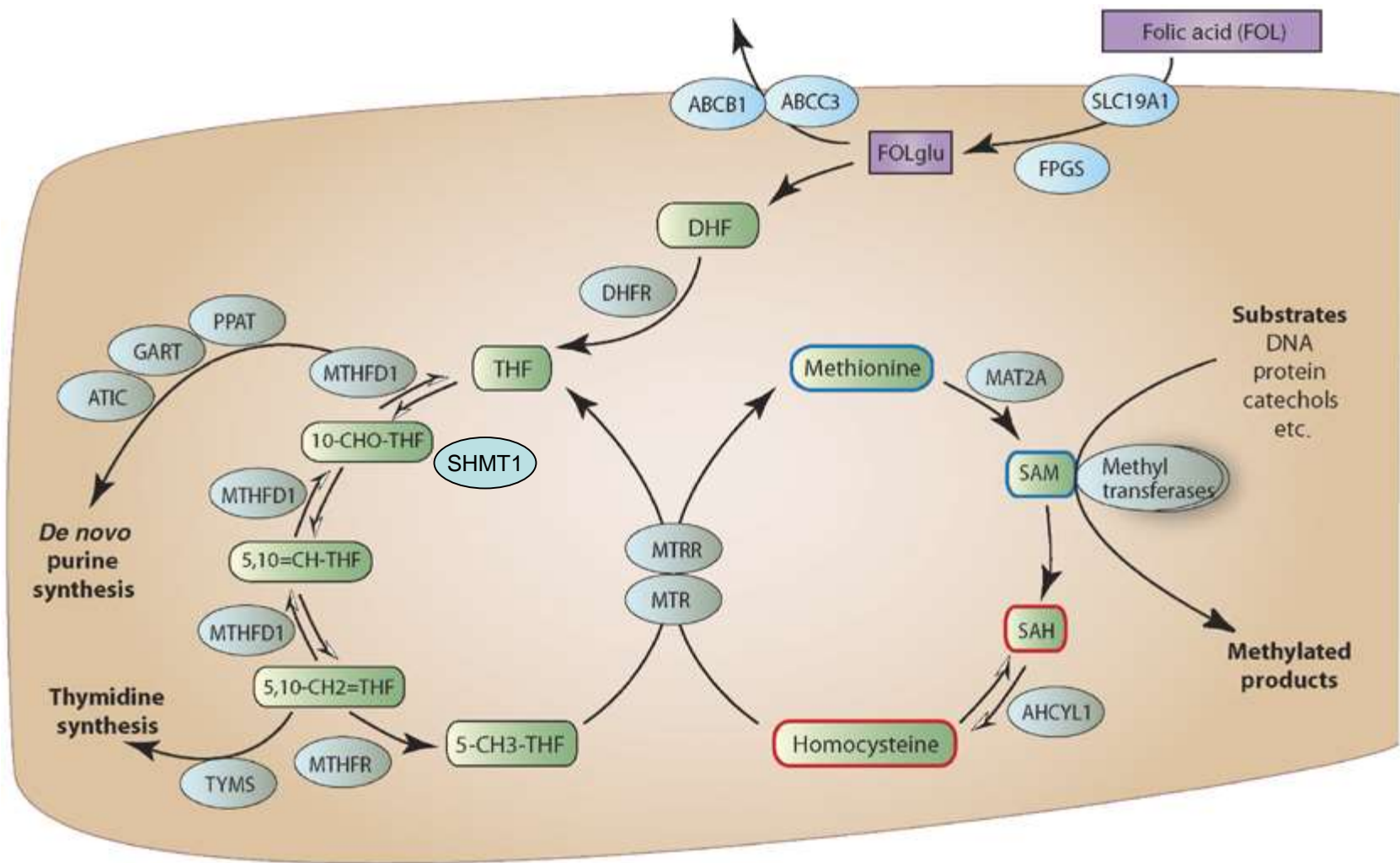


tetrahydrofolát



THF je donor jednouhlíkových zbytků (nesených N5 a N10) pro několik biochemických reakcí

Po formylaci následuje **postupná redukce** methylenetetrahydrofolát dehydrogenázou (MTHFD1) a metylenetetrahydrofolát reduktázou (MTHFR)



SHMT1 – serinhydroxymetyl transferáza

DHFR - dihydrofolát reduktáza

MTHFD1 - trifunkční methylenetetrahydrofolát dehydrogenáza

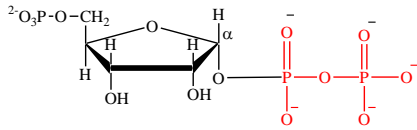
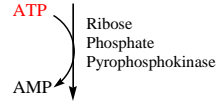
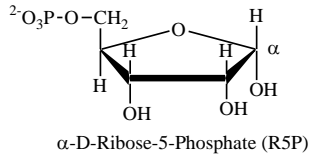
MTHFR- methylenetetrahydrofoláte reduktáza

Syntéza a recyklace purinů a pyrimidinů a jejich nukleosidů

Syntéza de novo

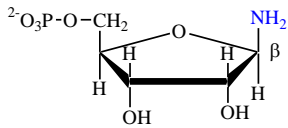
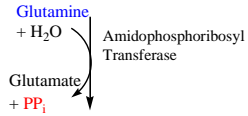
Salvage pathway (*šetřící dráha, záchranná dráha*)
především re-utilizace nukleosidů z buňky i z okolí

De novo syntéza purinů

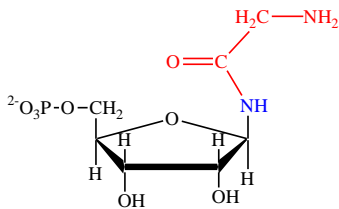
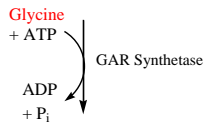


PRPP

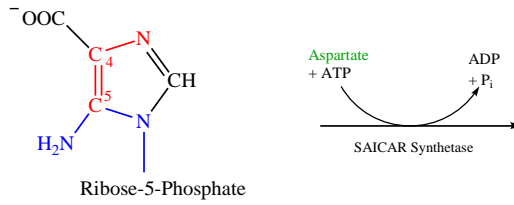
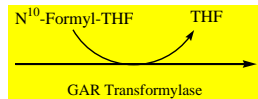
5-Phosphoribosyl- α -pyrophosphate (PRPP)



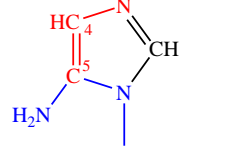
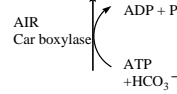
β -5-Phosphoribosylamine (PRA)



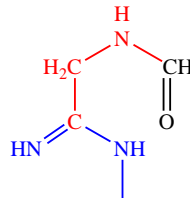
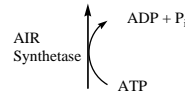
Glycinamide Ribotide (GAR)



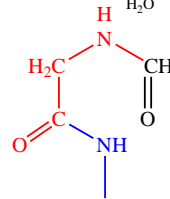
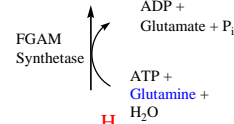
Carboxyamidoimidazole Ribotide (CAIR)



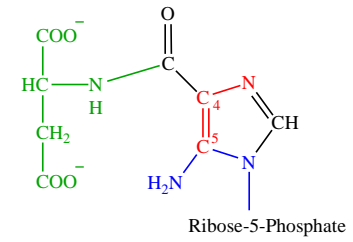
5-Aminoimidazole Ribotide (AIR)



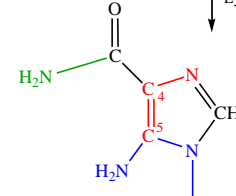
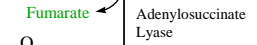
Formylglycinamide ribotide (FGAM)



Formylglycinamide ribotide (FGAR)

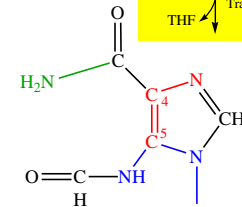
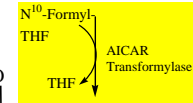


5-Aminoimidazole-4-(N-succinyl)carboxamide ribotide (SAICAR)



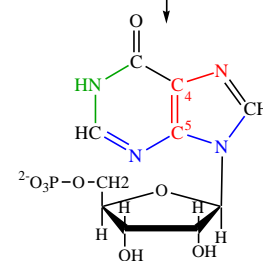
Ribose-5-Phosphate

5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribotide (AICAR)



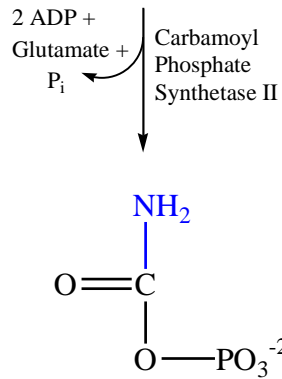
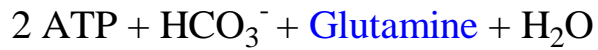
Ribose-5-Phosphate

5-Formaminoimidazole-4-carboxamide ribotide (FAICAR)

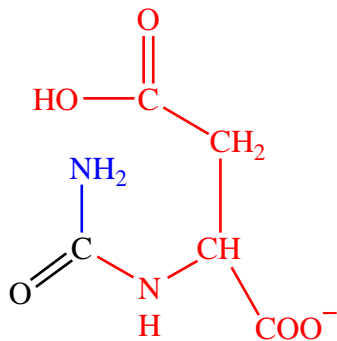
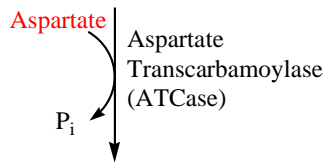


Inosine Monophosphate (IMP)

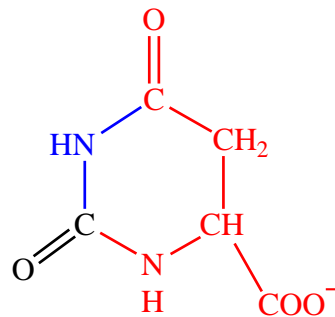
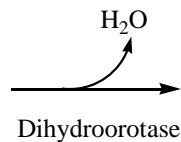
Pyrimidine Synthesis



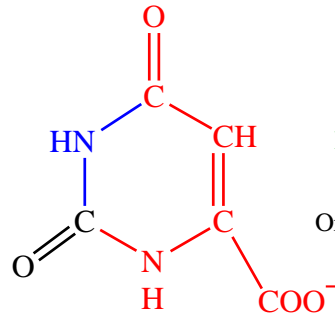
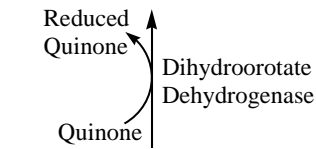
Carbamoyl Phosphate



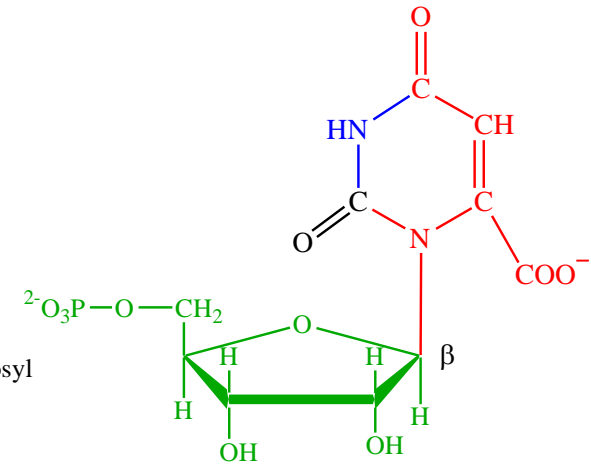
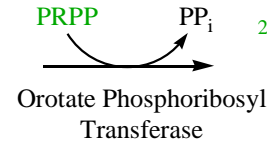
Carbamoyl Aspartate



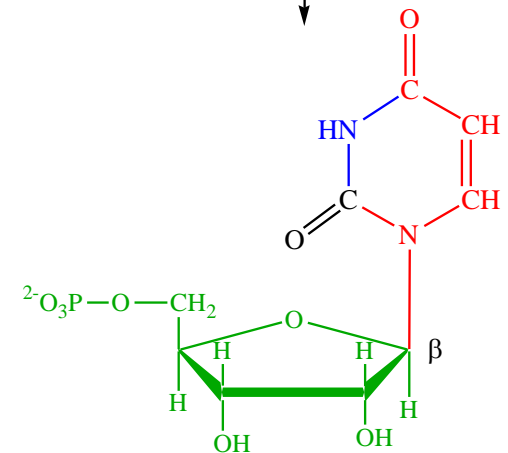
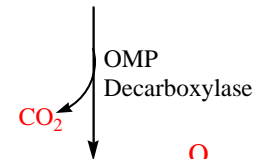
Dihydrorotate



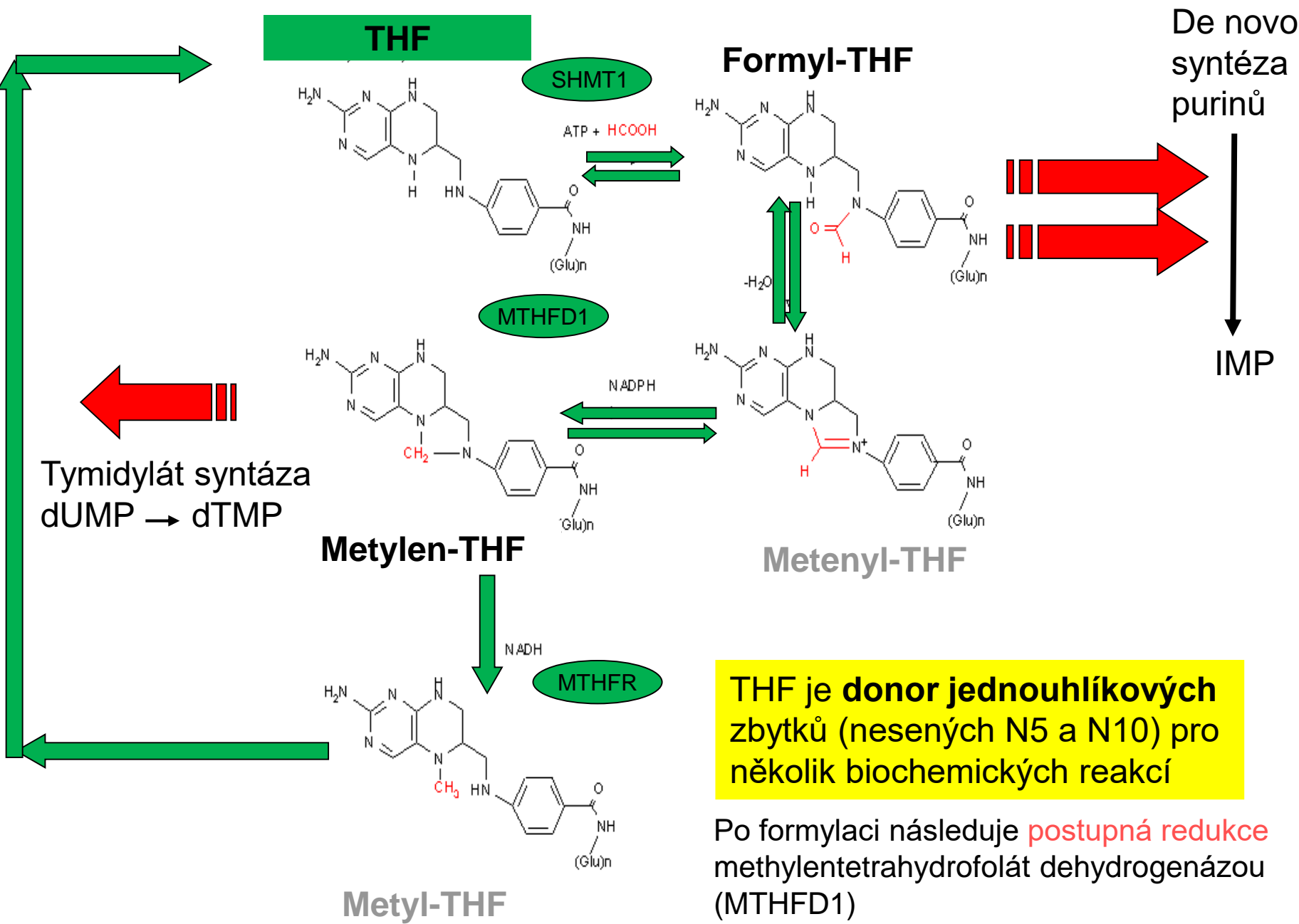
Orotate



Orotidine-5'-monophosphate (OMP)



Uridine Monophosphate (UMP)

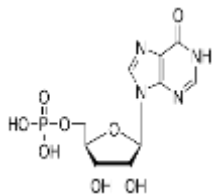


THF je donor jednouhlíkových zbytků (nesených N5 a N10) pro několik biochemických reakcí

Po formylaci následuje postupná redukce methylenetetrahydrofolát dehydrogenázou (MTHFD1) a metylenetetrahydrofolát reduktázou (MTHFR)

PURINY

Syntéza De novo



IMP

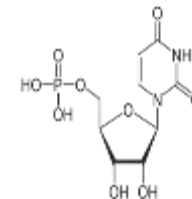
PRPP

Ribózo 5-P

karbamoyl fosfát

PYRIMIDINY

Syntéza De novo

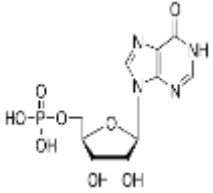


UMP

P_Pi

PURINY

Syntéza De novo



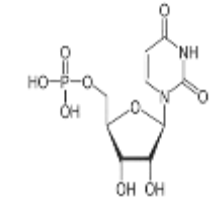
IMP

PRPP

Ribózo 5-P

PYRIMIDINY

Syntéza De novo



UMP

karbamoyl fosfát

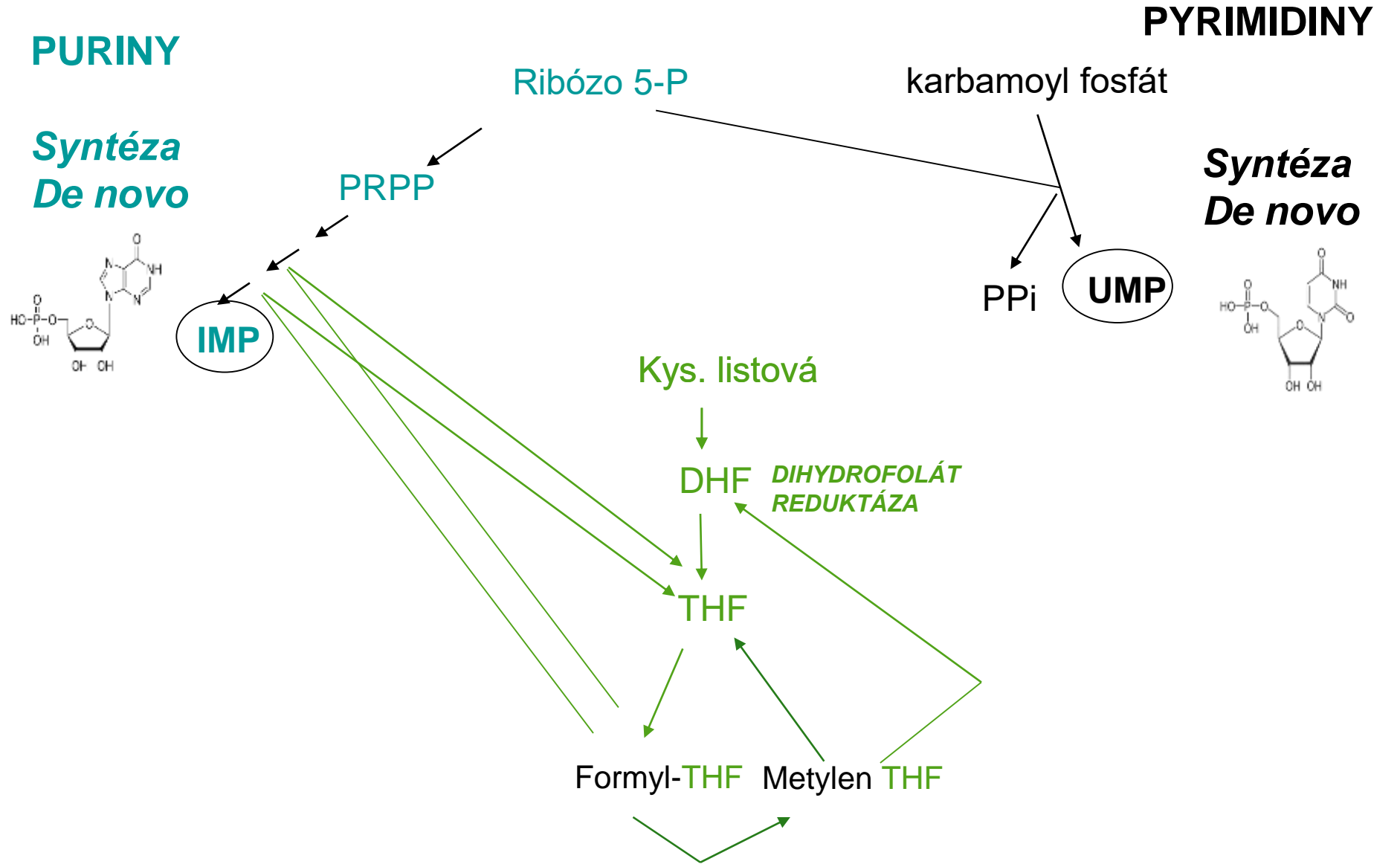
P_Pi

Kys. listová

DHF *DIHYDROFOLÁT REDUKTÁZA*

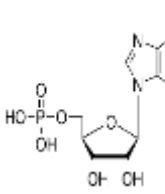
THF

Formyl-THF Metylen THF



PURINY

Syntéza De novo



IMP

AMP

GMP

ADP

GDP

ATP

GTP

PRPP

Ribózo 5-P

Kys. listová

DHF

DIHYDROFOLÁT
REDUKTÁZA

THF

Formyl-THF

Metylen-THF

dGDP
RIBONUKLEOTID
REDUKTÁZA

dADP

karbamoyl fosfát

PPi

UMP

UDP

dUMP

UTP

CTP
SYNTÁZA

CTP

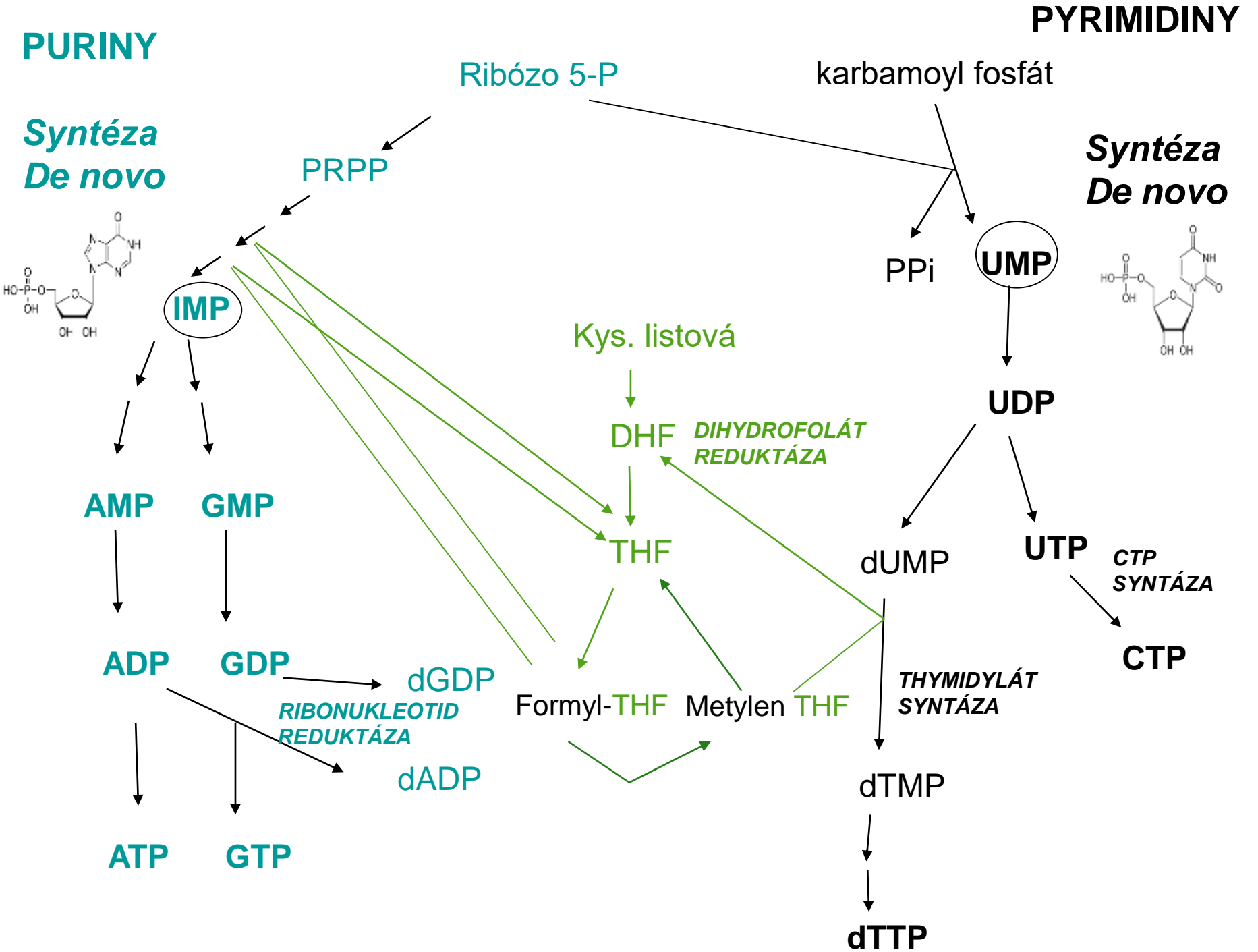
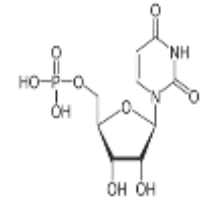
THYMIDYLÁT
SYNTÁZA

dTMP

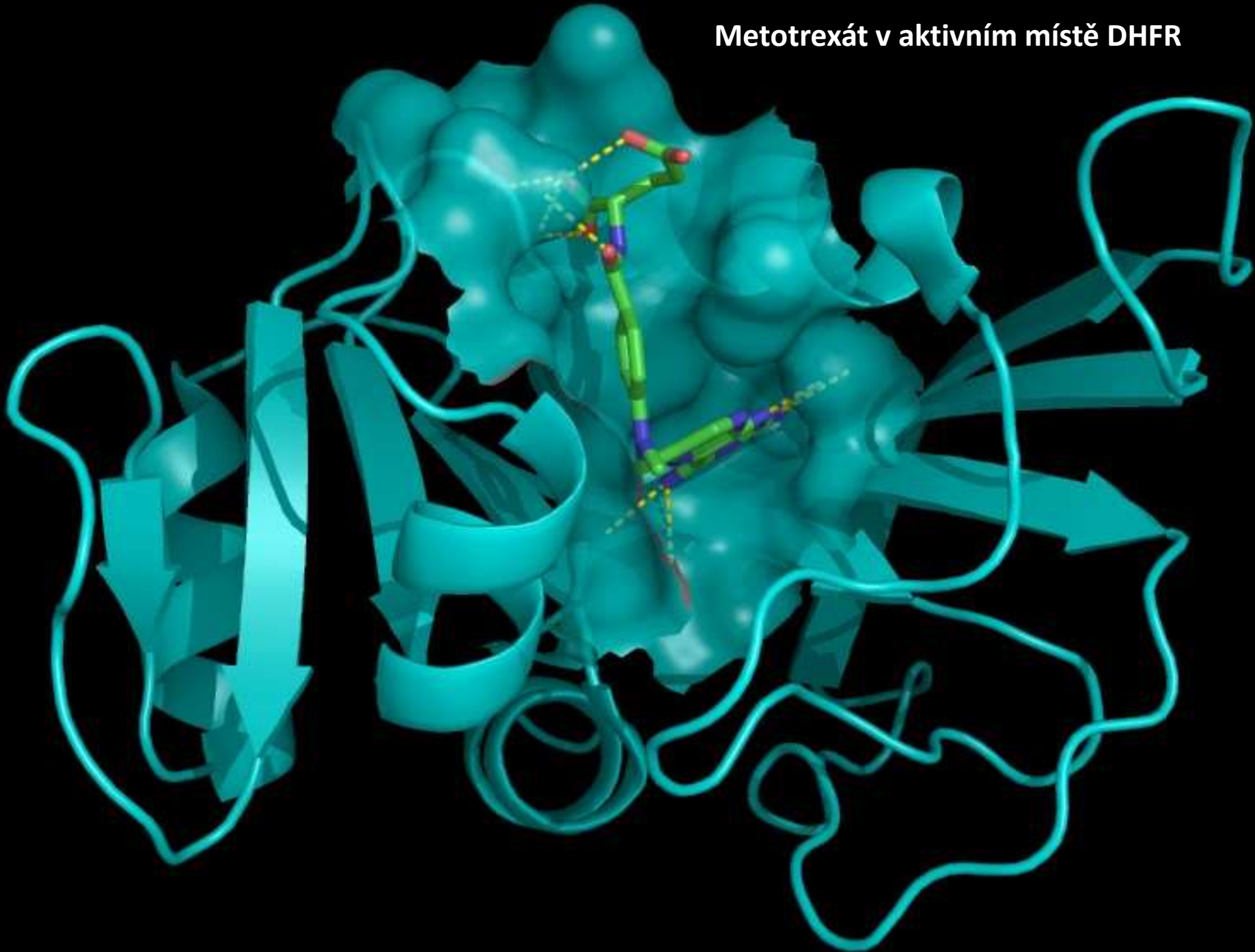
dTTP

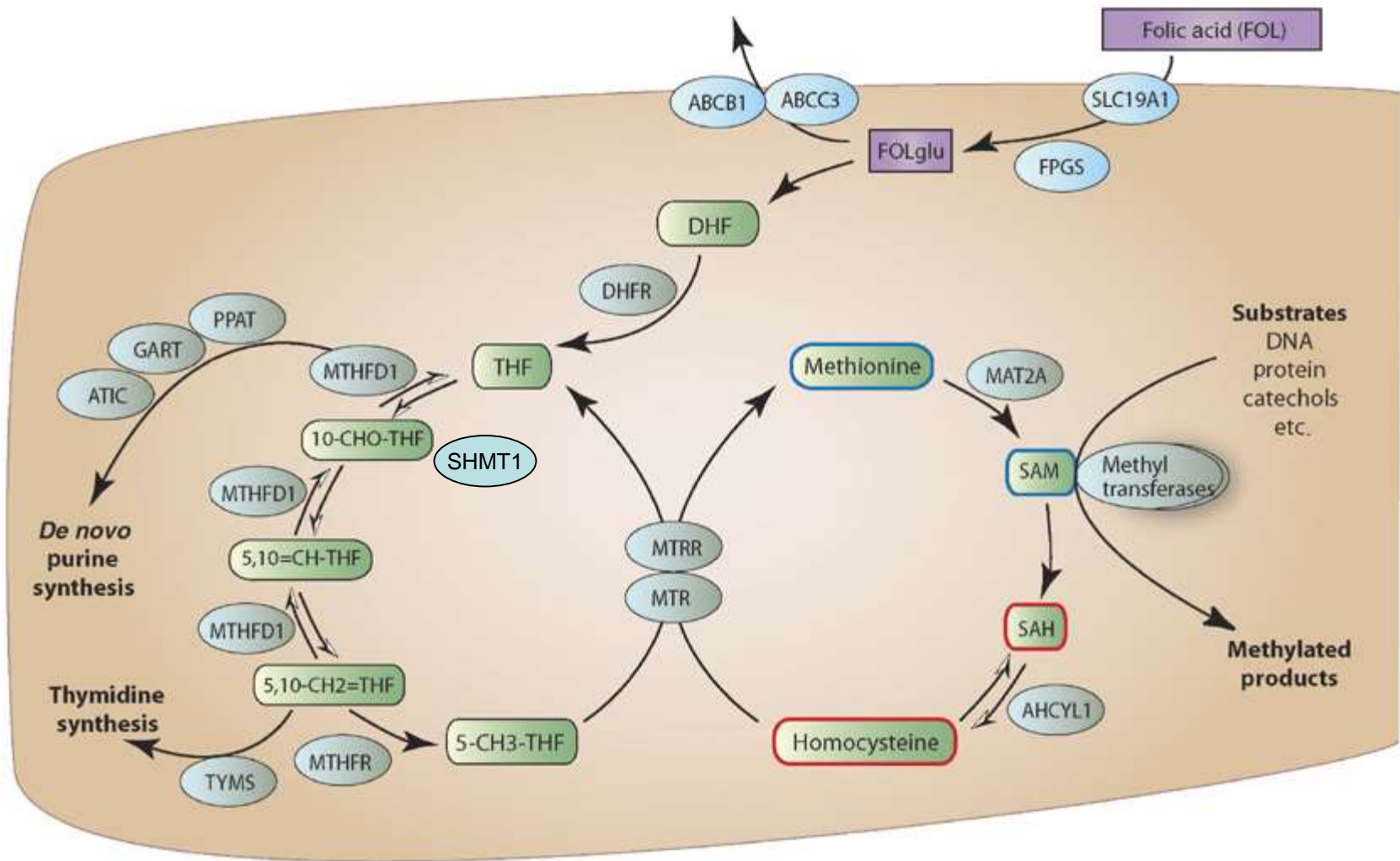
PYRIMIDINY

Syntéza De novo



Metotrexát v aktivním místě DHFR



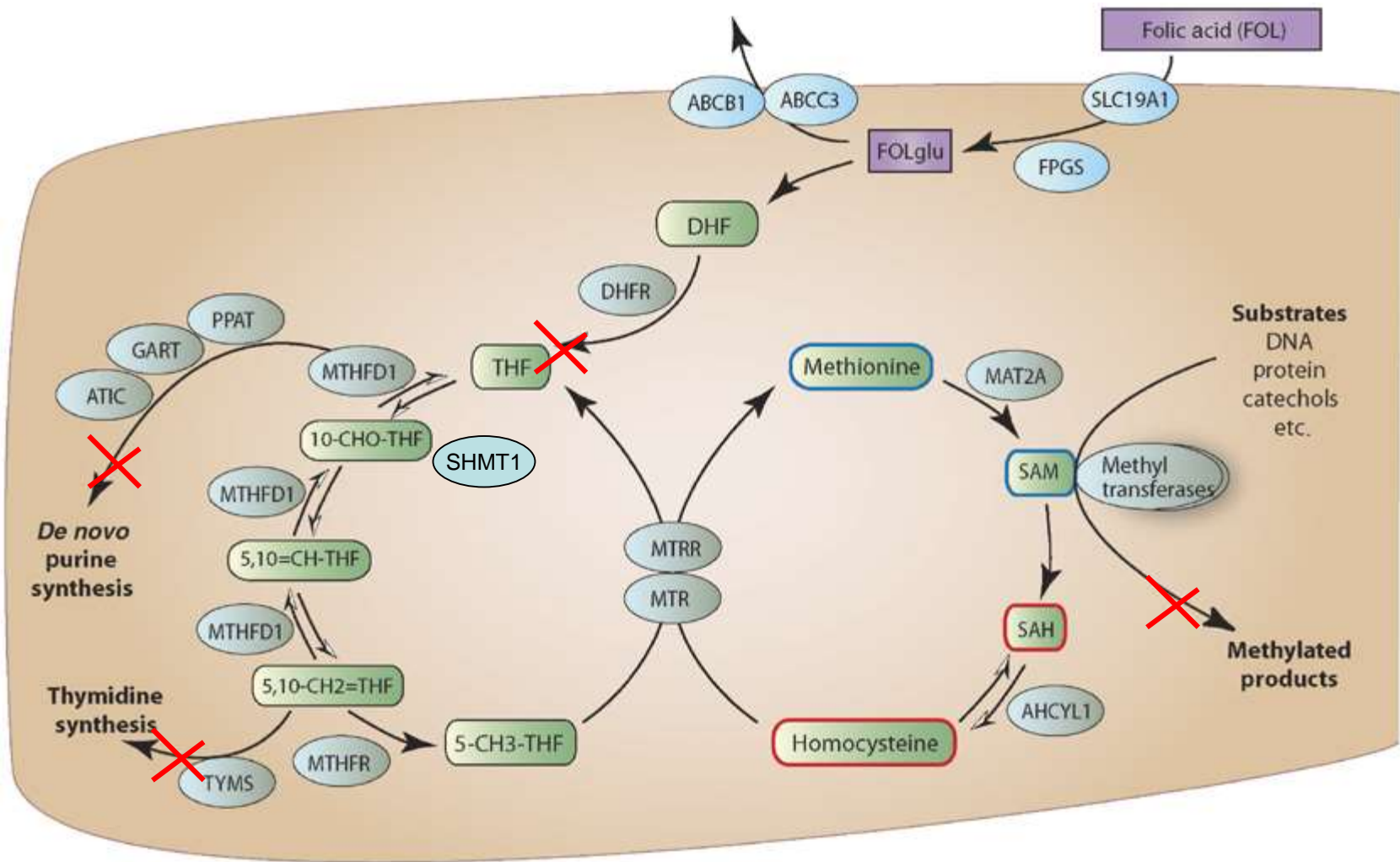


SHMT1 – serinhydroxymetyl transferáza

DHFR - dihydrofolát reduktáza

MTHFD1 - trifunkční methylenetetrahydrofolát dehydrogenáza

MTHF- methylenetetrahydrofoláte reduktáza



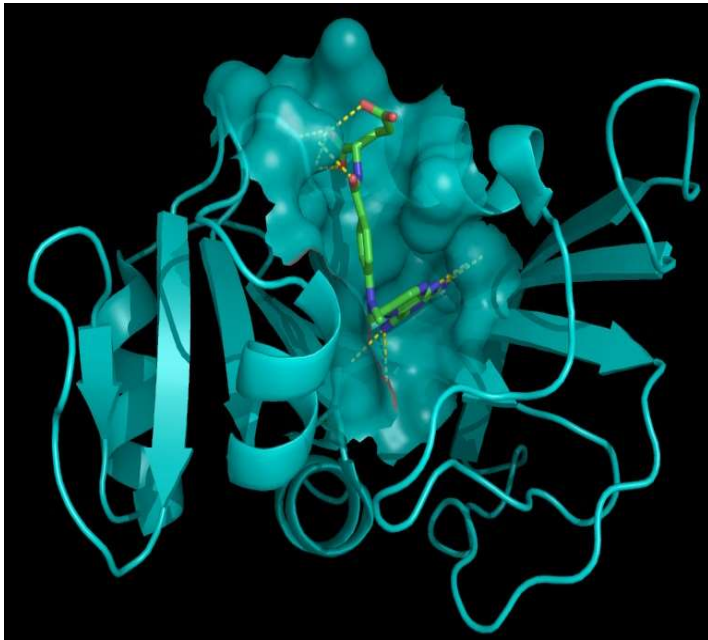
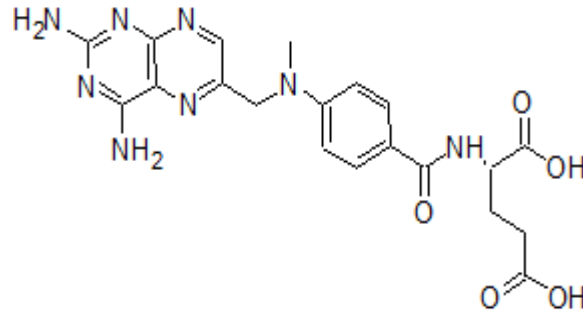
SHMT1 – serinhydroxymetyl transferáza

DHFR - dihydrofolát reduktáza

MTHFD1 - trifunkční methylenetetrahydrofolát dehydrogenáza

MTHF- methylenetetrahydrofoláte reduktáza

Metotrexát



Inhibuje dihydrofolát reduktázu DHFR

THF je zdroj jednouhlíkových zbytků
Uhlíkový zbytek je využíván thymidilát syntázou (TS) a dvěma enzymy de novo syntézy purinů
glycinamid ribonukleotid –formyl transferázou (GARFT) a AICAR (amino imidazolkarboxamid ribonukleotid-formyl transferáza).

Inhibice obou *de novo* syntéz vede k nedostatku stavebních prvků pro syntézu DNA a indukci vnitřní (mitochondriální) dráhy apoptózy nebo nekrózy (záleží na koncentraci)

ANTIMETABOLITY

Analogy kyseliny listové

Analogy bází

Analogy nukleosidů

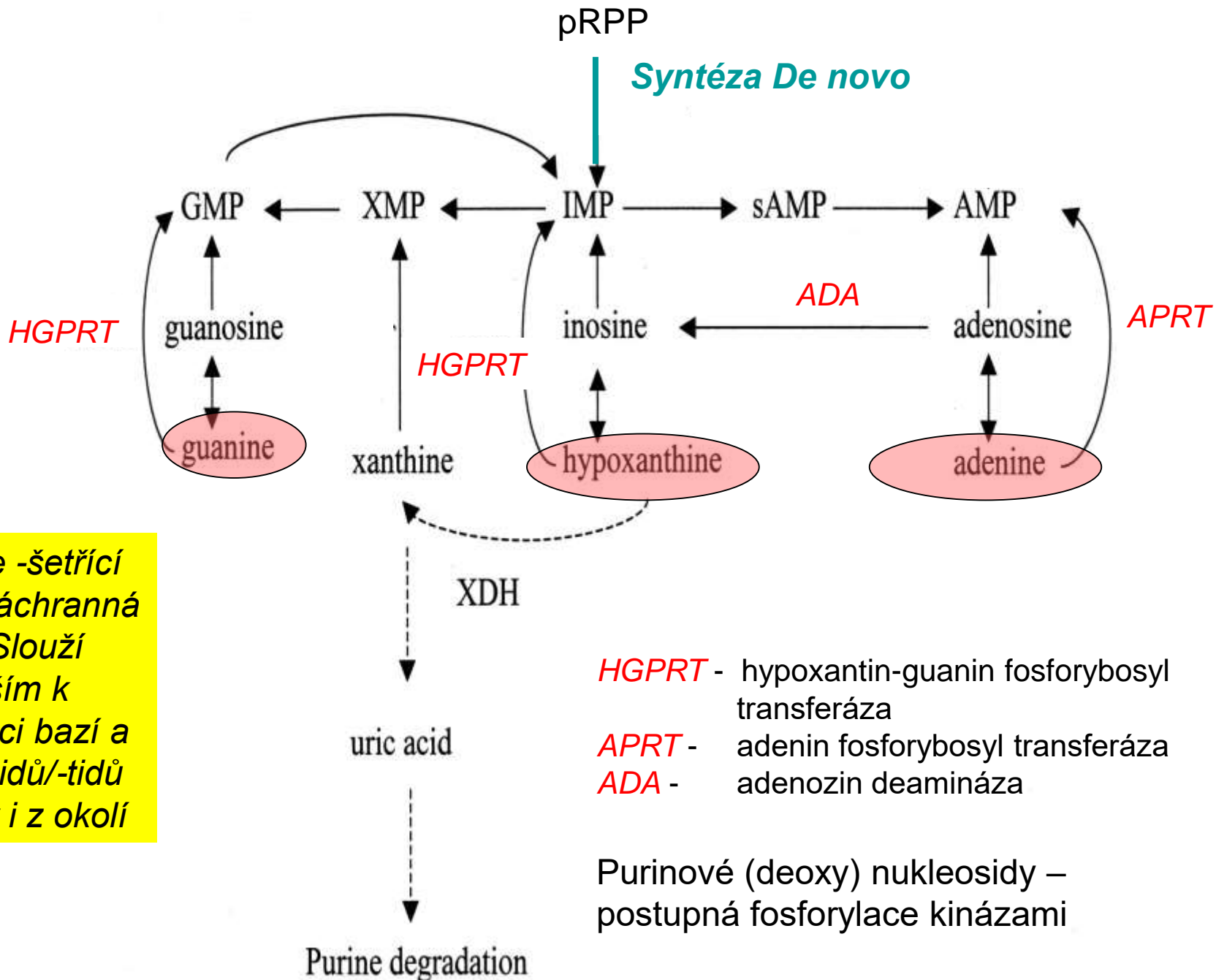
Hydroxymočovina

Syntéza a recyklace purinů a pyrimidinů a jejich nukleosidů

**Syntéza de novo - puriny (syntetizované na ribóze, *PRPP-IMP*)
pyrimidiny (nejdříve báze, pak až vazba na cukr
karbamoylfosfát-UMP)**

**Salvage pathway - (šetrlicí dráha, záchranná dráha)
*interkonverze a reutilizace bazí a nukleosidů z buňky i z okolí***

Purinová „salvage“ dráha



Salvage -šetřící dráha, záchranná dráha. Slouží především k reutilizaci bazí a nukleosidů/-tidů z buňky i z okolí

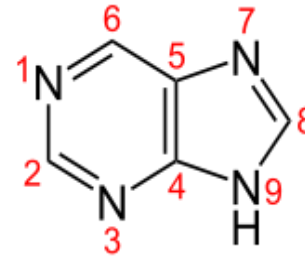
ANTIBÁZE (antipuriny)

6-merkaptopurin

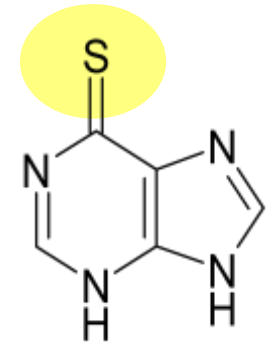
(analog hypoxantinu, inhibuje salvage dráhu)

Terapie ALL u dětí

1950s



PURIN



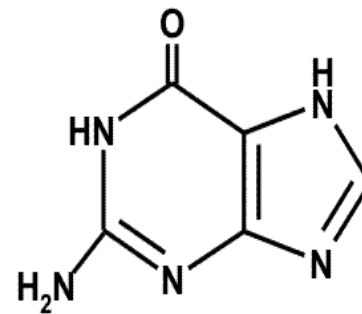
6-merkaptopurin

thioguanin

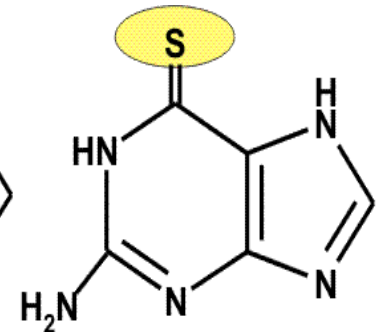
(analog guaninu, inhibuje salvage dráhu)

Terapie leukemií

1950s



Guanine



6-Thio-Guanine

6-THIOGUANIN

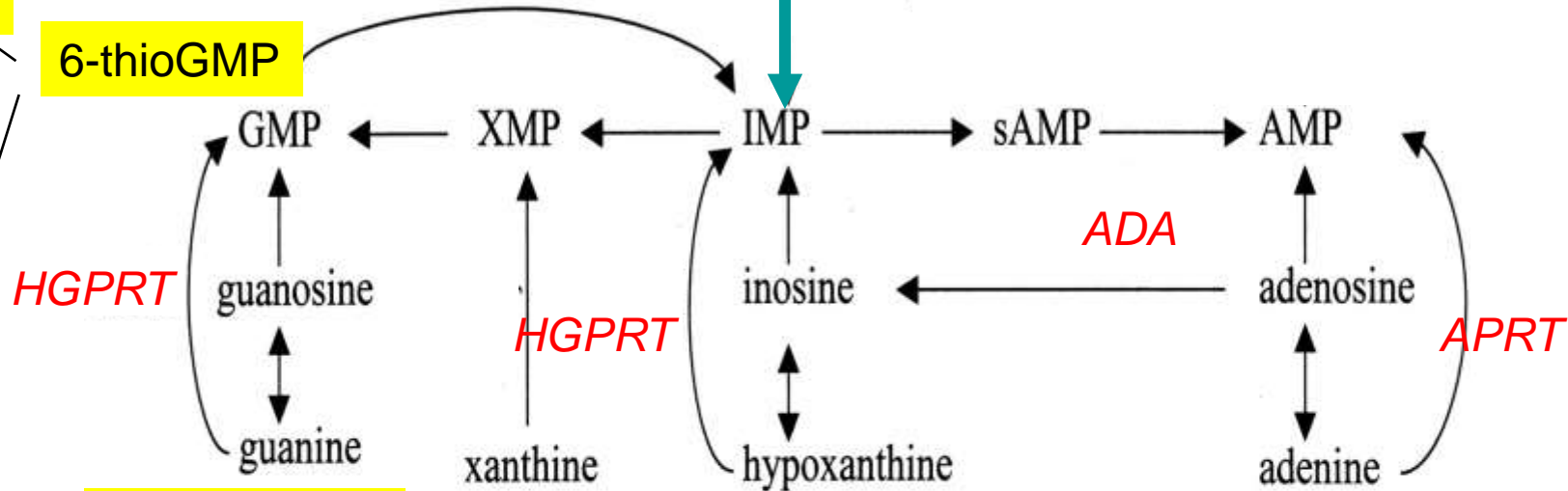
Inkorporace do RNA

6-thio
GTP

6-thioGMP

pRPP

De novo



RNR

6-thioguanin

6-thio dGTP

Inkorporace do DNA

XDH

uric acid

Purine degradation

HGPRT - hypoxantin-guanin fosforybosyl transferáza
APRT - adenin fosforybosyl transferáza
ADA - adenzin deamináza
RNR - ribionukleotid reduktáza

Inkorporace do RNA

6-thio
GTP

6-thioGMP

De novo

pRPP

Inhibice fosforibosyl pyrofosfát
amidotransferázy

RNR

HGPRT

GMP

XMP

IMP

sAMP

AMP

6-thio IMP

guanosine

inosine

adenosine

guanine

xanthine

hypoxanthine

adenine

ADA

APRT

HGPRT

6-merkaptopurin

XDH

uric acid

Purine degradation

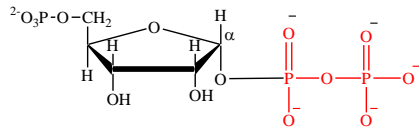
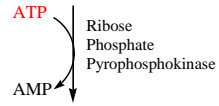
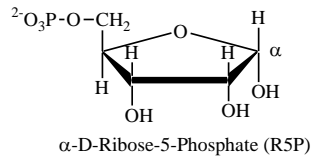
6-thio dGTP

Inkorporace do DNA

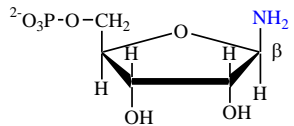
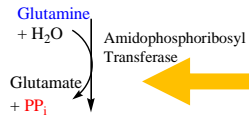
HGPRT - hypoxantin-guanin fosforybosyl transferáza
APRT - adenin fosforybosyl transferáza
ADA - adenzin deamináza
RNR - ribionukleotid reduktáza

6-MERKAPTOPURIN

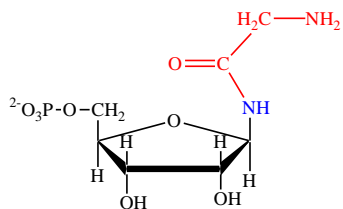
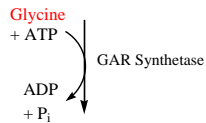
De novo syntéza purinů



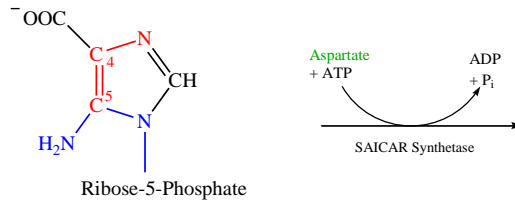
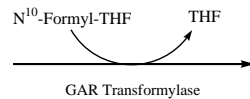
5-Phosphoribosyl- α -pyrophosphate (PRPP)



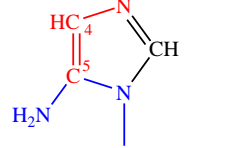
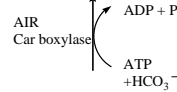
β -5-Phosphoribosylamine (PRA)



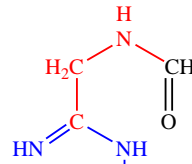
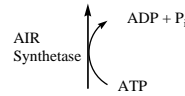
Glycinamide Ribotide (GAR)



Carboxyamidoimidazole Ribotide (CAIR)

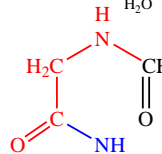
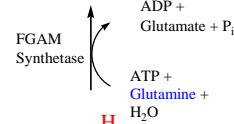


5-Aminoimidazole Ribotide (AIR)

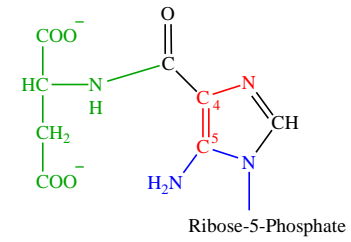


Formylglycinamide ribotide (FGAM)

Formylglycinamide ribotide (FGAM)

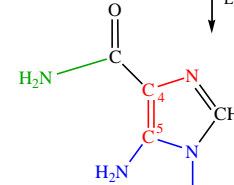
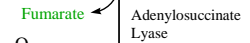


Formylglycinamide ribotide (FGAR)



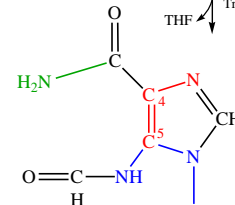
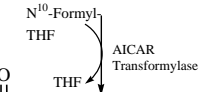
Ribose-5-Phosphate

5-Aminoimidazole-4-(N-succinylcarboxamide) ribotide (SAICAR)



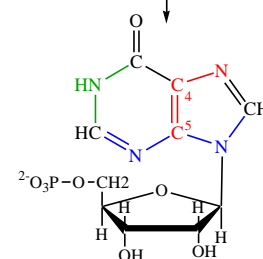
Ribose-5-Phosphate

5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribotide (AICAR)



Ribose-5-Phosphate

5-Formaminoimidazole-4-carboxamide ribotide (FAICAR)



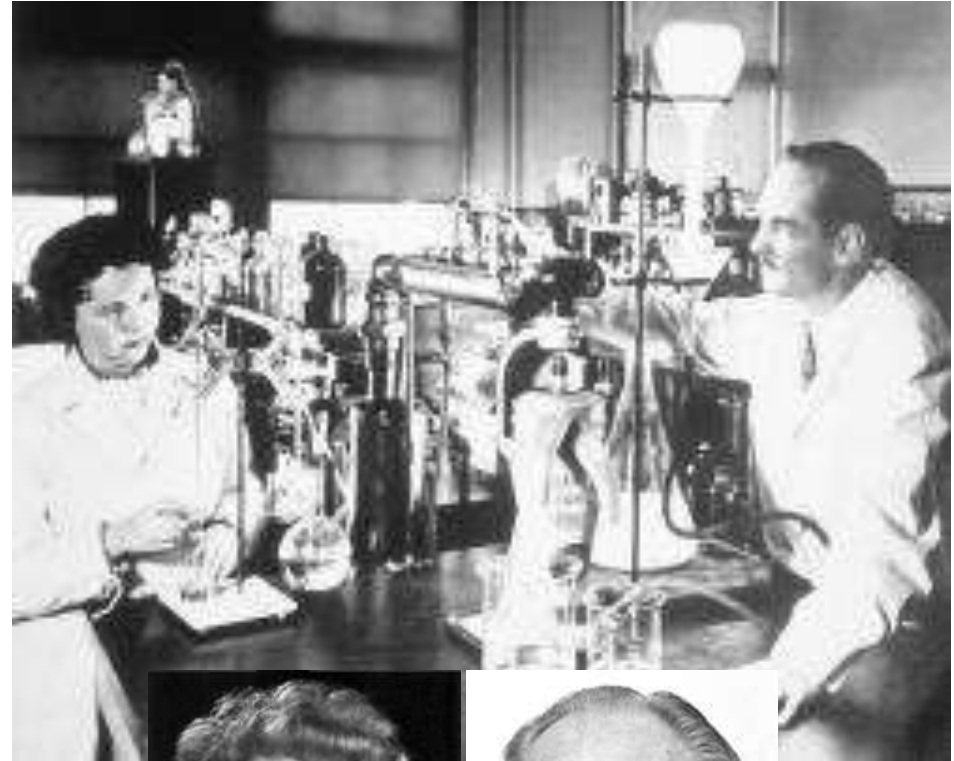
Inosine Monophosphate (IMP)

George Hitchings and Gertrude Elion

(Nobelova cena 1988 za fyziologii a medicínu)

6-merkaptopurin
Thioguanin

(1950s)

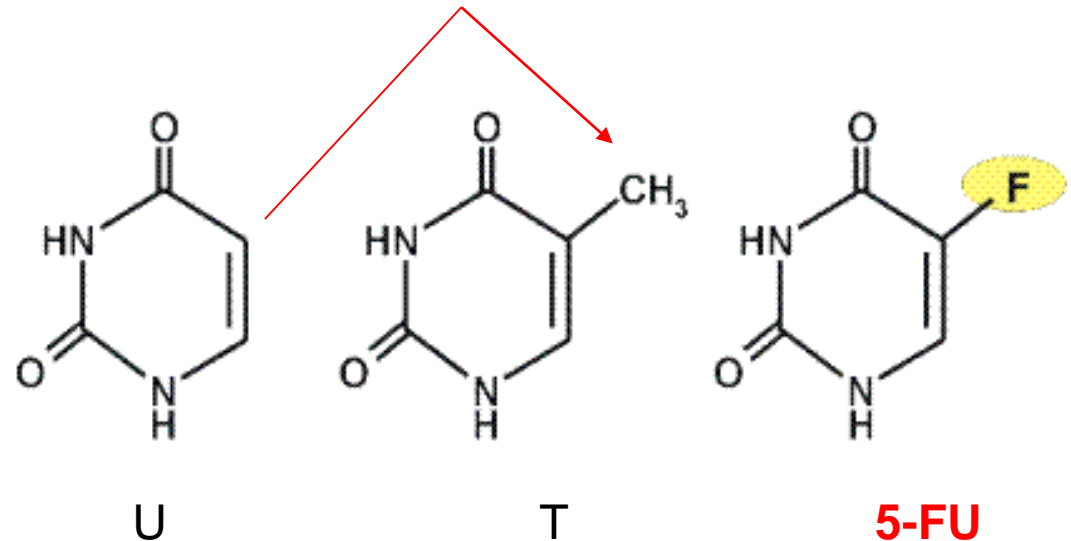


ANTIBÁZE (antipyrimidiny)

5-FU (5-fluorouracil)

Uracil je nádory intenzivně přijímán, atom fluoru má podobné rozměry jako H (van der Waals radius) 5-FU je tedy přijímán a metabolizován podobně.

Funguje jako **Inhibitor tymidylát syntázy**, která při reakci dUMP na dTMP nahrazuje vodík na pozici 5 metylovou skupinou.



Zaveden v 50-letech

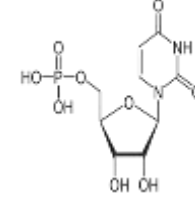
*Léčba solidních nádorů: **5-FU** nebo se podává se jako prodrug (musí být nejprve metabolizován) - **Kapecitabin, Tegafur***

PYRIMIDINY

Ribózo 5-P

karbamoyl fosfát

**Syntéza
De novo**



PPi

UMP

UDP

dUMP

UTP

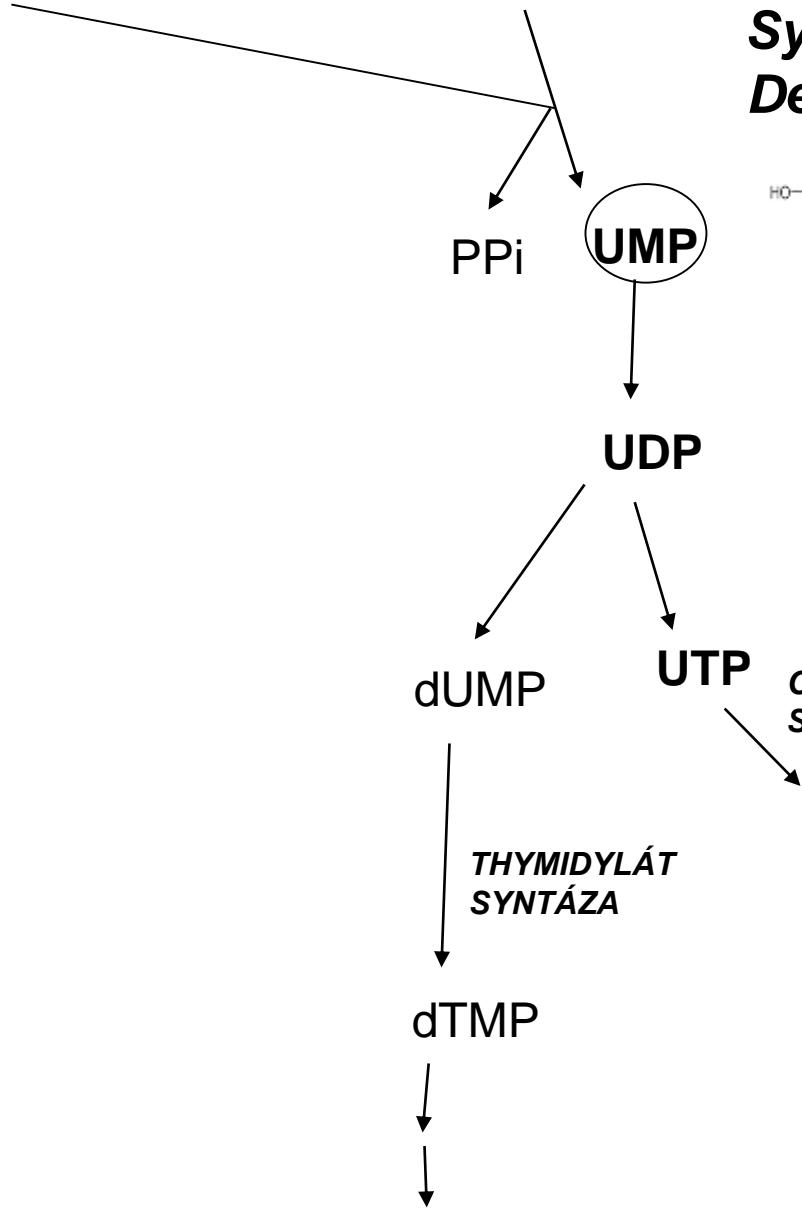
*CTP
SYNTÁZA*

CTP

*THYMIDYLÁT
SYNTÁZA*

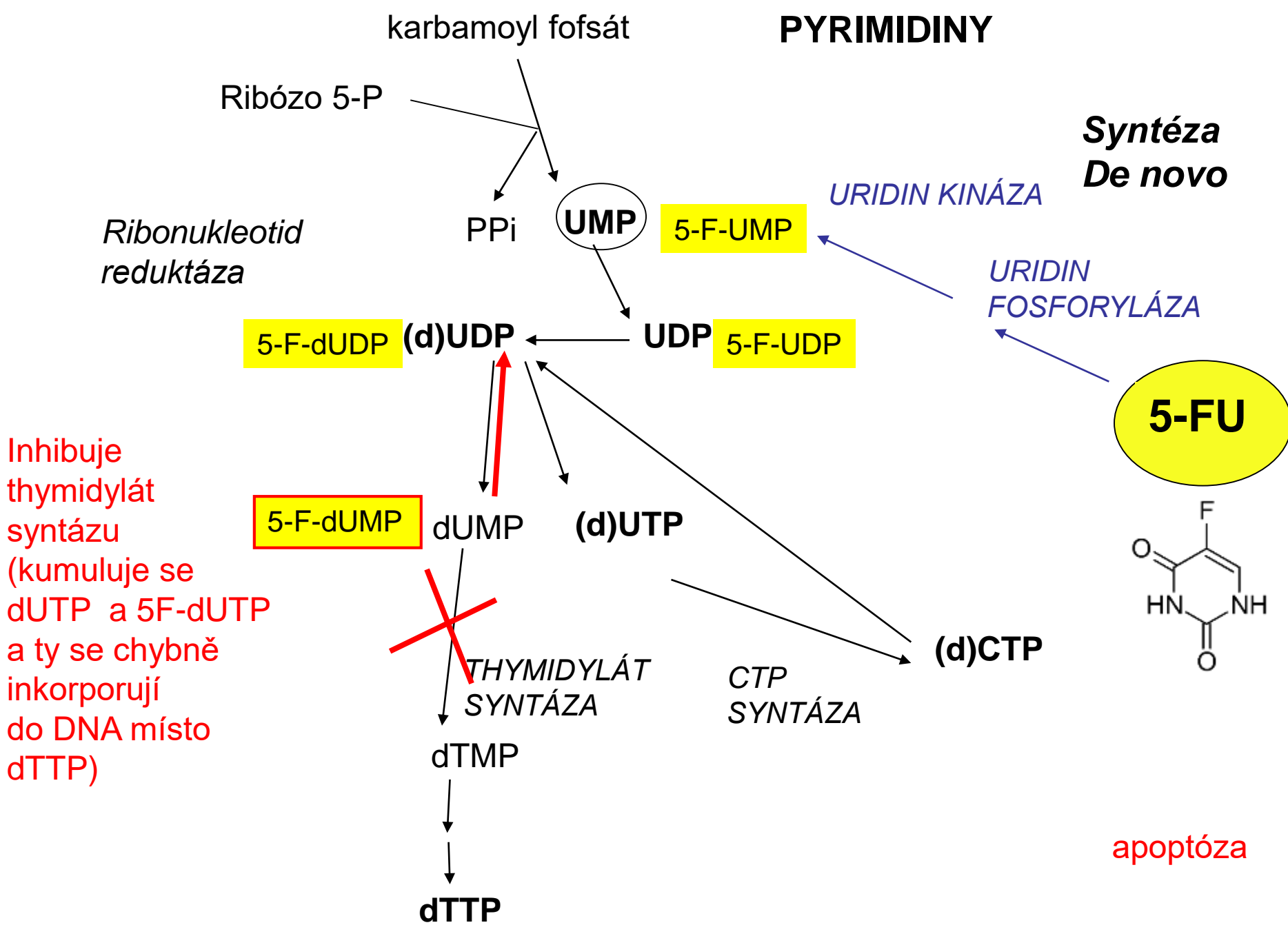
dTMP

dTTP

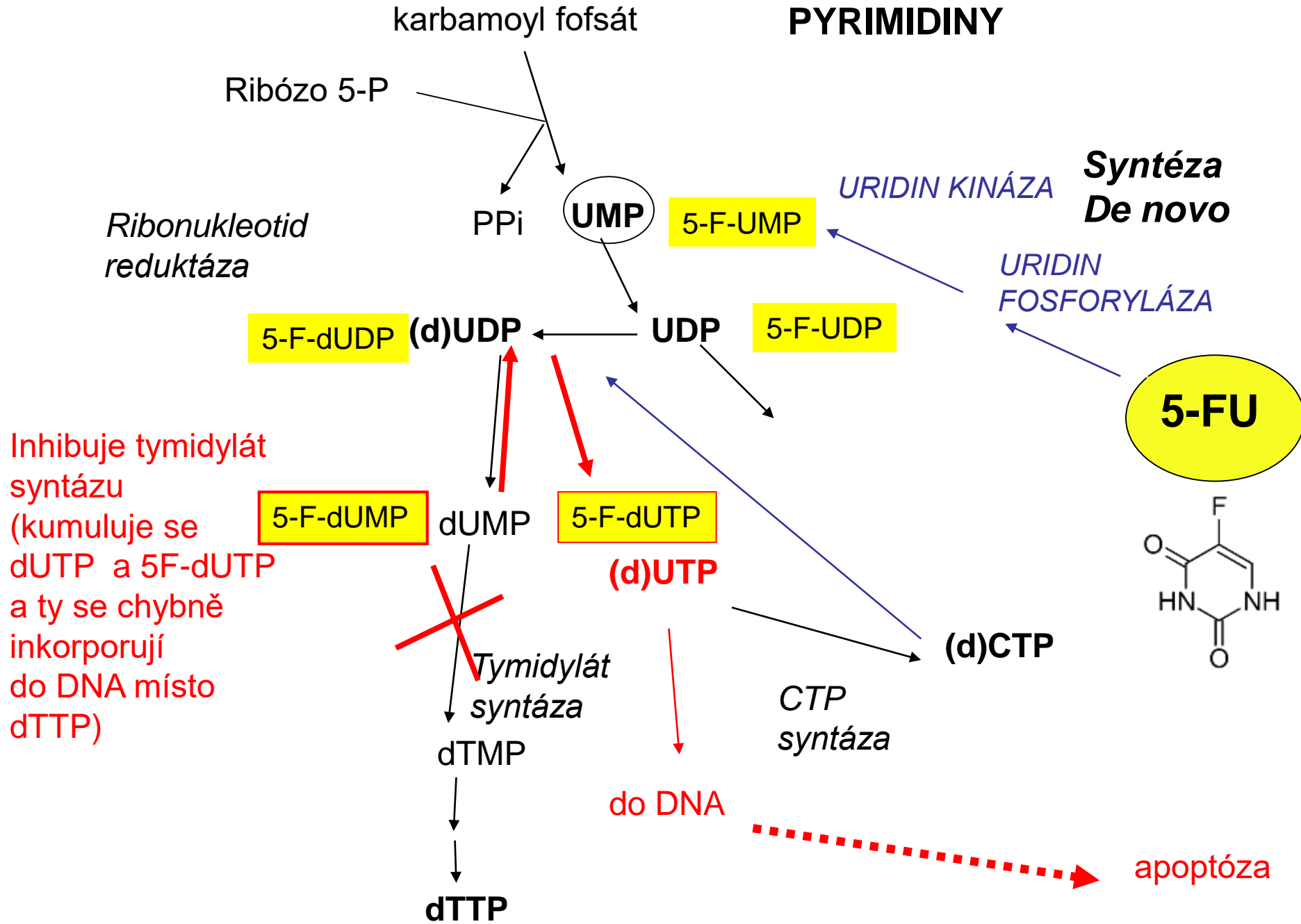


PYRIMIDINY

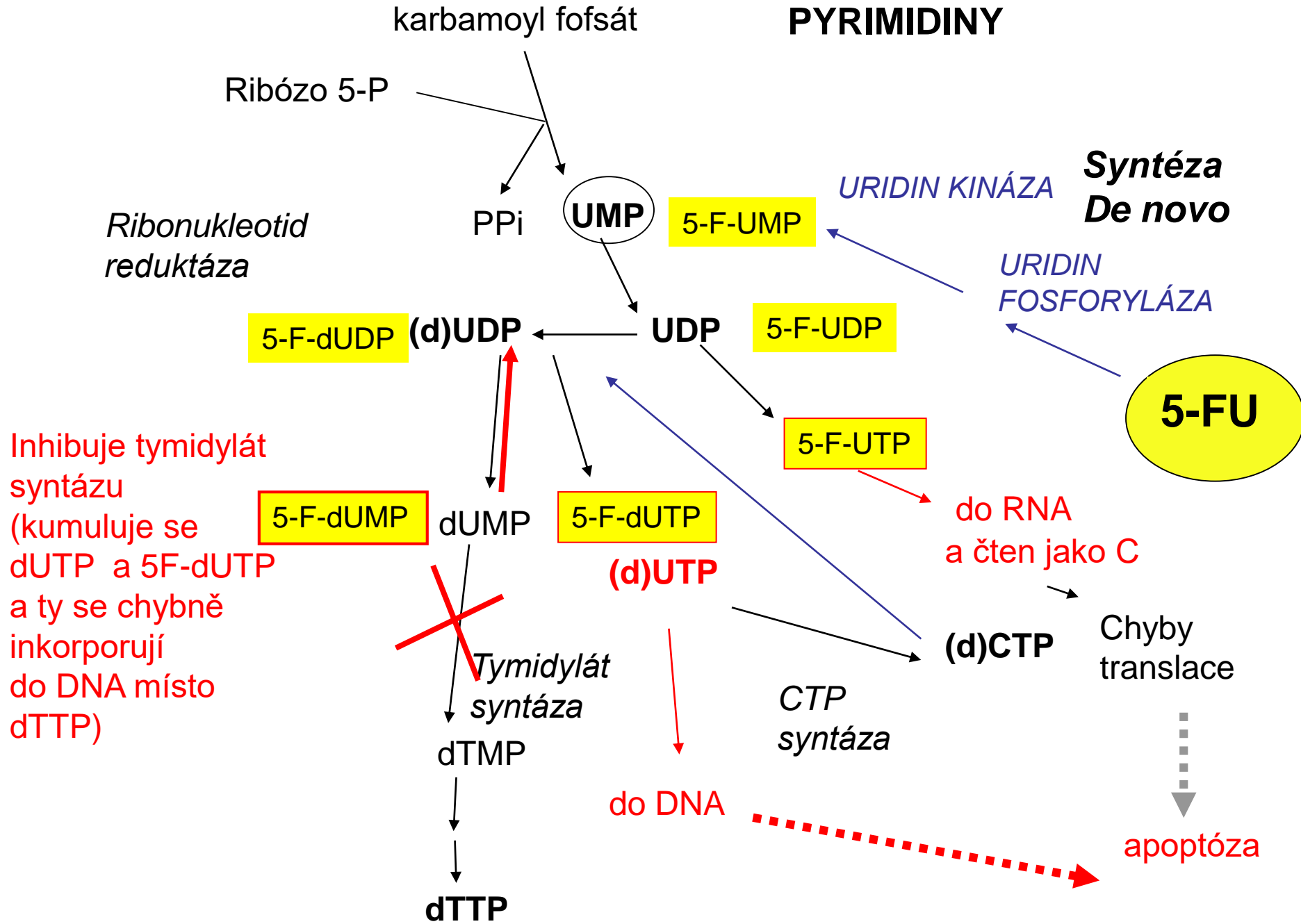
**Syntéza
De novo**



PYRIMIDINY



PYRIMIDINY



5-FU

Zaveden v 50-letech, využití: především léčba solidních nádorů

Podává se jako:

5-FU nebo jako prodrug (musí být nejprve metabolizován) - **Kapecitabin, Tegafur**

Využíván je rovněž 5-FU už navázaný na deoxyribózu - FUdR - **floxuridin**

Ten jen tymidin kinázou fosforylován na 5-FUdMP a funguje stejně



Aza-deriváty bazí budou probrány v rámci epigentických modifikátorů

ANTIMETABOLITY

Analogy kyseliny listové

Analogy bází

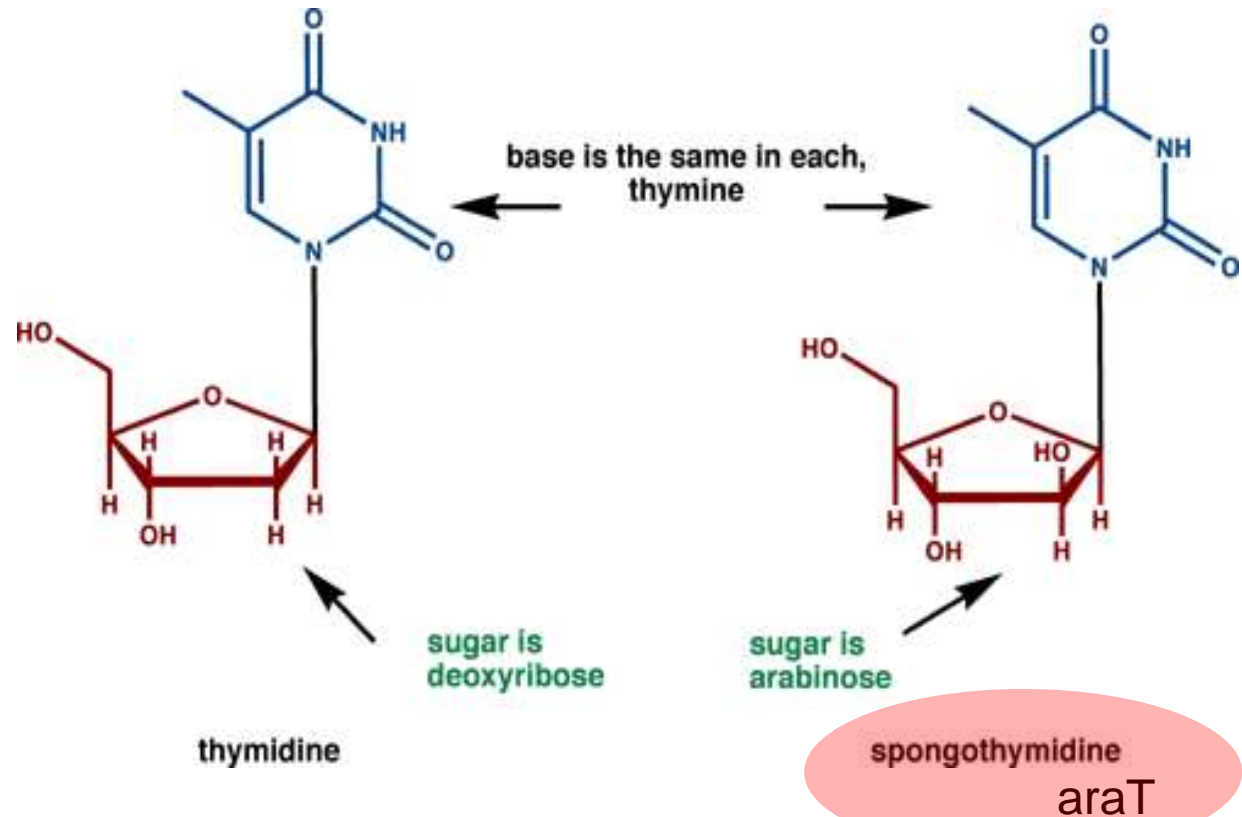
Analogy nukleosidů

Hydroxymočovina

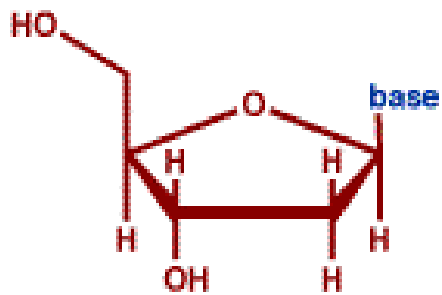
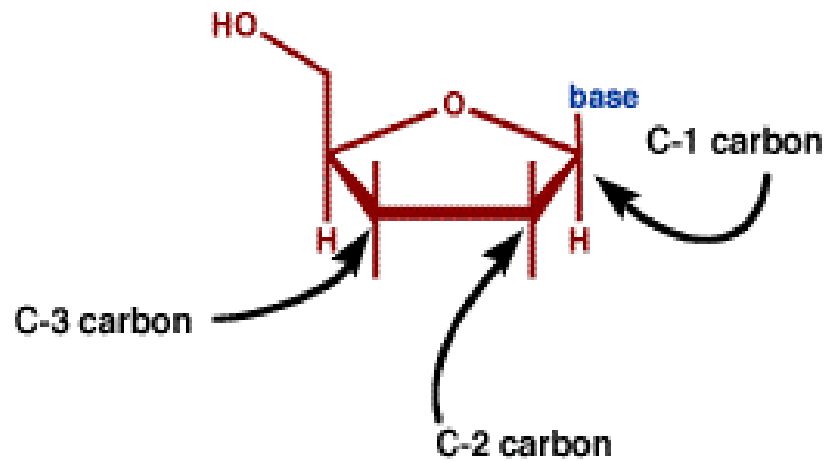
(DEOXY) NUKLEOSIDOVÉ ANTIMETABOLITY

Werner Bergmann (1945)

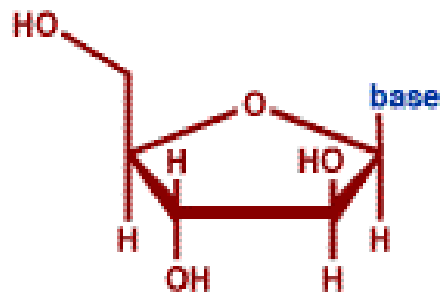
Snaha o izolace steroidů z mořské houby
Cryptotethia crypta- extrakce do acetonu
(získ velké množství čisté krystalické látky)



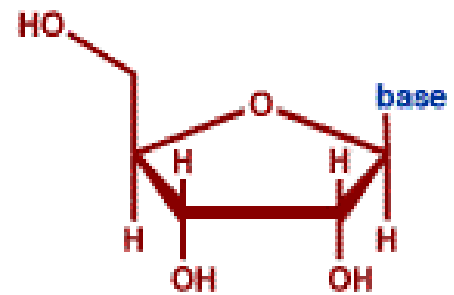
spongothymidine "3-beta-D-arabofuranosylthymine"
spongouridine is "3-beta-D-arabofuranosyluracil"



deoxyribose
DNA backbone



arabinose

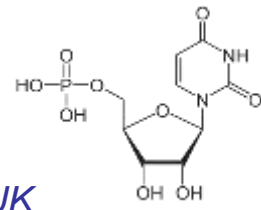


ribose
RNA backbone

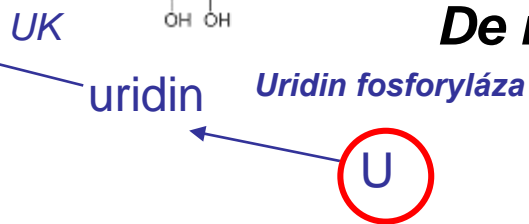
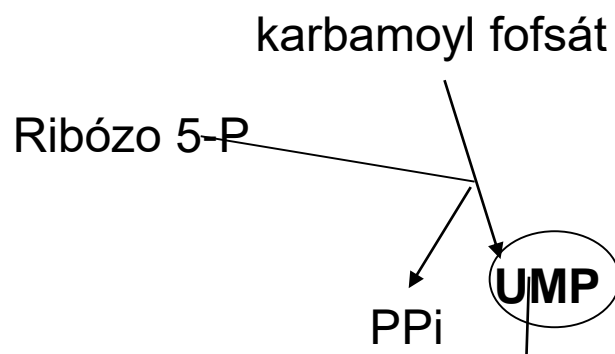
DEOXYNUKLEOSIDOVÉ ANTIMETABOLITY

(PYRIMIDINOVÉ)

PYRIMIDINY



Syntéza De novo

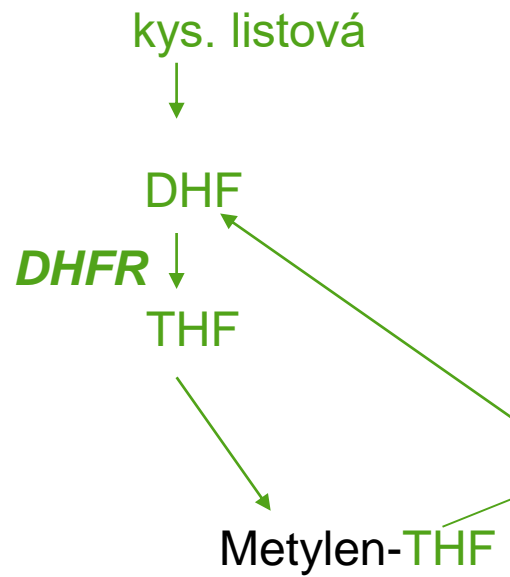
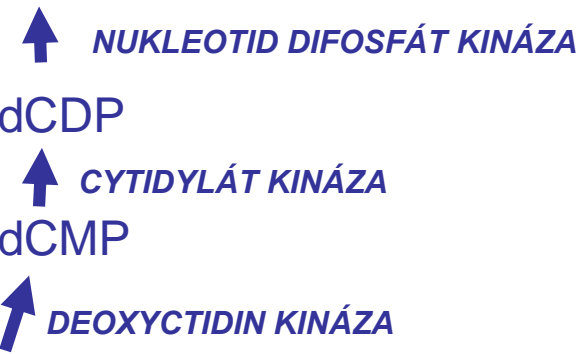


DCTP DEAMINÁZA

Salvage dráha



CTP syntáza



THYMIDYLÁT SYNTÁZA

TYMIDIN KINÁZA



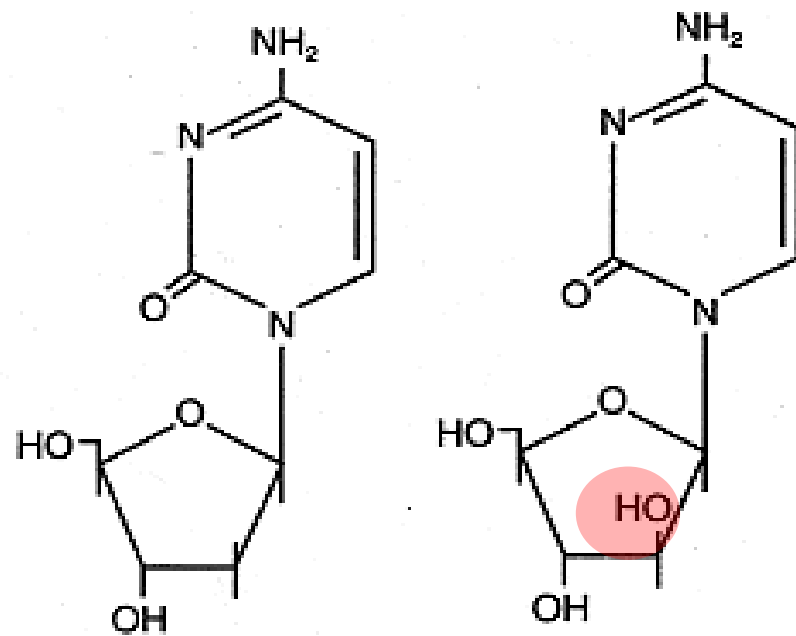
Cytarabin (araC, cytosinarabinosid)

V praxi cca od roku 1965

Terapie leukemií a některých lymfomů

Vstup do buňky přes membránu
nebo transportérem.

V buňce je postupně fosforylován
salvage dráze na araCTP



Deoxycytidine

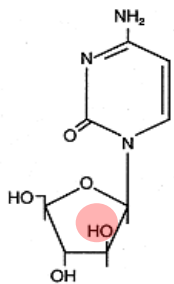
Cytarabine

Human equilibrative nucleoside transporter 1, 2

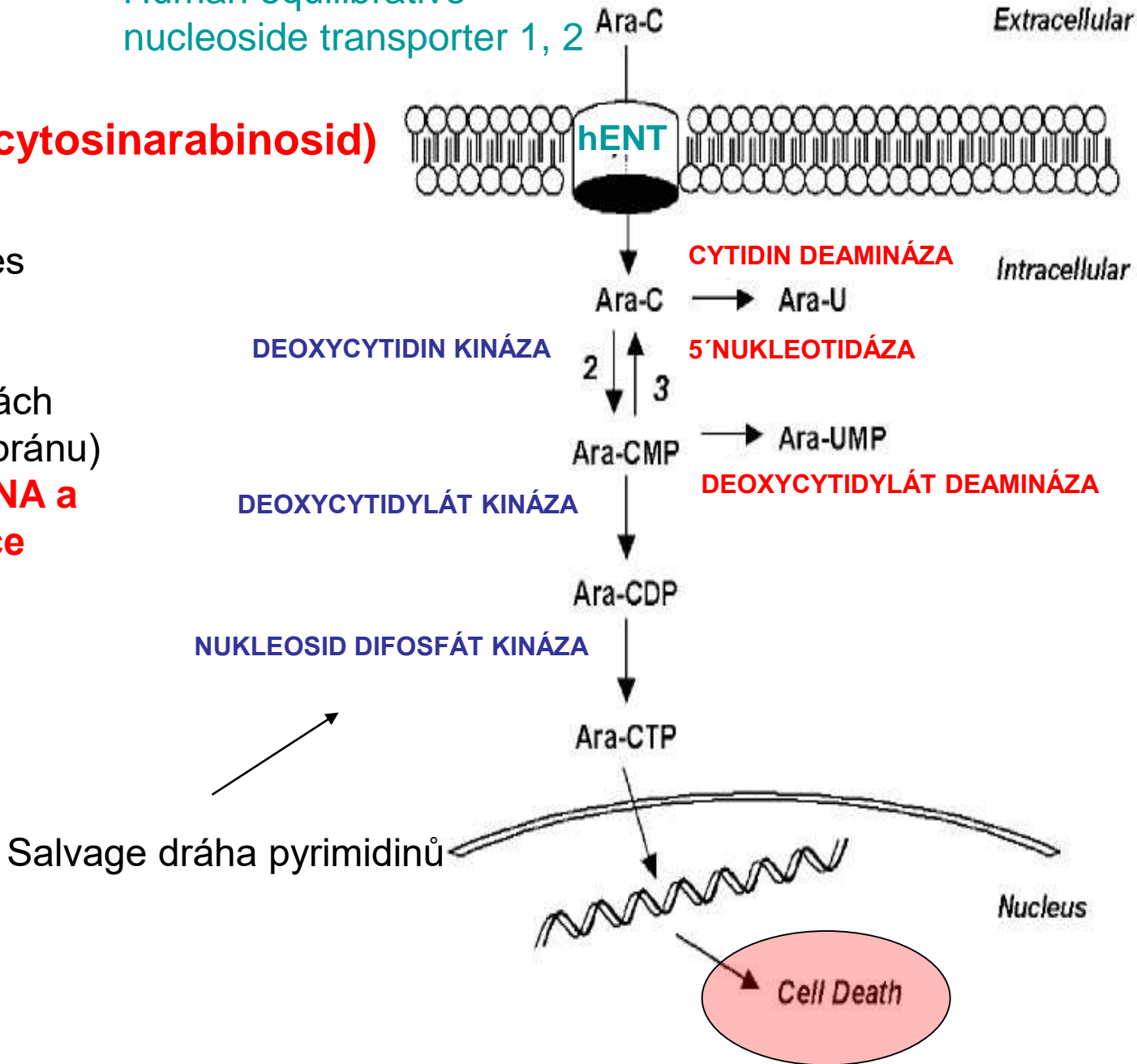
Cytarabin(araC, cytosinarabinosid)

Vstup do buňky přes hENT transportéry

(při vysokých dávkách pasivně přes membránu)
inkorporace do DNA a zastavení replikace



Cytarabine



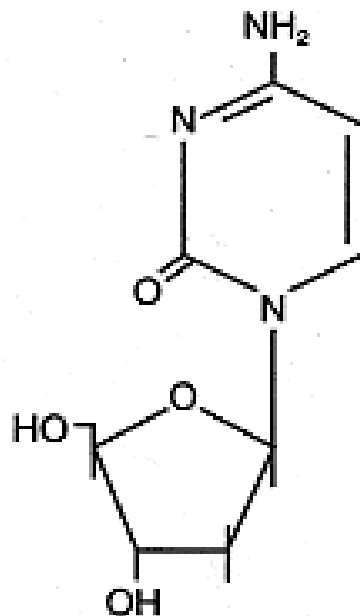
Gemcitabin (2,2 – difluordeoxycytidin, Gemzar)

di-fluorovaný analog deoxycytidnu

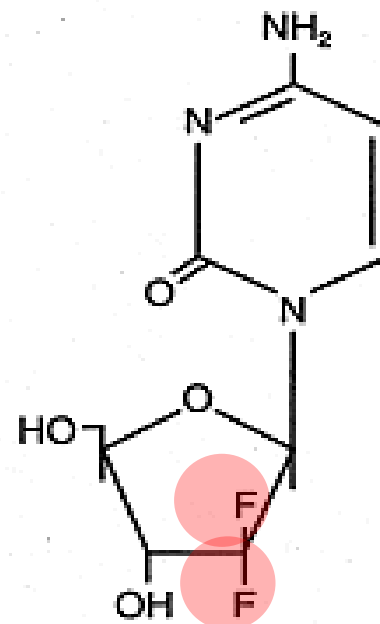
Aktivace stejná jako u araC.

DifluordeoxycytidinTP se **inkorporuje do DNA**

kromě toho **inhibuje ribonukleotid reduktázu**



Deoxycytidine



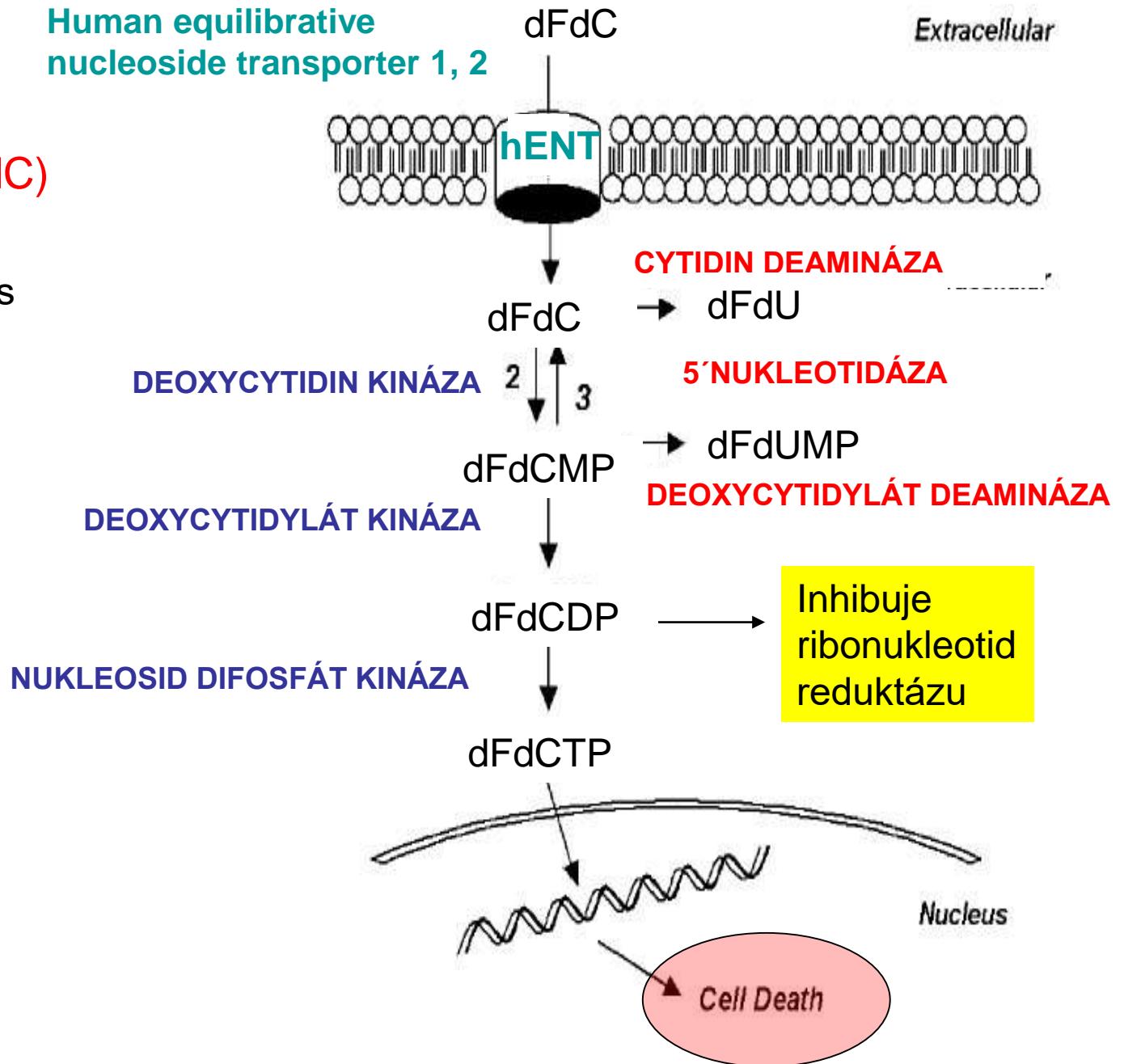
Gemcitabine

Gemcitabin (dFdC)

Vstup do buňky přes membránu (při vysokých dávkách) a/nebo hENT transportéry

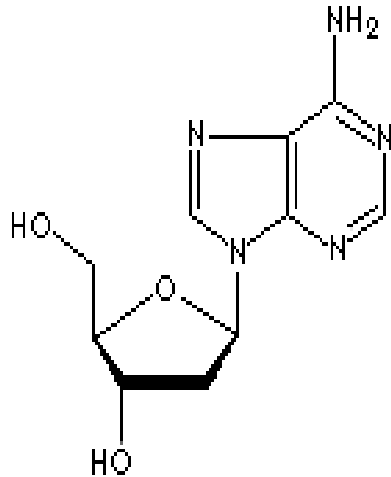
Inkorporace do DNA a zastavení replikace

Inibitor RNR

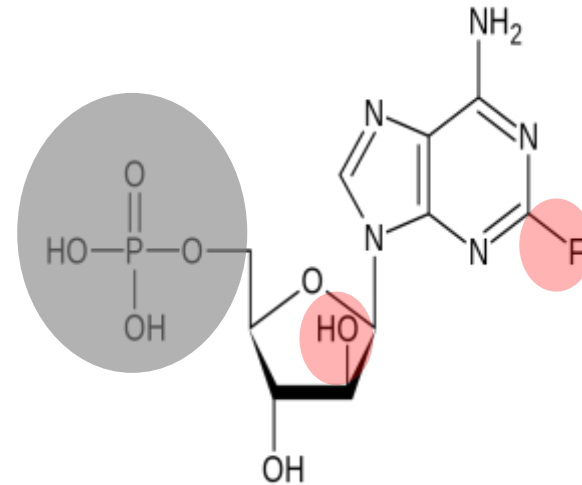


(DEOXY) NUKLEOSIDOVÉ ANTIMETABOLITY (PURINOVÉ)

Fludarabin (Fludara)



deoxyadenozin



Fludarabin (fosfát)

Díky F na bázi je **odolný vůči deaminaci adenosin deaminázou na inozin a je jejím inhibitorem.**

Fosforylovaný je lépe rozpustný (lze podávat orálně), je defosforylován plazmatickými fosfatázami (nebo na povrchu buněk) a vstupuje do buněk (HENT), kde je aktivován kinázami (podobně jako araC nebo gemcitabin).

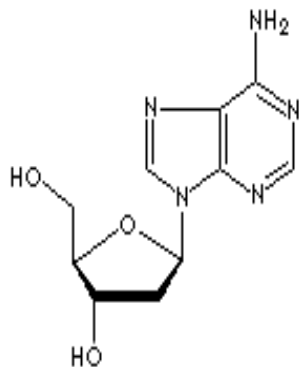
DCK je totiž promiskutiní a fosforyluje i puriny

Inkorporace do DNA zabrání elongaci. Inhibice DNA polymerázy, částečná inhibice RNR (málo dATP zvyšuje inkorporaci dF-araATP)

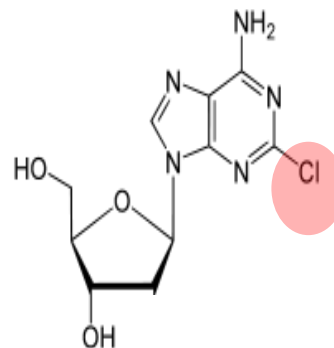
Kladribin

(Cl-A-dRIB-in)

1992



dA



Kladribin

Fosforylován na Clad-TP

Rezistentní vůči ADA

Inkorporace do DNA

Inhibice DNA pol

Inhibice RNR

Klofarabin

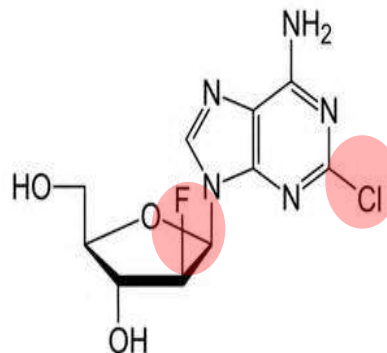
(Cl-F-araA)

F-dává cukru zvýšenou

odolnost proti pH a

bakteriální PNP

2004



Fosforylován na Klof-TP

Rezistentní vůči ADA

inkorporace do DNA

Inhibitor DNA

polymerázy a RNR

ANTIMETABOLITY

Analogy kyseliny listové

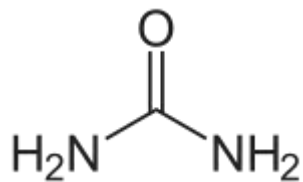
Analogy bází

Analogy nukleosidů

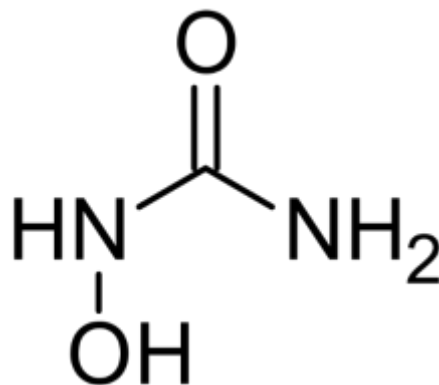
Hydroxymočovina

HYDROXYUREA (Hydroxymočovina)

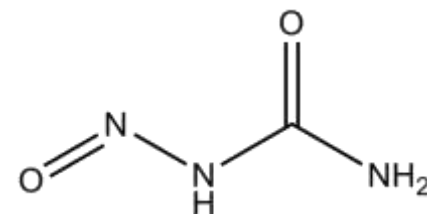
Někdy neprávem řazena mezi antimetaboly



Močovina



Hydroxymočovina

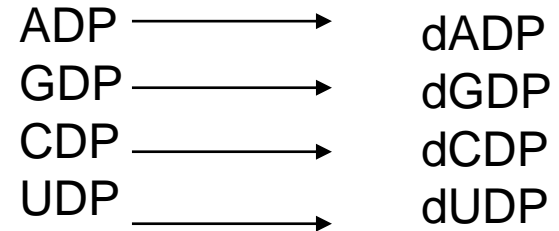
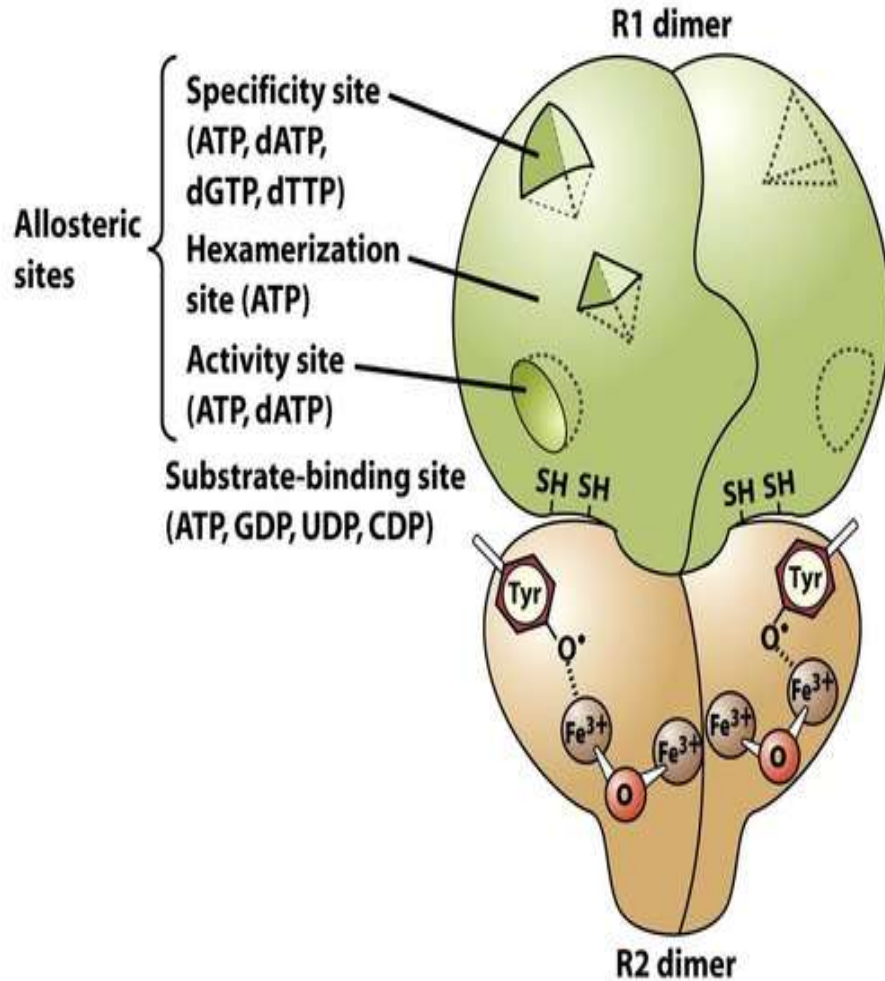


Neplést s nitrosoureou!

INHIBITOR RIBONUKLEOTID REDUKTÁZY

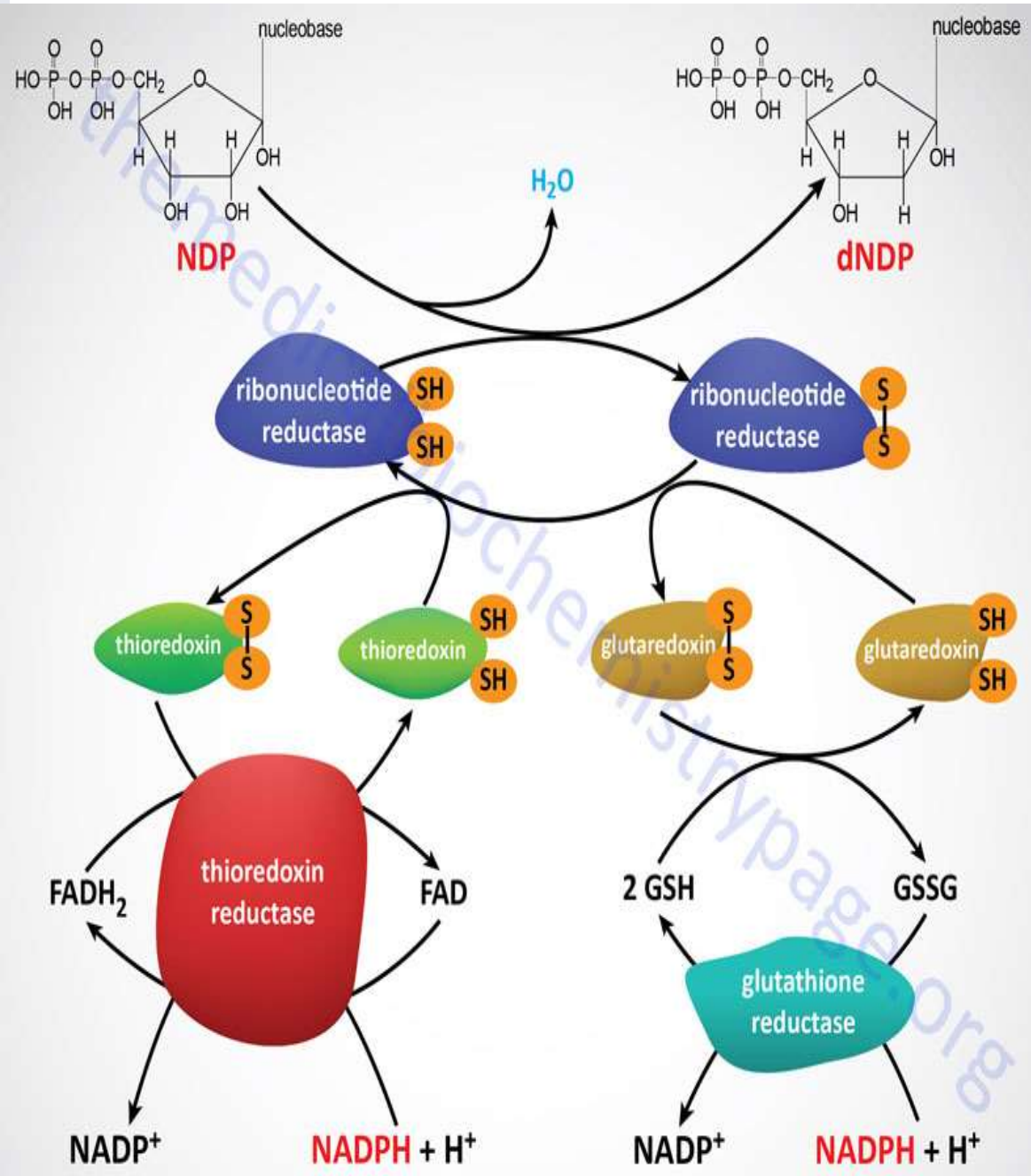
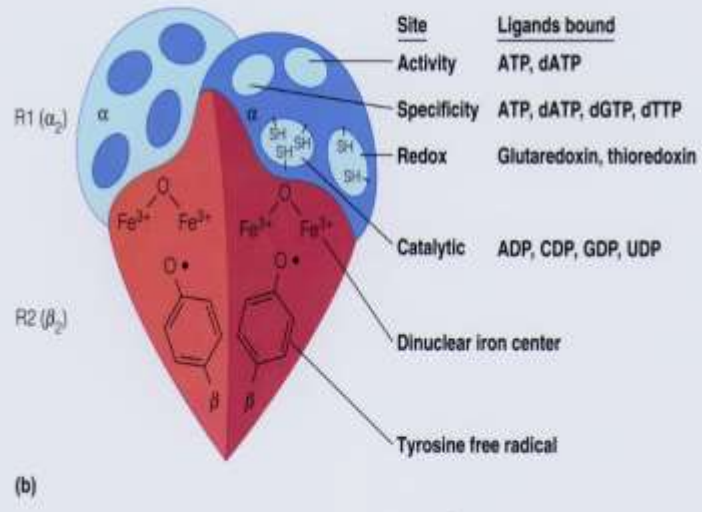
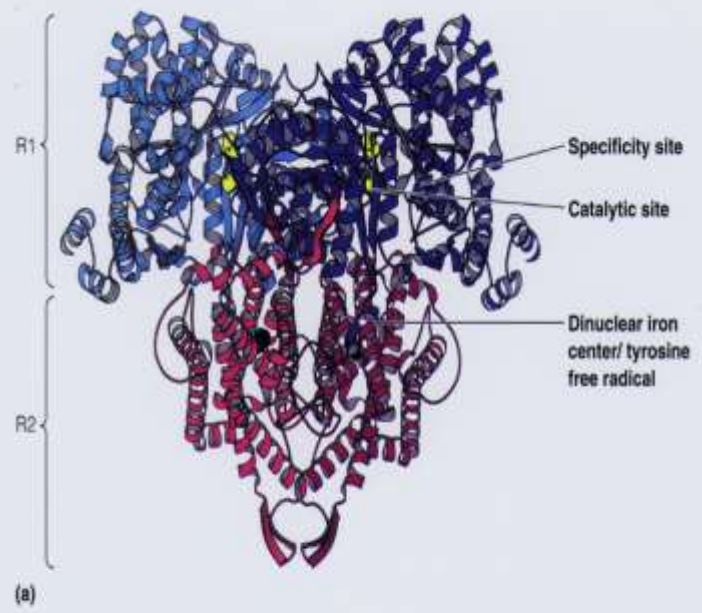
RIBONUKLEOTID REDUKTÁZA

RNR (heterodimerický tetramer) RNR1 a RNR2
 RNR2 má aktivní centrum s iontem železa



dTMP vzniká z dUMP tymidylát syntázou

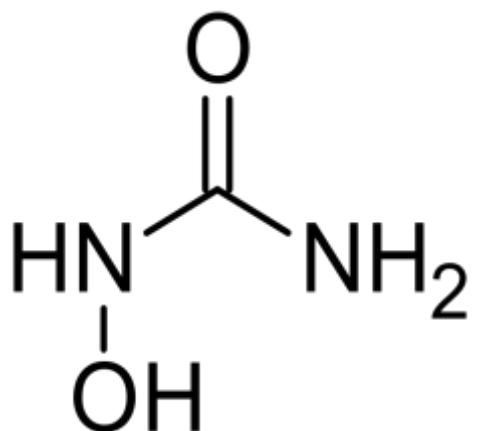
Figure 22.13 Structure of *E. coli* ribonucleoside diphosphate reductase



From Mathews and van Holde: Biochemistry 2/e. © The Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc.

Hydroxyurea, Hydroxymočovina

Váže kovy (Fe v RNR) a inaktivuje tyrosylový radikál nutný pro redukci NDPs



Produkuje NO a tím stimuluje guanyl cyklázu a další enzymy