

Poruchy signalizace způsobující hyperproliferaci nádorových buněk

Úvod

Buněčná signalizace představuje soubor složitých **kaskádových reakcí**, které jsou zprostředkované vzájemně provázanou sítí kináz, fosfatáz, transkripčních faktorů, G proteinů a enzymů.

Zjednodušené schéma představuje navázání ligandu na receptor, aktivaci tohoto receptoru, transdukci signálu v buňce (popřípadě ještě jeho amplifikaci – nejčastěji kaskádou kináz) a aktivaci transkripčních faktorů, které regulují expresi určitých genů. Exprese určitého genu znamená syntézu proteinu se specifickou funkcí pro **proliferaci, diferenciaci buňky, spuštění či zablokování apoptózy anebo buněčného cyklu**. Jednotlivé proteiny v kaskádě rozpoznávají fosforylované domény předcházejícího člena kaskády pomocí vlastních -SH2 domén.

Signální dráhy v buňce mají význam pro kancerogenezi na molekulární úrovni. Poruchy v těchto kaskádách – obvykle overexpresi nebo inhibice určitého mezičlánku kaskády – mohou v buňce vyvolat změny, které jí poskytnou proliferační výhodu a buňka tak může podléhat klonální selekci.

Signální dráhy pro růstové faktory

- Využívají široké spektrum transducerů signálů
- Jako příklad můžeme uvést kaskádu přes **MAPK protein** a **PI3K/Akt**
- Navázání růstového faktoru na receptor vyvolá dimerizaci receptoru, čím se aktivuje tyrozinkinázová aktivita receptoru a dojde k jeho autofosforylaci
- Následuje kaskáda fosforylací a defosforylací jednotlivých členů signální dráhy

MAPK kaskáda (mitogen activated protein kinase)

- Skládá se z aktivace receptoru a **Ras proteinu** a ze tří na sebe navazujících kináz, kterých existují více typů, v závislosti na primárním stimule: **MAPKKK**(mitogen activated protein kinase kinase kinase), **MAPKK** a **MAPK**
 - Fosforylací receptoru se signál přenáší přes proteiny **Grb2** a **SOS** na Ras protein. Ras protein je G protein, vykazující GTPázovou aktivitu. Po navázání GTP na RAS se aktivuje protein **Raf**
 - Raf protein aktivuje další kinázy v kaskádě, a to MEK a Erk
 - Fosforylovaný **Erk** vstupuje do jádra a tam aktivuje transkripční faktory zodpovědné za růst a diferenciaci buňky
 - Kromě výše uvedeného může stres a prozánětlivé cytokiny vyvolat po aktivaci Ras proteinu aktivaci Rac proteinu, který spouští kaskádu přes MEKK, MKK a SAPK/JNK, které v jádře aktivují geny zodpovědné za růst, diferenciaci a apoptózu. MKK může být též aktivovaná přes ASK 1, který přímo reaguje na působení oxidativního stresu
- schéma MAPK kaskády (<https://www.cellsignal.com/common/content/content.jsp?id=science-pathways-mapk>)

Patologicky může dojít :

- K overexpresi receptoru pro růstové faktory (rodina EGFR)
- K mutaci v k-ras, čímž vypadne GTPázová aktivita Ras proteinu a ten se stává permanentně stimulovaný
- Ke ztrátě lipidové vazby, která drží Ras na membráně, čímž protein ztratí svojí funkci (táto porucha však inhibuje signalizaci, využívá se terapeuticky)
- K overexpresi některé z kináz
- Celá MAPK signální kaskáda je mnohem složitější, navíc jsou jednotlivé dráhy mezi sebou vzájemně propojené, takže je těžké je od sebe jednoznačně oddělit. Princip všech variant MAPK kaskády je stejný, jejich uplatnění závisí na typu stimulu

PI3K/Akt dráha

- **PI3K** je aktivovaná buď autofosforylací receptoru pro růstové faktory (z rodiny EGFR) nebo aktivací receptoru pro cytokiny
- PI3K vytváří **PIP3** z membránových proteinů, které aktivují **PDK1** a ta následně fosforyluje **Akt protein** – kinázu, která má široké spektrum působnosti
 - Například fosforyluje IKKalfa, čímž se spustí signální dráha NF kappaB
 - Aktivuje glykolýzu a tlumí syntézu glykogenu
 - Působí na MDM2 protein, který řídí činnost p53 proteinu tím, že ho inhibuje
 - Aktivuje 14-3-3 protein, který fosforyluje protein Bad, čímž ho uvolní z vazby k Bcl-2 proteinu, který je tím aktivovaný
 - Aktivuje signální dráhu proteinu mTOR, která v konečném důsledku spouští buněčnou proteosyntézu a proliferaci.
 - Inhibuje blokátory buněčného cyklu

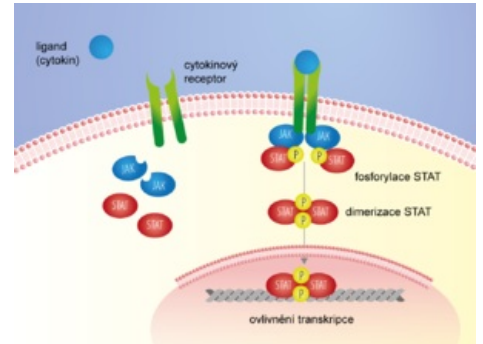
- schéma PI3K/Akt dráhy (<https://www.cellsignal.com/common/content/content.jsp?id=pathways-akt-signaling>)

Patologicky může dojít k:

- Ke zvýšení aktivity receptoru (podobně jako u MAPK dráhy)
- K mutaci v genu pro PI3K, čímž dojde k nekontrolovatelné aktivitě této kinázy
- K overexpresi proteinu Akt – například tumory ovaria
- K mutaci, při které vypadne funkce fosfatázy PTEN, která inhibuje tvorbu PIP3, produktu PI3K

JAK/STAT dráha

- Začíná receptorem pro cytokiny (také interleukiny), který zdimerizuje po navázání substrátu. Je to receptor s přidruženou tyrozin kinázovou aktivitou, kterou zprostředkovávají **JAK kinázy**. Dimerizací receptoru se aktivují, fosforylují se navzájem a kromě toho také fosforylují aktivují Grb2 a Ras, PI3K a **STAT proteiny**
- Fosforylované STAT proteiny dimerizují a vstupují do jádra, kde fungují jako transkripční faktory pro expresi c-Myc, cytokinů a dalších transkripčních faktorů
- Aktivovaná transkripce negativně inhibuje signální kaskádu prostřednictvím SOCS proteinu, který inhibuje činnost JAK kináz
- schéma JAK/STAT dráhy (<https://www.cellsignal.com/common/content/content.jsp?id=pathways-il6>),



Normální funkce JAK/STAT.

Patologicky

- Nejčastěji dochází k upregulaci JAK kináz, což se vyskytuje u některých lymfoproliferativních a myeloproliferativních chorob
- Může docházet také k downregulaci genu pro SOCS (např. hypermetylací DNA)

NF kappaB

- Reaguje na působení **TNF**, růstových faktorů, cytokinů.
- TNF faktor po navázání na receptor spustí kaskádu, která působí na **IKK**
- IKK kináza fosforyluje komplex I kappaB a ten se rozpadá na dva komplexy:
 - I kappaBalfa, NFkappaB1,p50,RelA
 - I kappaBbeta, NFkappaB2,p52,RelA,p65
- Z každého komplexu se oddělí inhibitor I kappaB, který je degradován v proteazomu. Výše uvedené proteiny se spojují do komplexu p65,RelA,p50,p52,NFkappaB, který vstupuje do jádra a působí tam jako transkripční faktor
- NFkappaB zodpovídá za proliferaci buňky, uplatňuje se při zánětlivé odpovědi a regulací imunity. Účastní se též na přežívání a diferenciaci B lymfocytů. Poruchy této dráhy lze pozorovat u některých hematologických malignit
- Dráha se aktivuje také po působení prozánětlivých cytokinů
- schéma NFkappaB signalizace (https://www.cellsignal.com/reference/pathway/NF_kappaB.html)

Tuto dráhu je možné **tlumit** podáváním **salicylátů, flavonoidů, glukokortikoidů**.

TGF

- TGF působí na svoje TGF receptory, které svojí aktivací aktivují **Smad2** protein
- Fosforylace Smad2 aktivuje Smad4, který působí v jádře jako transkripční faktor a zodpovídá za aktivaci buněk, růst buněk, zvýšení pohyblivosti a migračního potenciálu buněk
- TGF hraje roli při angiogenezi a tvorbě metastáz, kde potencuje migraci buněk při narušení konzistence ECM matrix a zvýšení cévní permeability
- Jeho produkce je stimulovaná například při aktivaci HIF proteinu citlivého na hypoxii v nádorové buňce, čímž se spustí syntéza ECM proteáz, růstových faktorů a cytokinů, potřebných při angiogenezi
- schéma signalizace TGFbeta (https://www.cellsignal.com/reference/pathway/TGF_beta.html)
- uplatnění TGF v angiogenezi (<https://www.cellsignal.com/common/content/content.jsp?id=pathways-angiogenesis>)

Wnt/Beta katenin

- Je dráha zprostředkující signální transdukcí přes Beta katenin (protein podílející se na mezibuněčném adhezním spojení), který je aktivovaný navázáním Wnt proteinu na svůj receptor
- Beta katenin následně působí v jádře jako transkripční faktor
- Deregulace této dráhy vede v některých případech k rozvoji maligního onemocnění
- signální dráha Wnt/beta katenin (<https://www.cellsignal.com/common/content/content.jsp?id=pathways-wnt>)

Notch dráha

- Tato signální dráha zprostředkovává juxtakrinní (ligandy jsou membránové proteiny sousední buňky, která signál vysílá) komunikaci mezi sousedními buňkami ve velmi těsném vzájemném kontaktu
- Uplatňuje se při vývoji nervového, kardiovaskulárního a endokrinního systému
- Aktivace receptoru spouští kaskádu modifikací receptorového proteinu, který ve výsledné úpravě působí v

- jádře jako transkripční faktor
- Mutace v Notch receptorech se podílejí na rozvoji některých typů T leukémií
- V kaskádě se uplatňuje též enzym **gamma sekretáza**, která je možným terapeutickým cílem tzv. cílené terapie
- schéma signalizace Notch (<https://www.cellsignal.com/common/content/content.jsp?id=pathways-notch>)

Regulace buněčného cyklu

- Je regulovaný ve dvou hlavních kontrolních bodech, kde se hodnotí integrita DNA a její kvalita před replikací a následně regulační a opravné mechanismy sledují, zda po replikaci DNA nedošlo k chybám a zda se DNA zreplikovala celá.
- Úlohu v regulaci mají hlavně dva proteiny, produkty tumor supresorových genů, jejichž poruchy můžou způsobovat nekontrolovanou hyperproliferační buněk.

pRB

- Je za normálních okolností vázaný na transkripční faktor **E2F** a blokuje syntézu cyklinu E. V případě aktivace komplexu cyklin D/CDK4,6 dojde k fosforylaci pRb, čímž se uvolní z vazby na E2F a nastane syntéza cyklinu E (překoná se kontrolní bod G1/G0), která umožní syntézu cyklinu A a vstup do S fáze.
- Syntéza cyklinu D je inhibována proteiny p15, p16 a p27 inhibuje Cdk2, která je potřebná pro vstup do S fáze cyklu. Tyto inhibiční proteiny jsou deaktivované při mitogenní stimulaci růstovými faktory (např. TGF) nebo proteiny regulujícími buněčný cyklus (např. produkty c-Myc)

p53

- Je protein, který zodpovídá za kontrolu integrity genomu („strážce genomu“)
- Indukuje produkci proteinů, které inhibují progresi buněčného cyklu dokud není DNA zkontrolována nebo buňka není stimulována.
- Jeho hladina je udržována na nízké úrovni díky mdm2 proteinu, který zabezpečuje ubikvitinylaci p53 (p53 po ubikvitinylaci putuje do proteasomu, kde je degradován).
- Poškození DNA však aktivuje kinázu **ATM/ATR**, která fosforyluje p53 a fosforylovaný p53 nemůže interagovat s mdm2.
- Ten následně indukuje proteiny GADD45 (opravy DNA), BRCA1 tumor supresor, p21 který zablokuje Cdk a zastaví tím buněčný cyklus a v neposlední řadě Bax protein, který spouští vnitřní cestu apoptózy. Zároveň dochází k inhibici Bcl2 proteinu.
- buněčný cyklus- G1/S kontrolní bod (<https://www.cellsignal.com/common/content/content.jsp?id=pathways-cc-g1s>)
- buněčný cyklus- G2/M kontrolní bod (<https://www.cellsignal.com/common/content/content.jsp?id=pathways-cc-g2m>)

Seznam zkratk

Akt – proteinkináza B
 ASK – kináza 1 regulující apoptózní signál
 ATM/ATR – ataxia teleangiectasia mutated protein kinase/ATM and Rad3 related protein kinase
 Bad – člen rodiny Bcl-2 proapoptózních proteinů
 Bax – proapoptózní faktor
 c-Myc – onkogen, transkripční faktor signálních drah pro mitózu
 Erk – extracelulárním signálem regulovaná proteinkináza
 Grb2 – adaptorový protein 2 pro receptor růstového faktoru
 HIF – faktor indukovaný hypoxií
 IKK – IκappaB kináza
 Iκappa – inhibitor NFκappaB
 JAK – Janusova aktivační tyrozinokinázová dráha pro cytokiny a růstové faktory
 MAPK – mitogeny aktivovaná proteinkináza
 MDM2 – mouse doubleminute 2
 MEK (MKK) – MAPK/ERK kináza
 MEKK – kináza aktivující Erk přes MEK
 mTOR – cicavčí rapamycin
 PDK1 – fosfatidyl dependentní kináza
 PI3K – fosfatidyl-inositol-3-kináza
 PIP3 – fosfatidyl-inositol-3,4,5,-trifosfát
 Rac – cytosolový Ras
 Raf – cytoplazmatická serin/threonin kináza aktivovaná Ras
 Ras – GDP/GTP vazebný protein
 SAPK – stresem aktivované proteinkinázy
 Smad – Smad a Mad related proteins
 SOCS – supresor cytokinové signalizace
 SOS – son of sevenless
 STAT – signal transducer and transcription activator

