



Основи онкологије

ДРУГА ГОДИНА СТУДИЈА

Наставна јединица 3

СИГНАЛНИ ПУТЕВИ У ЋЕЛИЈИ

Ras/Raf/MAPK сигнални пут

PI3K/*Akt* сигнални пут

JAK/STAT сигнални пут

Wnt сигнални пут

Hedgehog сигнални пут

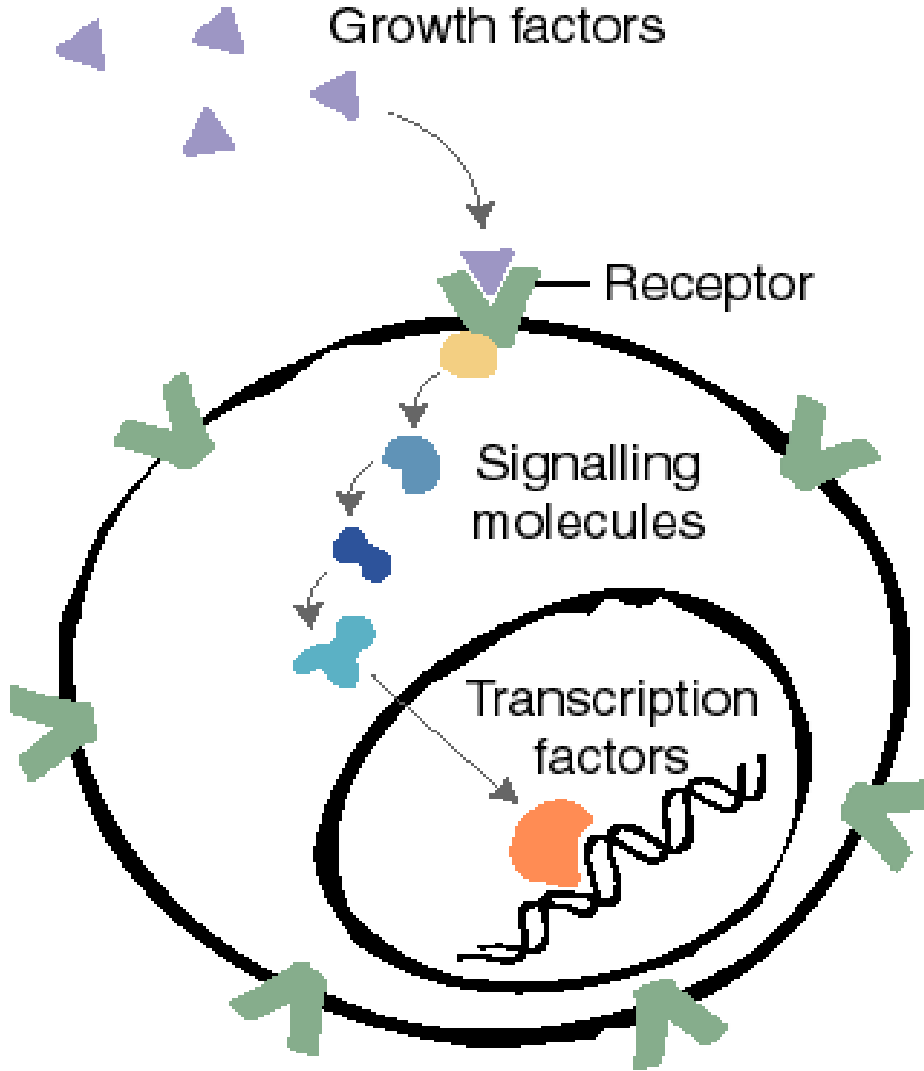
Улога транскрипционог фактора NF-κB
у онкогенези

СИГНАЛНИ ПУТЕВИ У ЋЕЛИЈИ

Есенцијални процеси за све живе организме, као што су **раст, пролиферација, диференцијација** и **програмирана смрт ћелије**, су строго регулисани бројним контролним механизмима

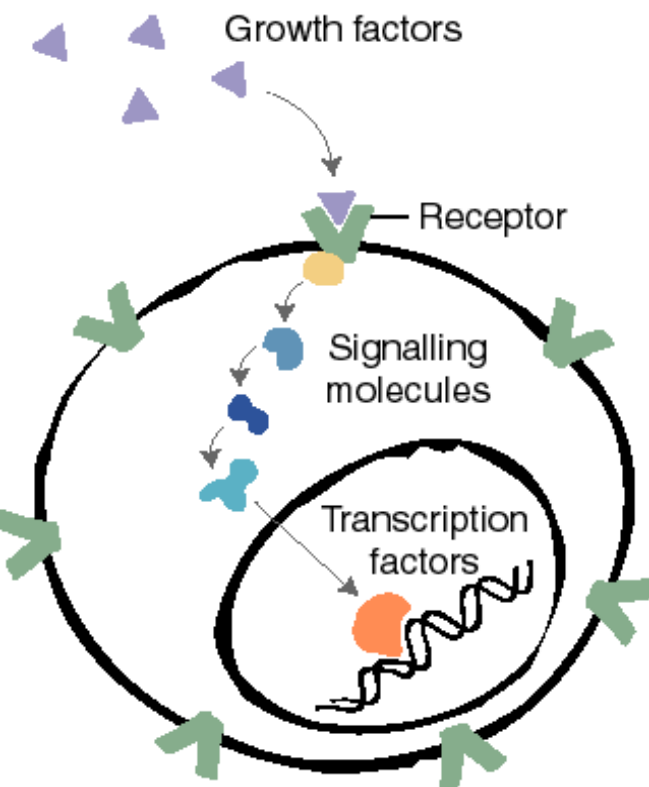
Уз помоћ **комплексне мреже сигналних путева у ћелији**, екстраћелијски сигнали се интегришу и дистрибуирају до различитих места одакле започиње одговарајући биолошки одговор на стимулус

СИГНАЛНИ ПУТЕВИ У ЋЕЛИЈИ



Раст, пролиферација, диференцијација и програмирана смрт ћелије су под сталном контролом екстраћелијских сигнала који укључују интеракцију са екстраћелијским матриксом, међућелијски контакт и, коначно, дејство солубилних молекула познатих под именом фактори раста

ТРАНСДУКЦИЈА СИГНАЛА У ЋЕЛИЈИ

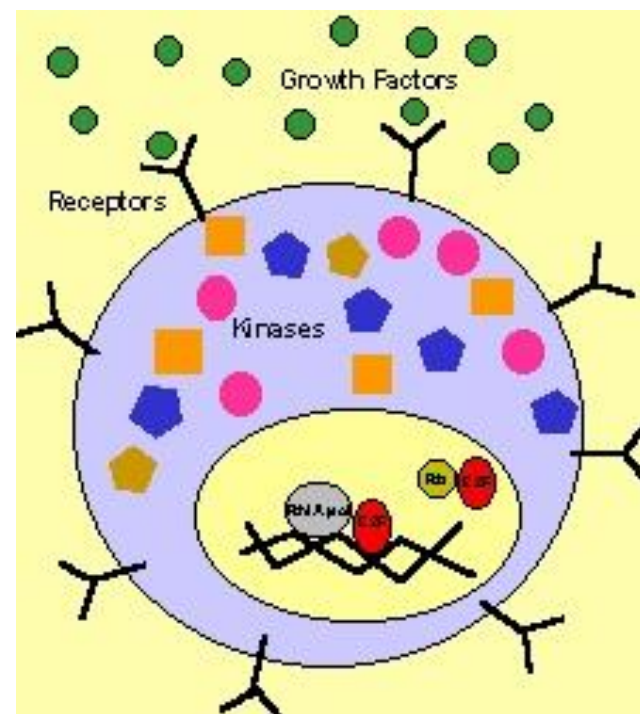


- Фактори раста ћелије су **солубилни сигнални молекули** (цитокини и хормони) који своје дејство остварују везивањем за **специфичне рецепторе на ћелијској мембрани**
- Интеракција између фактора раста и специфичног рецептора за фактор раста на ћелијској мембрани активира **каскаду интраћелијских сигналних путева** што за последицу има одговарајући биолошки одговор
- Сигнали се дистрибуирају до различитих места у ћелији, а коначно стижу у једро где се активирањем **транскрипционих фактора** модулише **експресија циљаних гена**

ТРАНСДУКЦИЈА СИГНАЛА У ЋЕЛИЈИ

Рецептори преносе информацију из спољашњости кроз мембрану ћелије путем мноштва унутарћелијских сигналних путева у којима учествују **цитоплазматски сигнални протеини**

Након покретања сигнала са рецептора, **сигнални протеини се активирају преласком из инактивне у активациону конформацију**, све док не приме други сигнал који их поново враћа у неактивно стање

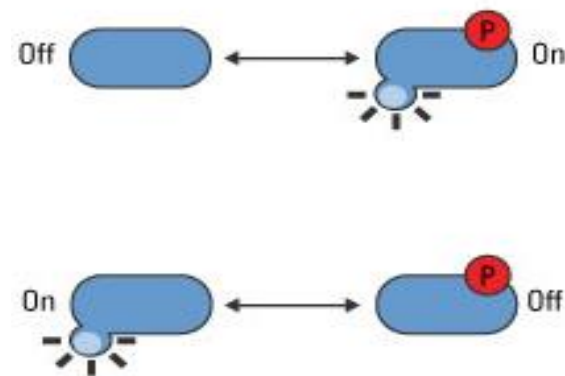
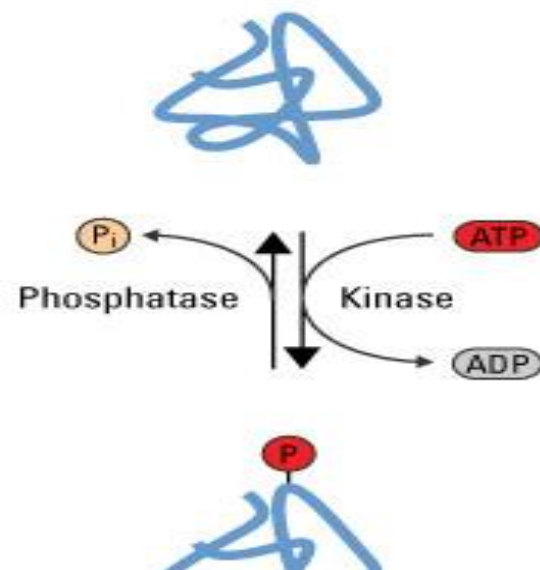


Два основна механизма активације сигналних протеина су :

- **фосфорилација** и
- **везивање гуанозин-3-фосфата (GTP)**

ТРАНСДУКЦИЈА СИГНАЛА У ЋЕЛИЈИ

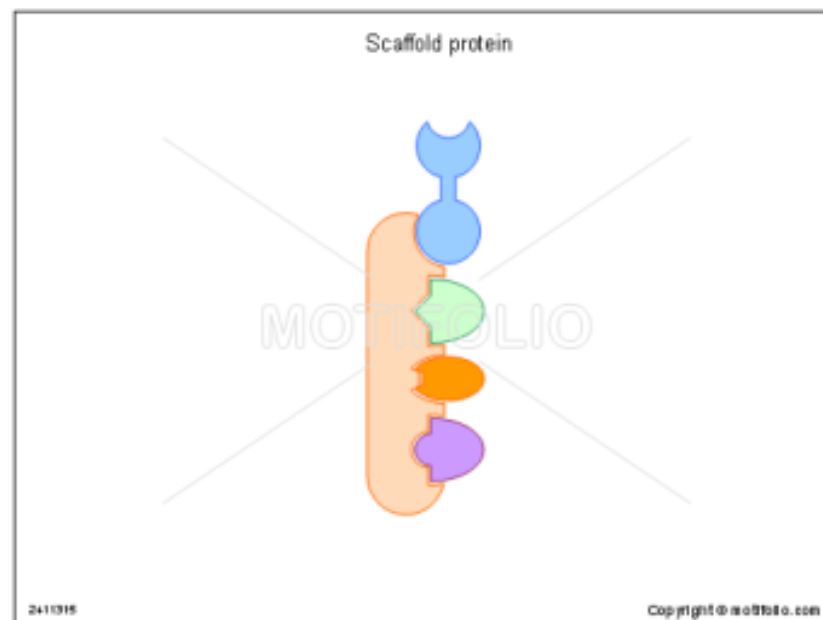
- Највећи број сигналних протеина се активира процесом **фосфорилације** коју обављају ензими који се називају **протеин киназе** - ензими који ковалентно везују једну или више фосфатних група за аминокиселинске резидуде протеина (**серин/треонин** и **тирозин киназе**)
- Многи сигнални протеини су и сами протеин киназе организовани као сигналне каскаде
- Супротно, протеин **фосфатазе** су ензими који уклањају фосфатне групе, односно врше дефосфорилизацију протеина, и најчешће их тиме их враћају у инактивно стање и прекидају пренос сигнала



ТРАНСДУКЦИЈА СИГНАЛА У ЋЕЛИЈИ

Ефикасну координацију сигналних догађаја у ћелији контролишу молекули који се називају **адаптерски** и **скафолд протеини**

Ови протеини интегришу, односно повезују интраћелијске компоненте сигналног пута



Адаптерски протеини посредством протеин-протеин реакција повезују молекуле сигналне каскаде са протеинима као што су рецептори са тирозин киназном активношћу

Скафолд протеини везују већи број сигналних протеина заједно у функционалан комплекс и тиме омогућавају формирање мултиензимских сигналних комплекса укључених у одређене сигнале путеве

СИГНАЛНИ ПУТЕВИ У ЋЕЛИЈИ И ОНКОГЕНЕЗА

- Различите компоненте сигналне каскаде могу постати онкогени и учествовати у малигној трансформацији ћелије
- **Прекомерна експресија, односно акумулација, или хиперактивност одређене компоненте сигналног пута,** настала као последица генске мутације, су најчешће узрок конститутивне активације сигналног пута независно од контролних регулационих механизма
- На сличан начин могу бити прекинути инхибиторни механизми, који блокирају спровођење сигнала и континуирано регулишу раст и деобу ћелије

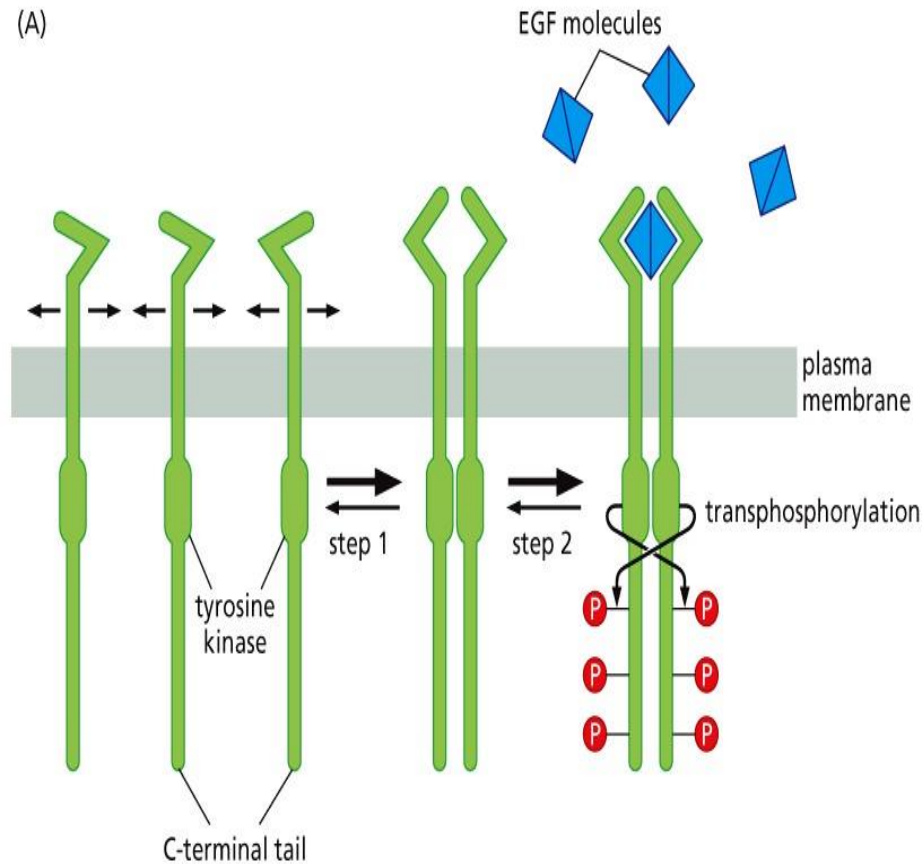
Губитком строге контроле и регулације раста и пролиферације, туморска ћелија стиче самостални пролиферативни капацитет и понашање, независно од ванћелијских или унутарћелијских утицаја и контроле

Рецептори за факторе раста

Неколико класа рецептора је укључено у трансдукцију сигнала у ћелији.:

- рецептори са тирозин киназном активношћу
- рецептори везани за G-протеин
- рецептори за цитокине

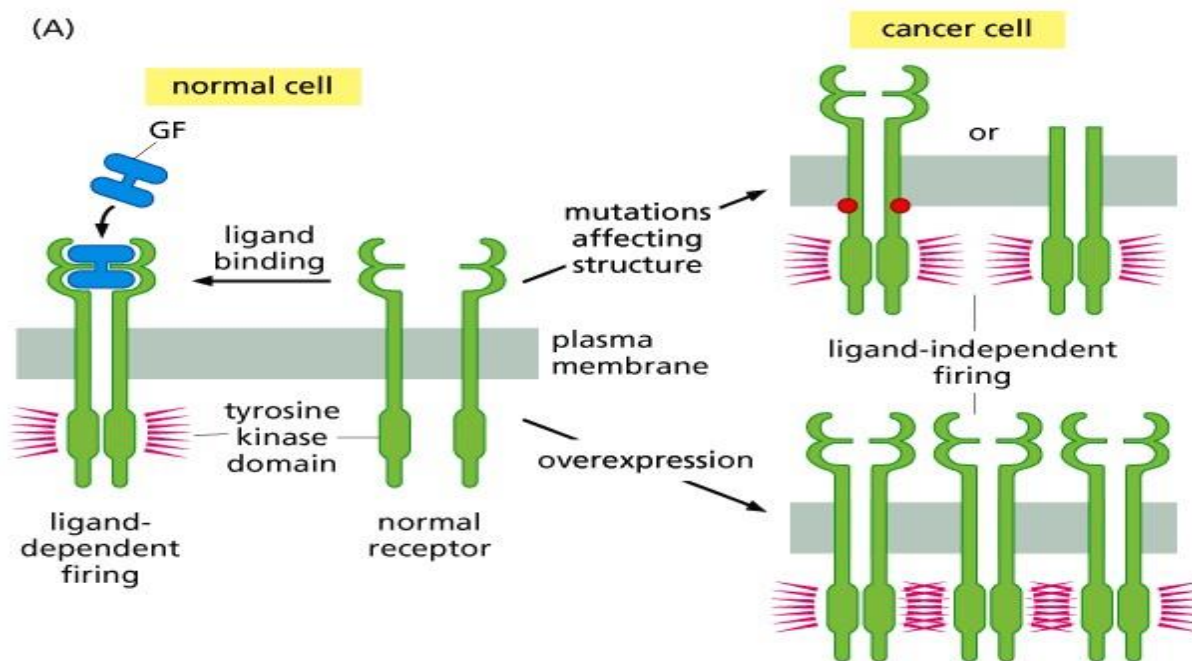
Трансдукција сигнала преко рецептора са тирозин киназном активношћу



- Већина екстрацелуларних сигналних протеина остварује своје дејство везивањем за мембранске рецепторе који садрже тирозин киназне домене у свом интрацитоплазматском делу
- Након везивања лиганда, рецептори димеризују или олигомеризују што њихове тирозин киназне домене доводи у међусобну близину и омогућава им да фосфорилишу мултипле тирозине суседних ланаца рецептора (трансфосфорилација) или других протеина укључених у трансдукцију сигнала

Трансдукција сигнала преко рецептора са тирозин киназном активношћу

- Фосфорилисане тирозинске резидуе протеина служе као усидравајућа места за различите низводно постављене сигналне протеине који се високим афинитетом везују за фосфатне групе тирозина помоћу специфичних домена који везују фосфотирозин
- Након везивања за активирани рецептор, сигнални протеини бивају и сами активирани фосфорилацијом, чиме започиње формирање сигналних комплекса и дистрибуција сигнала до различитих места у ћелији



Трансдукција сигнала преко рецептора са тирозин киназном активношћу

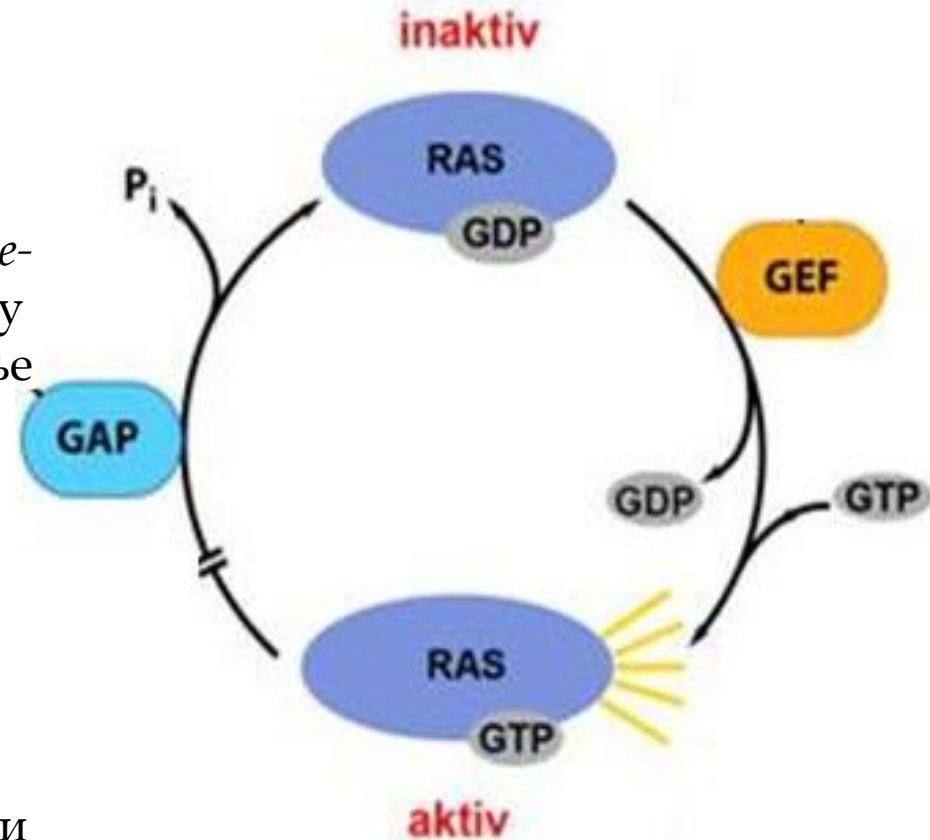
- Ras/MAPK (Ras протеин/митогеном активирана протеин киназа)
- PI3K/Akt (фосфатидил-инозитол-3 киназа/Akt киназа)
- JAK/STAT (Јанус киназа/преносилац сигнала и активатор транскрипције)



Раст, пролиферација и диференцијација ћелије -
онкогенеза и настанак тумора

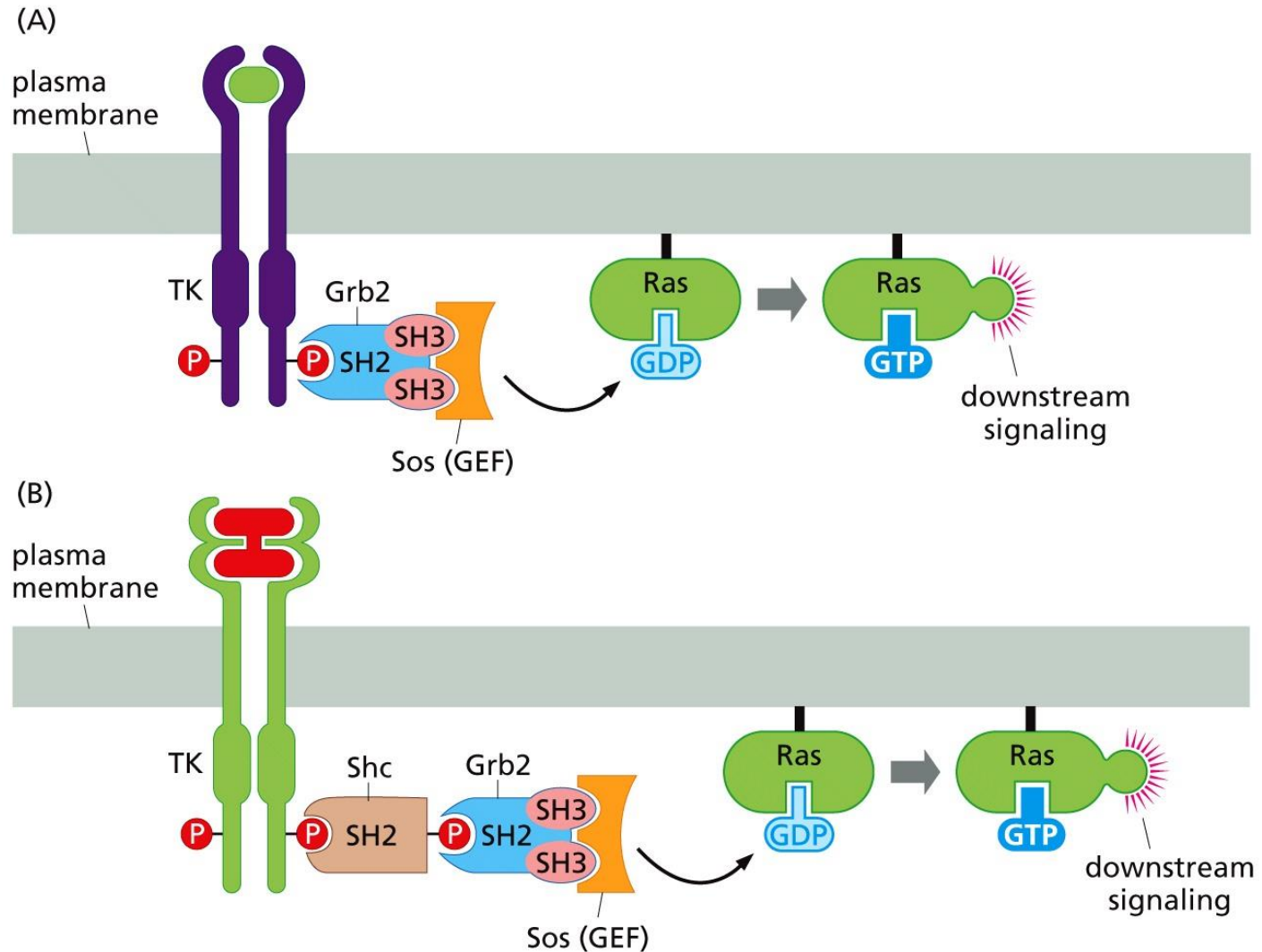
Ras протеин

- *Ras* је мали GTP-везујући протеин који садржи сопствени GTP-азни регион
- У неактивном стању *Ras* протеин везује GDP. Када се рецептор активира везивањем лиганда, фактори замене гуанинских нуклеотида (од енгл. *Guanine-nucleotide exchange factor*, GEF) стимулишу дисоцијацију GDP и следствено везивање GTP уместо GDP
- Временом GTP-азни регион *Ras* протеина хидролизује GTP у GDP, чиме га поново преводи у неактивно стање
- Активност GTP-азе снажно активирају молекули који се називају протеини који активирају GTP-азе (од енгл. *GTP-ase-activating protein*, GAP)



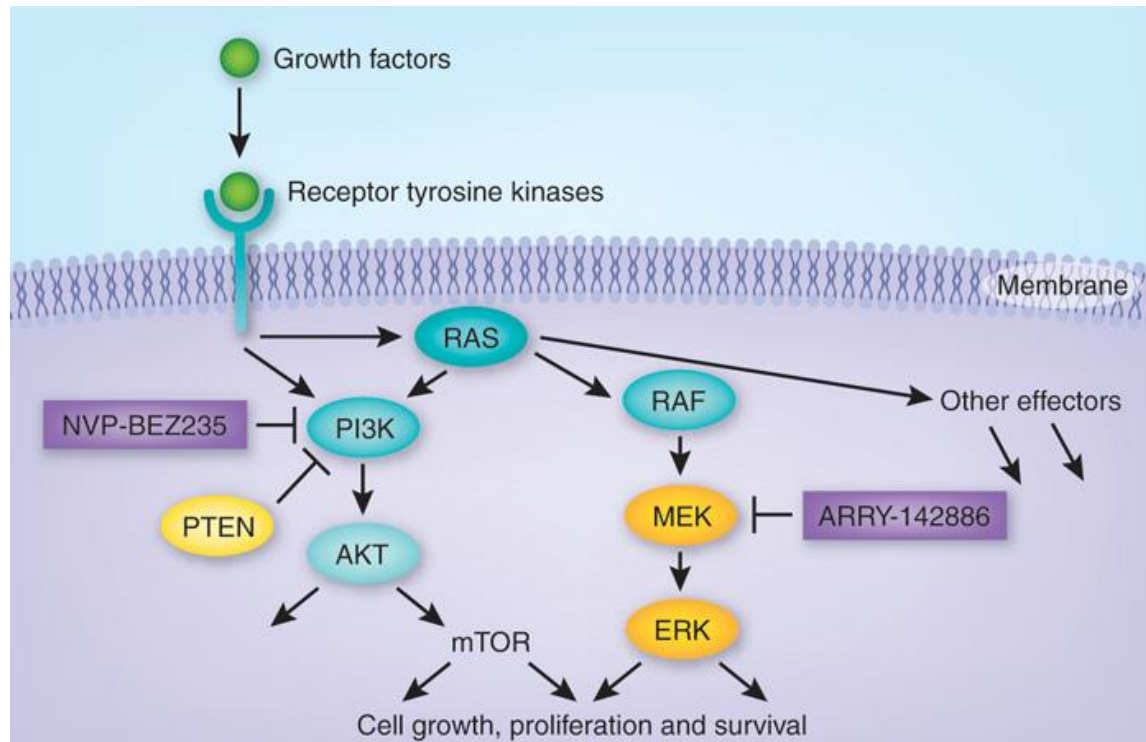
Ras протеин

- Рецептори са тирозин киназном активношћу активирају *Ras* било активацијом GEF или инактивацијом GAP протеина након њиховог везивања за фосфорилисане тирозинске резидуе активираниог рецептора



Ras протеин

- *Ras* протеин представља чвориште одакле се, у строго координисаној акцији, генерише сигнал до различитих места у ћелији
- Активирани *Ras* протеин може да ангажује велики број ефекторских молекула до мембране и покрене различите сигналне путеве у ћелији



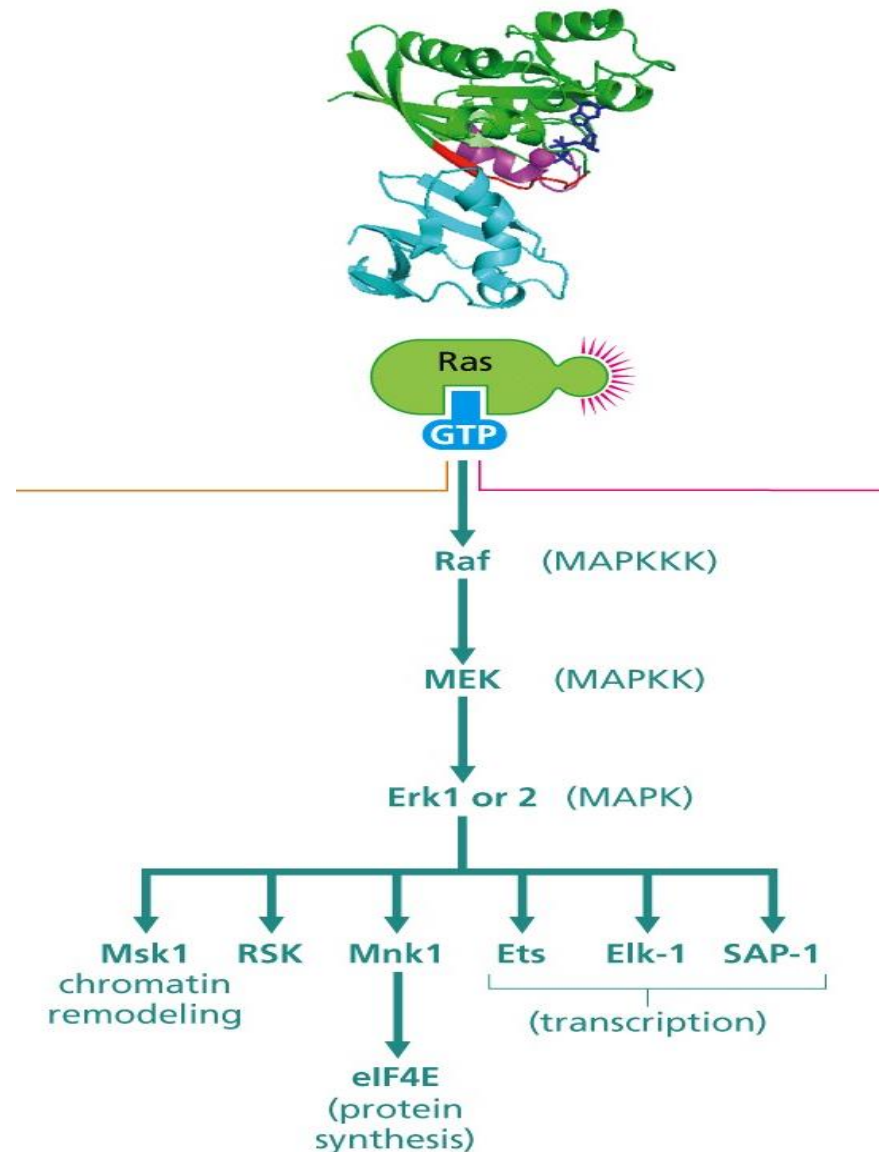
У зависности од типа ћелије и природе екстраћелијског сигнала, *Ras* протеин на различите начине посредује у процесима раста, пролиферације, диференцијације и преживљавања ћелије

Улога *Ras* протеина у онкогенези

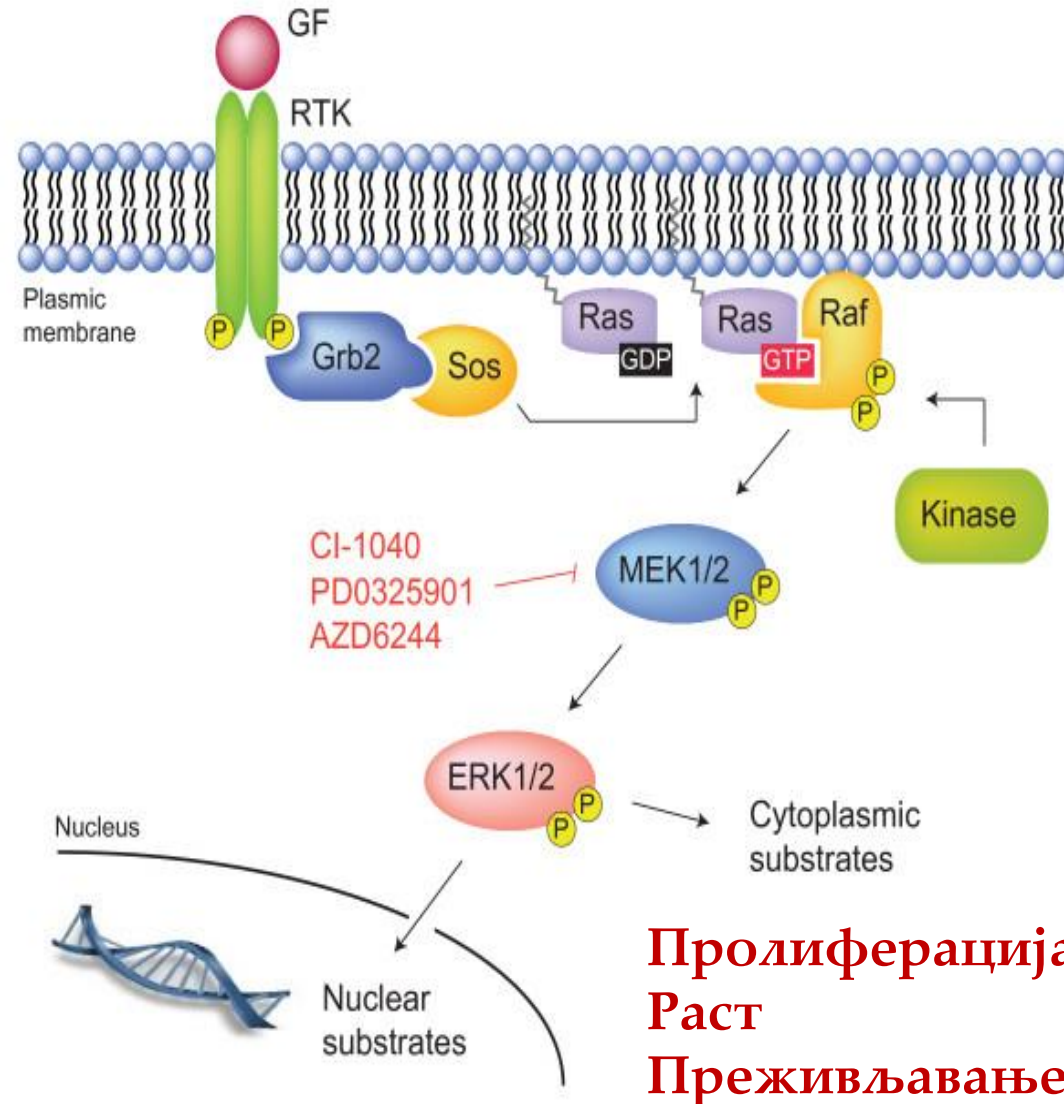
- *Ras* протеин је хиперактиван у многим туморским ћелијама. Мутације гена који кодирају *Ras* протеине су присутне у око трећине свих тумора
- Мутиране форме **K-Ras** протеина детектоване су у око 90% аденокарцинома панкреаса, 40-45% аденокарцинома колона, карциному плућа, меланому и бројним другим туморима
- Мутиране форме **H-Ras** протеина су у значајном проценту заступљене у карциному мокраћне бешике, док су мутације гена који кодира **N-Ras** протеин углавном присутне у туморима хематопоезног ткива (различити облици леукемија и лимфома), анапластичном карциному тироидне жлезде, меланому и другим туморима

Ras/Raf/MAPK сигнални пут

- Када се фактор раста веже за рецептор на циљној ћелији, покреће се каскадна фосфорилација од рецептора, преко *Ras* протеина и низа протеин киназа активираних митогеном (од енгл. *Mitogen-activated protein kinase kinases*, MAPKs)
- Ове киназе улазе у једро где фосфорилишу и активирају транскрипционе факторе који регулишу експресију циљаних гена



Ras/Raf/MAPK сигнални пут



Пролиферација
Раст
Преживљавање

- MAPKs регулишу активацију више транскрипционих фактора значајних за регулацију ћелијског циклуса
- Међу најважнијим транскрипционим факторима су *Fos* и *Jun* који заједно граде активациони протеин 1 (AP-1), хиперактиван у многим туморским ћелијама. ERK стимулишу транскрипцију гена који кодирају хепарин-везујући EGF, циклин D1, *Fos*, p21

Ras/MAPK сигнални пут

- Све еукариотске ћелије садрже неколико припадника суперфамилије **MEK** киназа, које фосфорилишу различите припаднике суперфамилије MAPKs
- **MAPKs: ERK, JNKs, p38** - серин/треонин киназе, које се активирају у цитоплазми, као одговор на специфичан екстрацелуларни сигнал, а затим се транспортују у нуклеус
- различите MAPKs регулишу различите одговоре ћелије, укључујући морфогенезу, смрт ћелије и одговоре на стрес

PI3K/*Akt* сигнални пут

- Фосфатидил инозитол-киназе су липид киназе које катализују пренос фосфатне групе са молекула АТФ на мембрански везан фосфатидил инозитол (PI)
- Најважнија међу њима (PI3K) фосфорилише фосфатидил инозитол-2-фосфат (PIP2), при чему настаје фосфатидил инозитол-3-фосфат (PIP3)

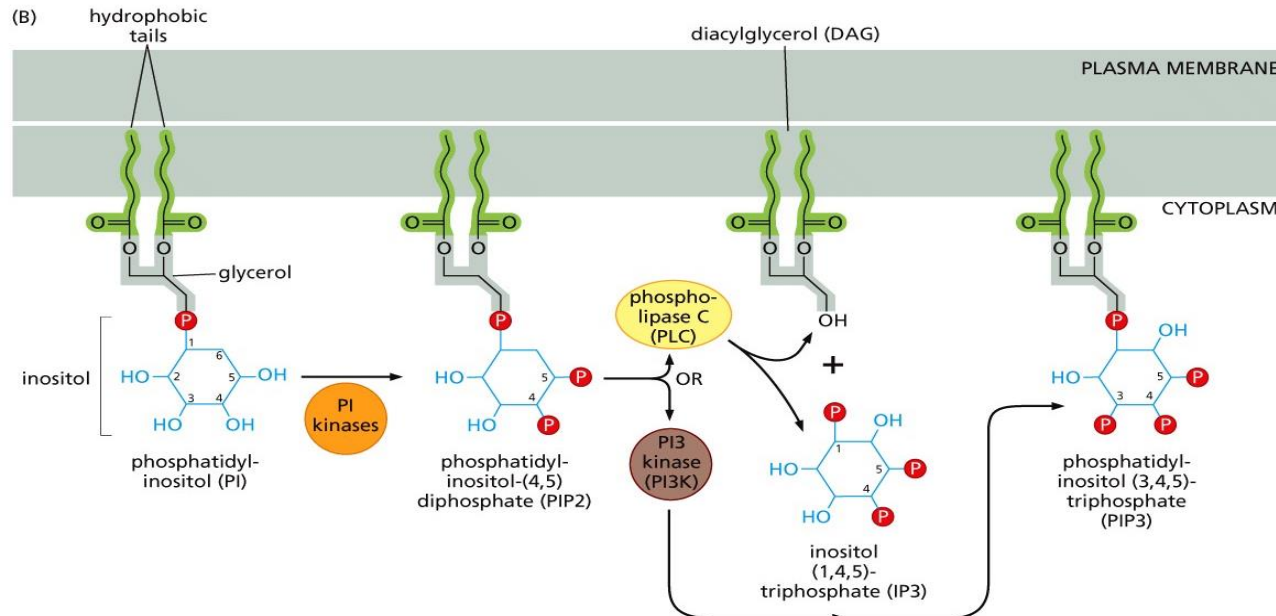


Figure 6.16 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

- Једна од најзначајнијих фосфатаза је PTEN (од енгл. *Phosphatase and tensin homolog*) која дефосфорилише PIP3 и тиме инхибира трансдукцију сигнала

PI3K/*Akt* сигнални пут

- Најважнији цитоплазматски протеин који се везује за настали PIP3 је **серин/треонин киназа *Akt***
- Akt* киназа која даље ангажује бројне цитоплазматске протеине са мултиплим ефектима на ћелију (преживљавање, раст, пролиферација)
- Akt* киназа **спречава улазак ћелије у програмирану ћелијску смрт**, тако што инхибира неколико важних проапоптотских протеина
- У исто време *Akt* киназа **стимулише пролиферацију** ћелије тако што промовише њен пролазак кроз ћелијски циклус

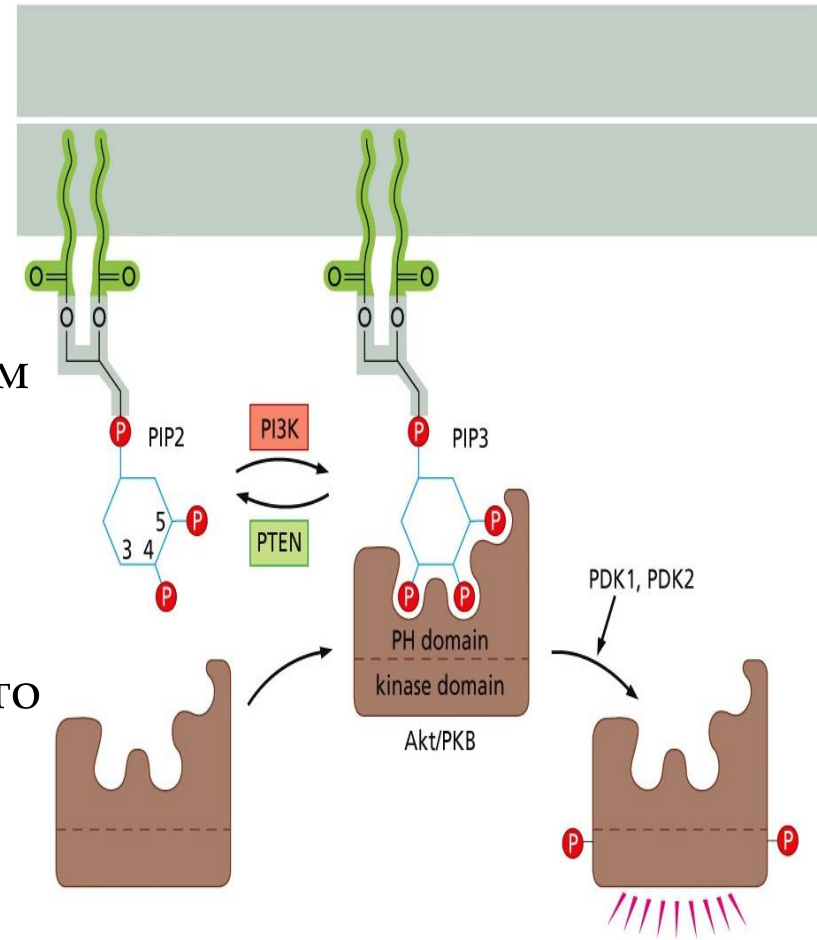
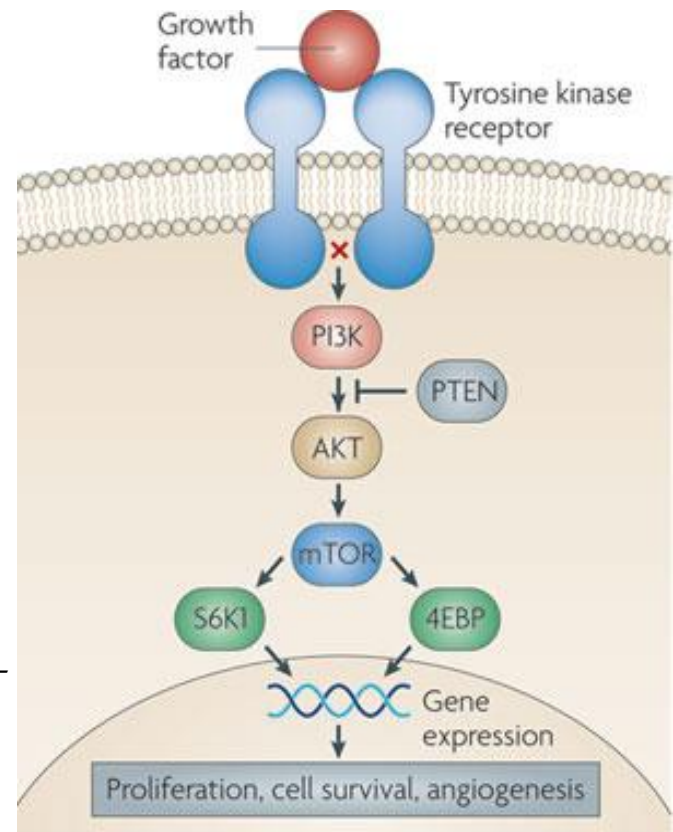


Figure 6.19 The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

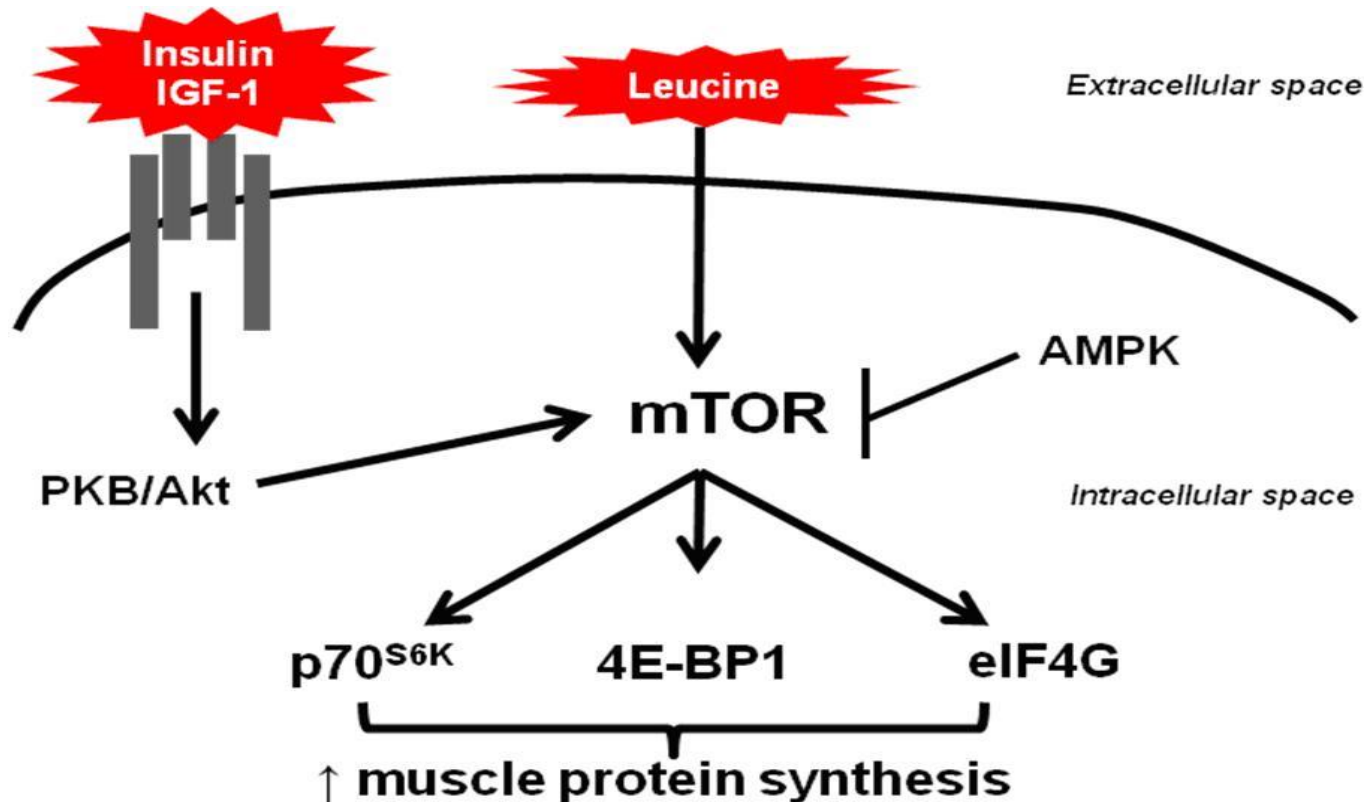
PI3K/Akt/mTOR сигнални пут

- Активиран PI3K/Akt сигнални пут испољава снажан ефекат на **стимулацију раста ћелије посредством стимулације синтезе протеина**
- PI3K, посредством активације *Akt* киназе, ангажује централни молекул овог сигналног пута, серин/треонин киназу **mTOR** (од енгл. *Mammalian target of rapamycin*)
- У хуманим ћелијама mTOR киназа је присутна у форми два протеинска комплекса: mTORC1 и mTORC2. mTORC1 се састоји из две главне субјединице: mTOR киназе и регулаторног протеина који се назива *Raptor* (од енгл. *regulatory-associated protein of mTOR*)
- mTORC1 регулише транскрипцију гена, стварање рибозома, синтезу протеина, ћелијски метаболизам, аутофагију и ћелијски раст и деобу**



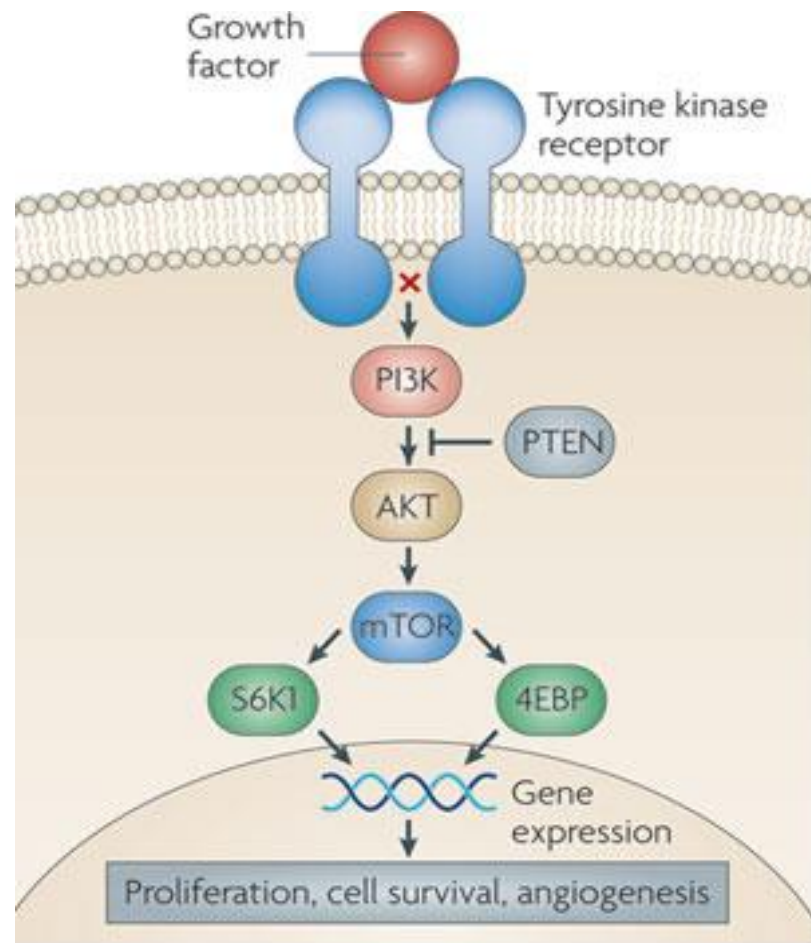
mTOR

- Активност mTORC1 зависи од доступности фактора раста, хранљивих материја и енергије у и око ћелије. Тако аминокиселине, а нарочито леуцин, директно активирају mTORC1
- Протеин киназа AMPK (од енгл. *AMP-activated protein kinase*) инхибира mTORC1. Ћелијски стрес, хипоксија или оштећење ДНК инхибирају mTORC1 преко AMPK-а



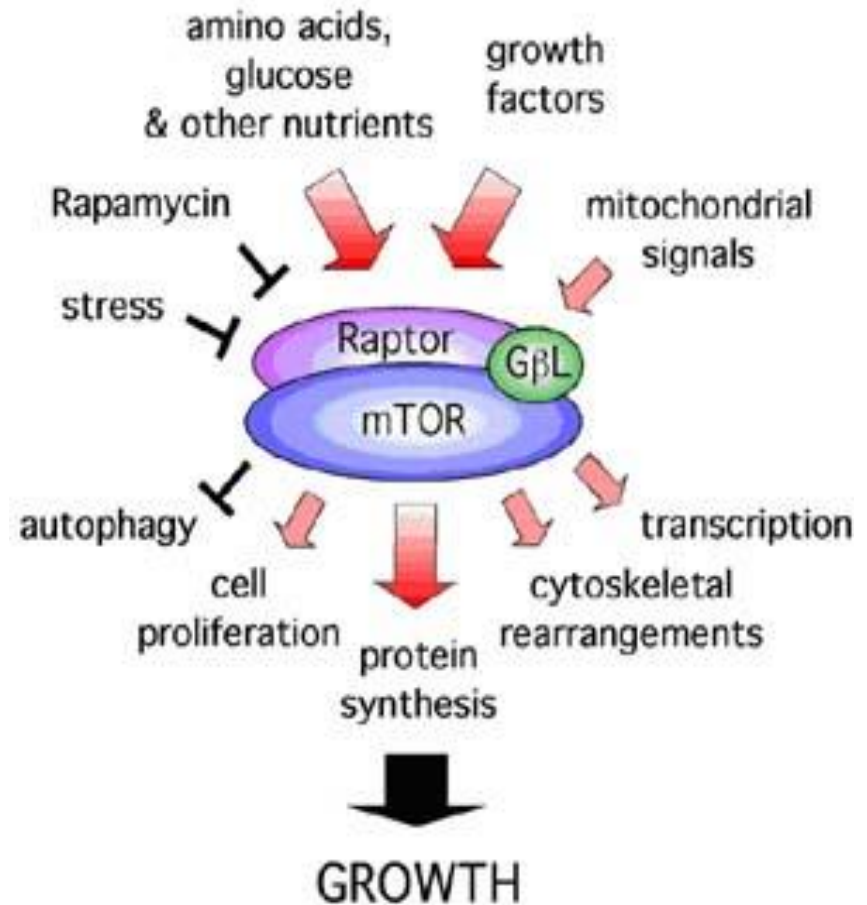
mTOR

- Главни супстрати mTORC1 су **p70 S6 киназа (S6K)** и **4E-ВР** (енгл. *Eukaryotic translation initiation factor 4E* (eIF4E) *binding protein*)
- mTORC1 фосфорилише S6K и тако је активира. S6K повећава синтезу рибозомских протеина, фактора елонгације и других протеина неопходних за процес транслације
- Поред тога mTORC1 фосфорилише 4E-ВР и тако спречава инхибицију eIF4E-а. Слободни eIF4E даље стимулише транслацију



mTOR

- mTORC1 регулише транскрипцију гена укључених у метаболичке и биосинтетске процесе, унос глукозе, аминокиселина, липопротеина и гвожђа у ћелију, као и аутофагију и апоптозу
- mTORC1 стимулише синтезу протеина
- mTOR киназа стимулише раст ћелије и њен прелазак из G1 у S фазу



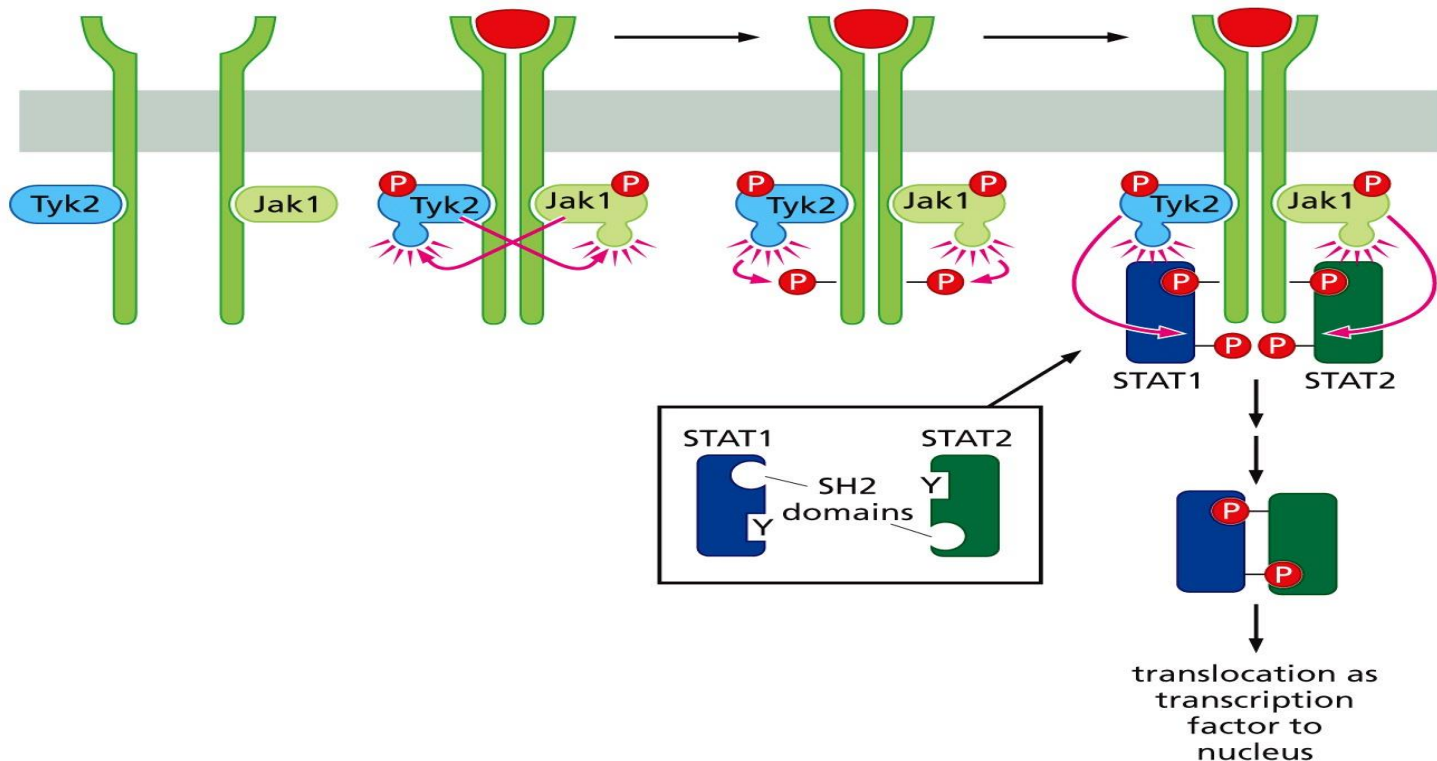
Улога PI3K/*Akt* сигналног пута у онкогенези

- Различите компоненте PI3K/*Akt* сигналне каскаде, а нарочито PI3K, *Akt* и PTEN, су појачано експримиране или мутиране у бројним туморима
- Поред мутација гена који кодирају *Ras* протеине, мутације гена који кодирају PI3K спадају међу најчешће генетске абнормалности у настанку тумора (колоректални и хепатоцелуларни карцином, карциноми ендометријума, дојке, простате, глиобластоми...)
- Повећана експресија или активација *Akt* киназе, настала као последица генске мутације, детективана је у туморима јаника, карциному панкреаса, хепатоцелуларном и колоректалном карциному, глиобластомима или хематолошким малигнитетима
- Губитак функције PTEN настао као последица генске мутације, одговоран је за конститутивну активацију овог сигналног пута у туморима простате и ендометријума, глиомима, меланому и др

Трансдукција сигнала са рецептора за цитокине

JAK/STAT сигнални пут

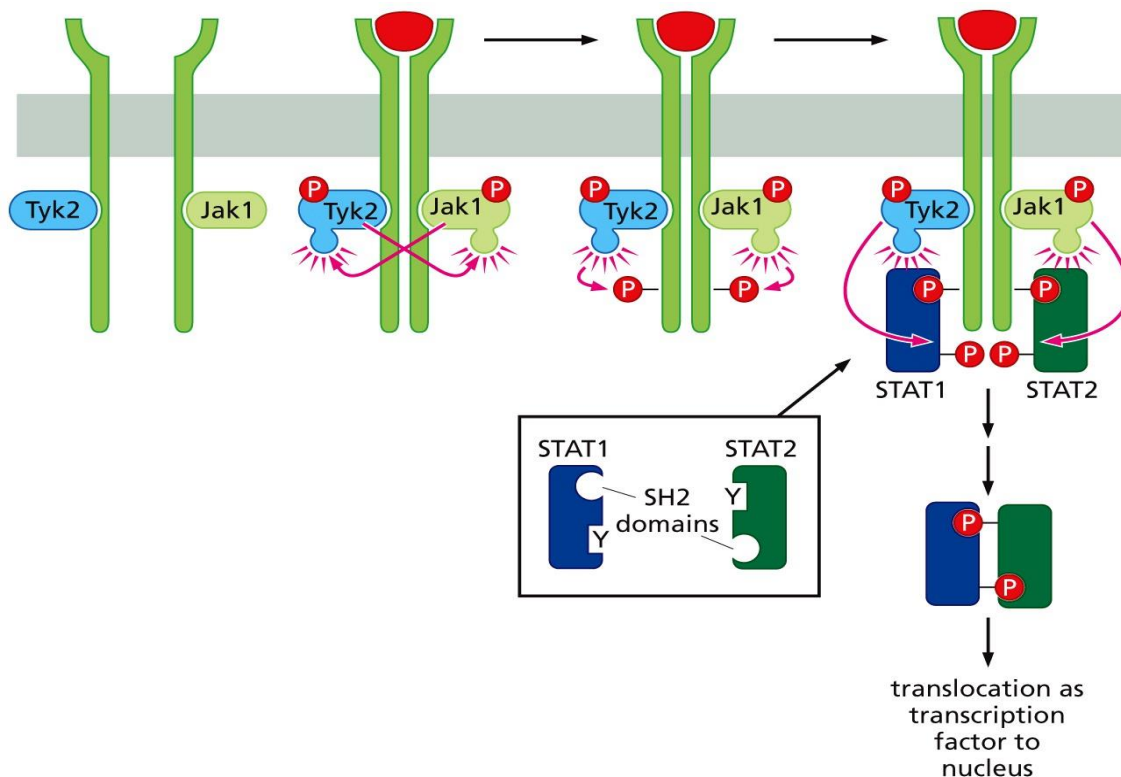
- Велики број медијатора међућелијске комуникације (цитокини, хормони и фактора раста) испољавају своје дејство на ћелију посредством рецептора који су груписани у велику фамилију **рецептора за цитокине**
- Кључни молекули у спровођењу сигнала са рецептора за цитокине су **јанус киназе (ЈАК):** JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2



Трансдукција сигнала са рецептора за цитокине

JAK/STAT сигнални пут

- JAK врше фосфоризацију рецептора и молекула који се називају трансдјусери сигнала и активатори транскрипције (**STAT**). До данас је идентификовано 7 STAT молекула
- STAT молекули формирају хомодимере или хетеродимере који се транспортују у једро где даље регулишу експресију циљаних гена



STAT молекули стимулишу транскрипцију неколико стотина гена важних за процесе пролиферације и преживљавања ћелије, као што су *тус*, гени који кодирају **циклине D2 и D3** или ген који кодира **антиапоптотски протеин Bcl-XL**

Улога JAK/STAT сигналног пута у онкогенези

Континуирана активација STAT молекула, индукована фосфорилацијом посредованом JAK или другим тирозин киназама или смањеном активношћу фосфатаза које уклањају фосфатне групе, може бити важан фактор појачане пролиферације или смањене апоптозе у процесу малигне трансформације ћелије

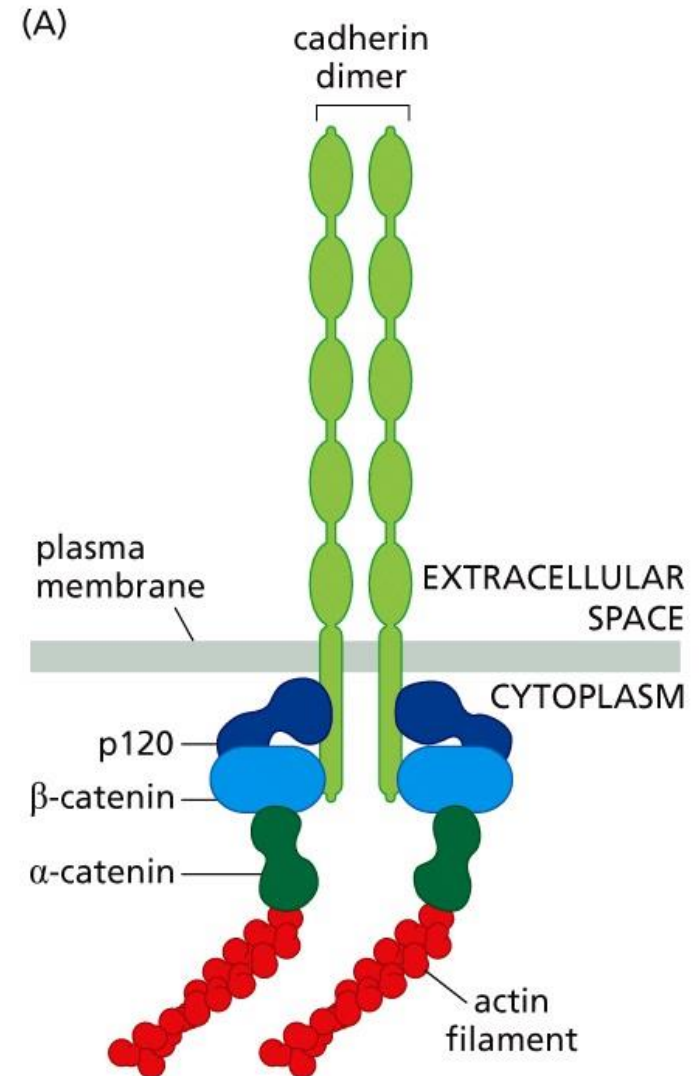
- STAT3 молекула је конститутивно активиран у многим туморима као што су тумор дојке, тумори главе и врата, меланом, глиобластоми и тумори плућа и желуца
- Мутација гена који кодира JAK2 идентификована је код великог броја пацијената са различитим типовима мијелопролиферативних неоплазми

Wnt сигнални пут

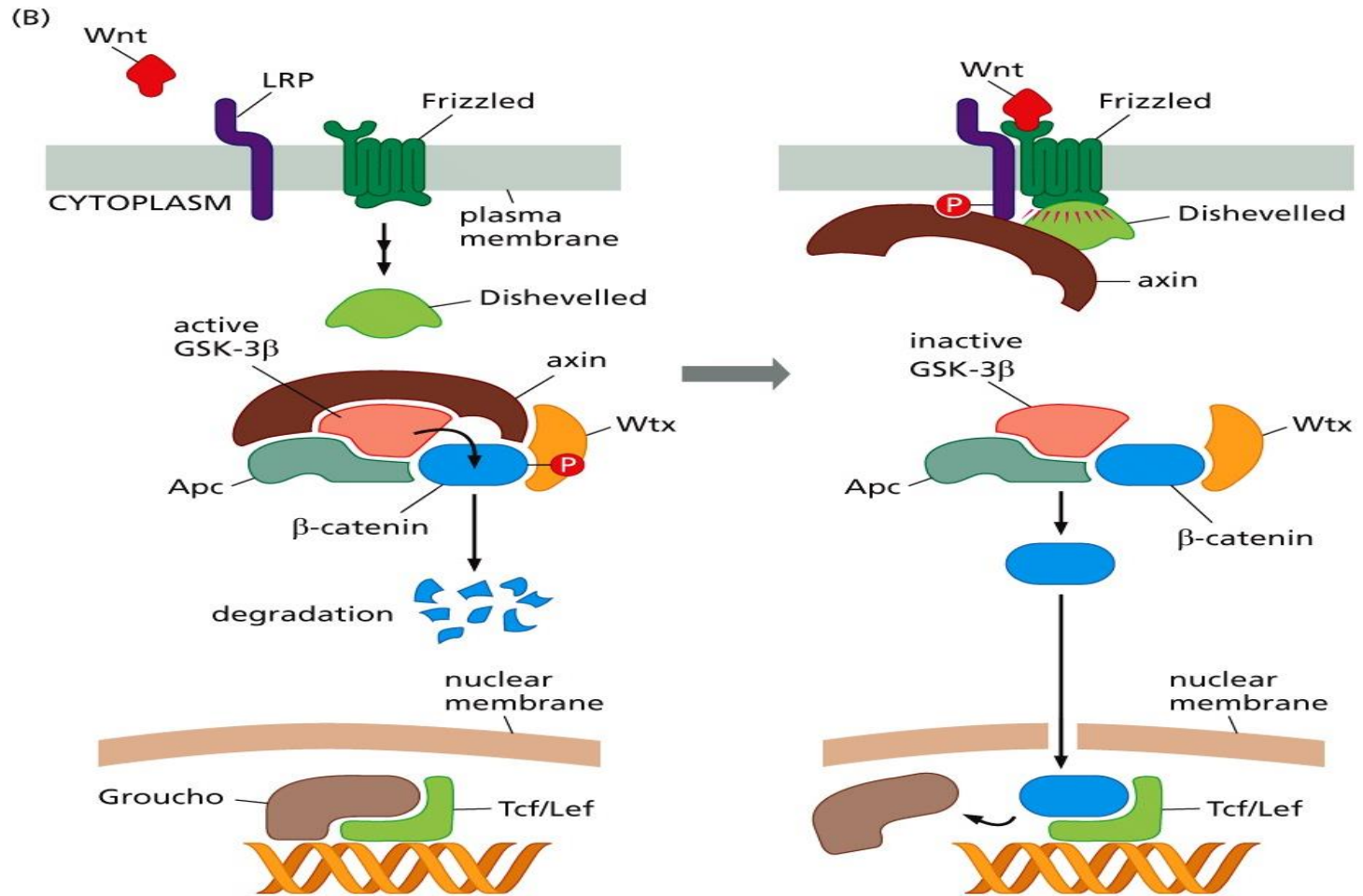
- *Wnt* протеини су секретовани сигнални молекули који делују као локални медијатори у контроли многих аспеката развоја организма као што су пролиферација ћелија, преживљавање матичних ћелија и њихова диференцијација
- Структурно су карактеристични и садрже масне киселине ковалентно везане за N-терминални крај протеина што повећава њихову способност да се вежу за површину ћелије
- Познато је 19 *Wnt* протеина у људском организму
- *Wnt* протеини активирају неколико сигналних путева у ћелији од којих је најбоље описан ***Wnt/β-катенин* сигнални пут**

Wnt сигнални пут

- *Wnt*/β-катенин сигнални пут регулише протеолитичку разградњу мултифункционалног молекула β-катенин који игра важну улогу у процесима међућелијске адхезије и регулацији експресије гена
- У епителним ћелијама, β-катенин је везан за трансмембрански адхезивни протеин кадхерин и учествује у формирању и стабилизацији међућелијских веза
- Уколико није везан за кадхерин, β-катенин се у ћелији брзо разграђује у протеазомима



Wnt сигнални пут



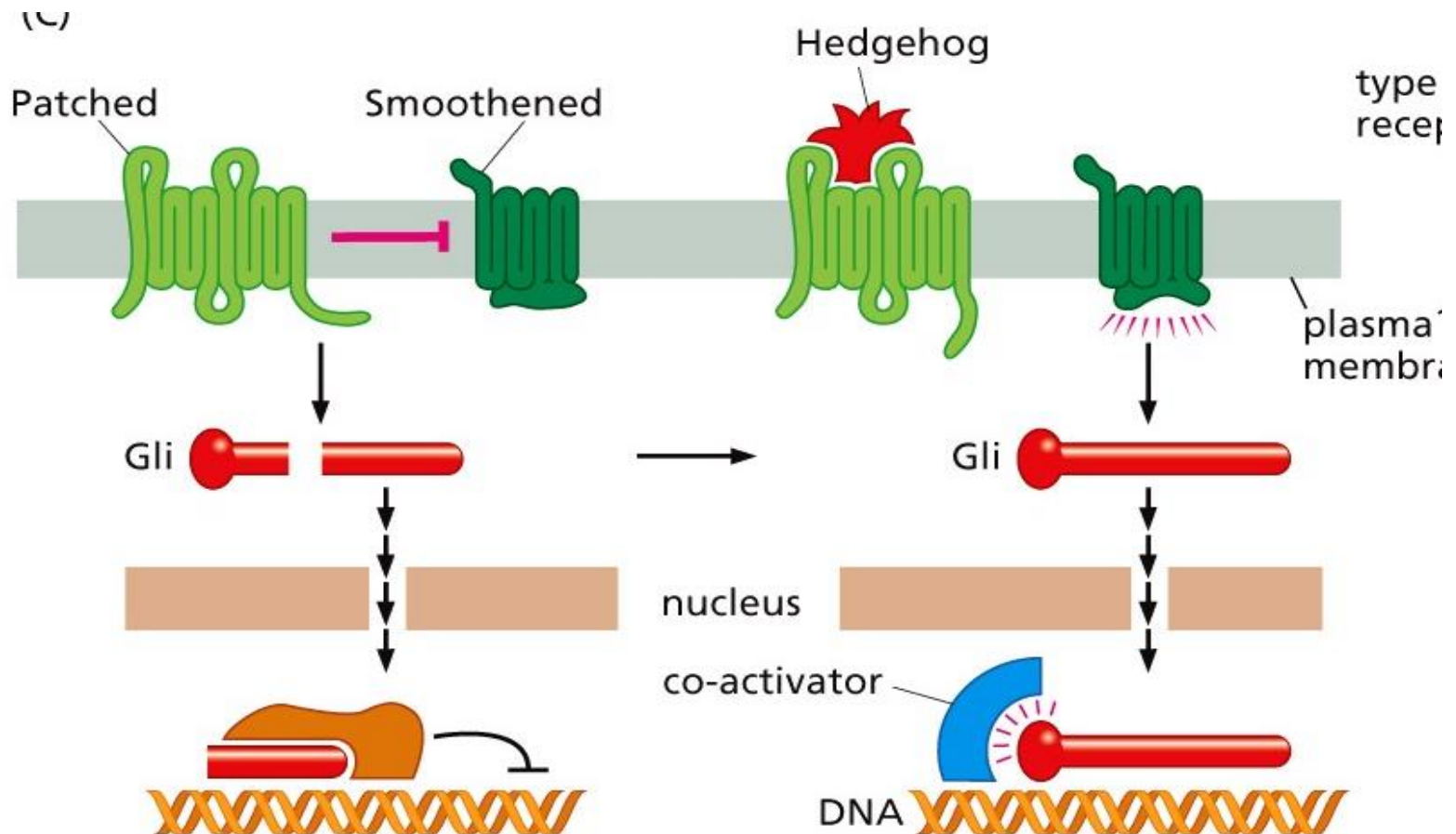
У присуству *Wnt* сигнализације, β -катенин се акумулира у једру и стимулише транскрипцију *c-тус* и других гена што резултира неконтролисаним растом и пролиферацијом ћелије и следственим настанком тумора

Wnt сигнални пут

- *Wnt* сигнални пут је конститутивно аутокринно активиран у различитим типовима тумора као што су тумори дојке, карцином простате или сарком
- Много чешће, мутације гена који кодирају различите компоненте *Wnt*/β-катенин сигналног пута, као што су β-катенин или APC протеин, могу бити укључене у настанак тумора
- Наследне мутације гена који кодира APC протеин одговорне су за настанак фамилијарне аденоматозе колона коју карактерише појава мултиплих аденоматозних полипа колоректалне слузнице који временом подлежу малигној трансформацији и настанку колоректалног карцинома
- Мутације гена који кодира APC протеин су, такође, детектоване у 80% случајева спорадичног карцинома колона

Hedgehog сигнални пут

- *Hedgehog* протеини су секретовани сигнални молекули који су структурно модификовани ковалентно везаним липидима
- Представљају важне молекуле који контролишу транскрипцију бројних gena



Hedgehog сигнални пут

Hedgehog протеини су важни стимулатори пролиферације ћелије, тако да појачана активација *Hedgehog* сигналног пута може представљати један од молекулских механизма за настанак тумора

Мутације гена који кодирају инактивне *Patched* протеине представљају основу за појачану активацију овог сигналног пута, што је често основни механизам настанка базоцелуларног карцинома коже

Улога транскрипционог фактора NF-κB у онкогенези

- Транскрипциони фактор који игра централну улогу у одговору ћелије на инфекцију и повреду
- Регулише експресију око 500 различитих гена који кодирају протеине укључене у настанак инфламације и одговор ћелије на стрес
- Активирају га бројни екстрацелуларни стимулуси: структуре микроорганизама, проинфламаторни цитокини, реактивни медијатори кисеоника и други

У хроничној инфламацији NF-κB учествује у настанку тумора стимулацијом преживљавања и пролиферације ћелије

Улога транскрипционог фактора NF- κ B у онкогенези

- NF- κ B је хетеродимер састављен из субјединица p65 и p50
- У инактивној форми је секвестриран у цитоплазми везивањем за инхибиторни полипептид I κ B
- Протеин киназа IKK врши фосфорилацију и следствену дисоцијацију I κ B
- NF- κ B се ослобађа и транспортује у једро где регулише експресију бројних гена
- NF- κ B стимулише експресију антиапоптотских протеина, *тук* онкогена и циклина D1 и на тај начин спречава апоптозу туморске ћелије и промовише њену пролиферацију

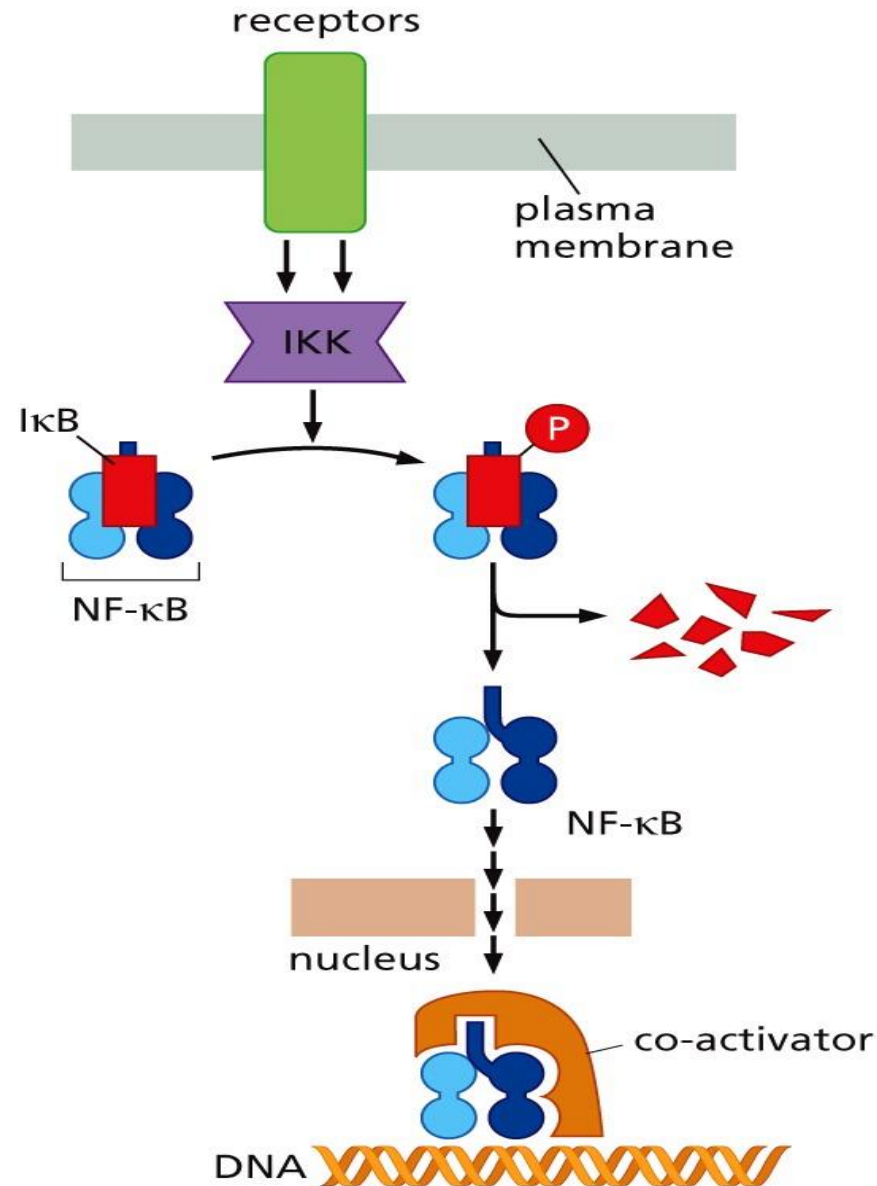


Figure 6.29a The Biology of Cancer (© Garland Science 2014)

Улога транскрипционог фактора NF-κB у онкогенези

- Конститутивна активација NF-κB сигналног пута је честа у туморима, иако су мутиране форме компоненти NF-κB сигналне каскаде ретко присутне
- У туморима дојке NF-κB сигнални пут је често хиперактиван, што је најчешће последица повећане експресије ИКК
- NF-κB игра важну улогу у малигној пролиферацији ћелија имунског система. Повећана експресија NF-κB детектована је у великом проценту лимфома В и Т лимфоцита и мијелома