Bioquímica Aplicada
Licenciatura em Bioquímica, FCUL

BIOTECNOLOGIA E CANCRO

Como o conhecimento sobre o cancro pode ajudar a desenhar novas terapias

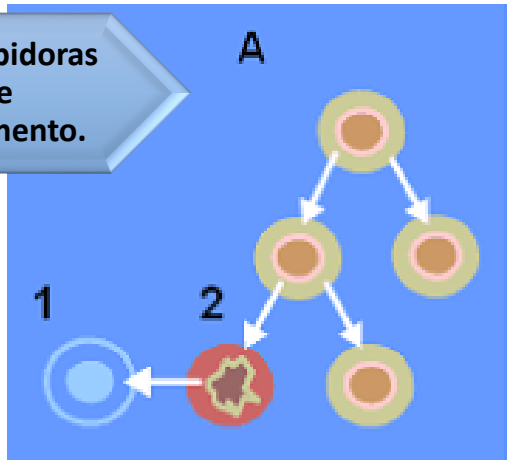
Rita Pacheco, Professora Adjunta ISEL

19 abril 2016

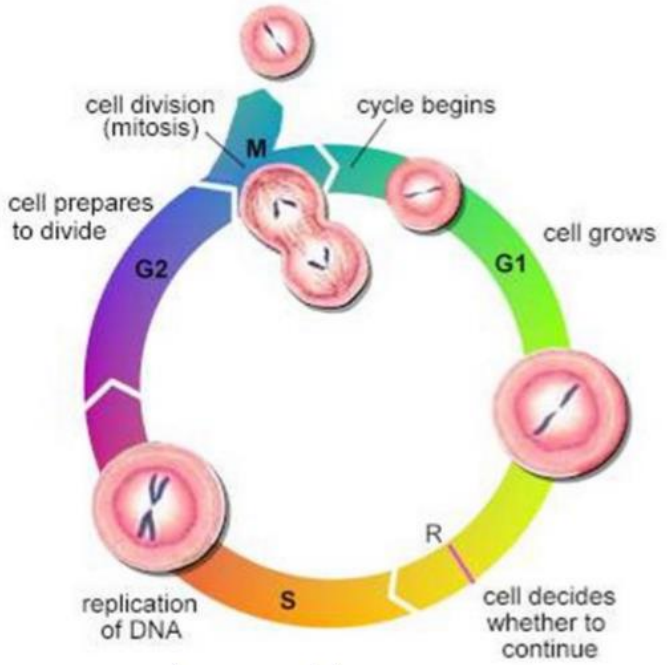
Ciclo celular

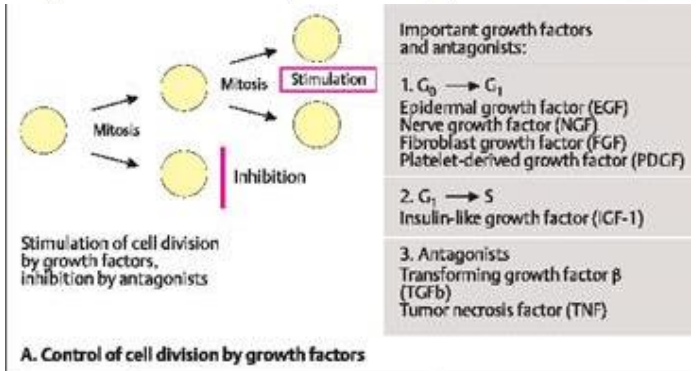
Desenvolvimento , diferenciação e manutenção de funções requer regulação do momento e localização das divisões celulares.

As células em divisão têm de ser controladas. → vias promotoras de crescimento → vias inibidoras de crescimento.



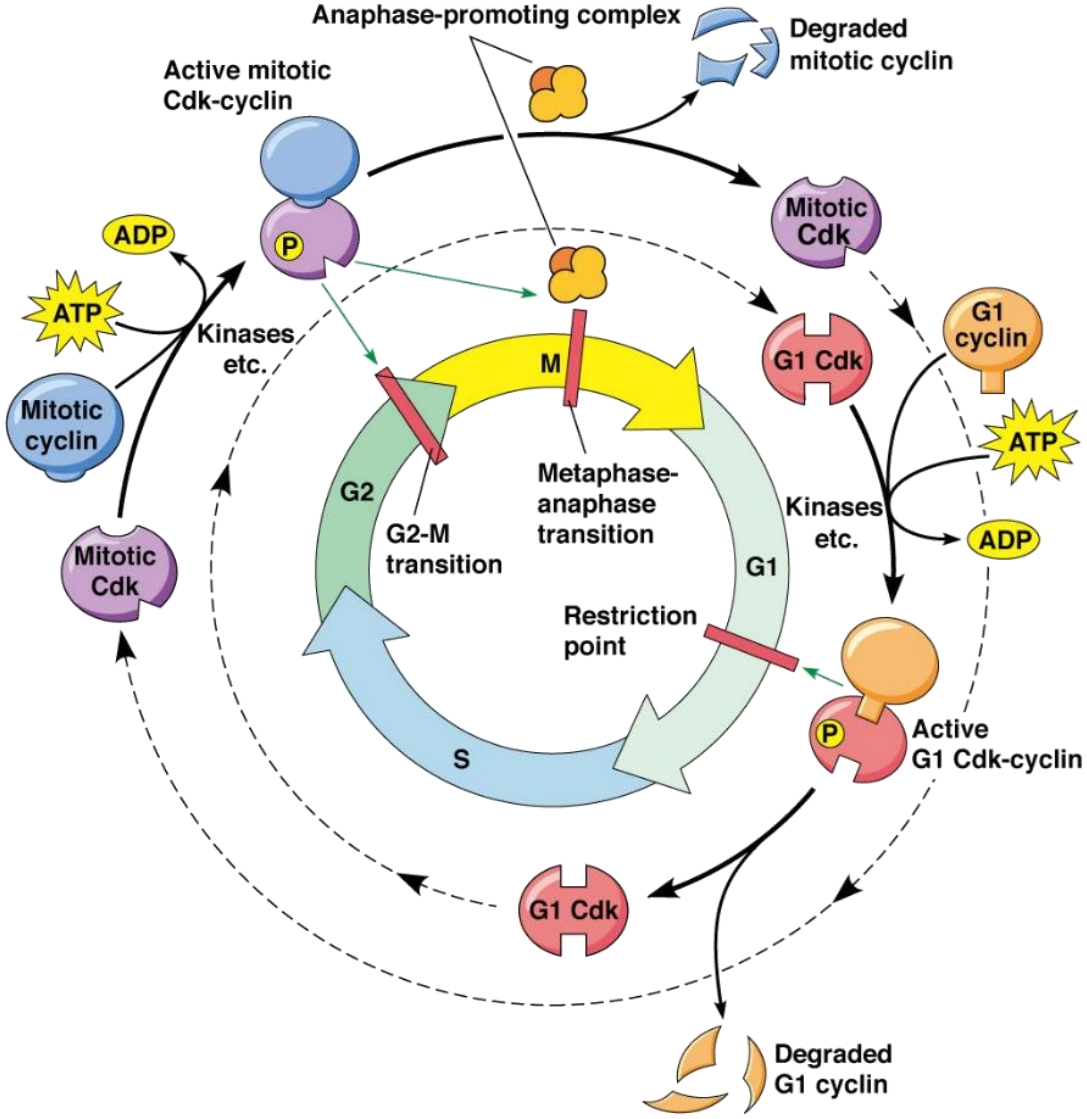
In normal cells, cell division is tightly regulated. Old cells undergo apoptosis as new cells are produced.





The Basics of Cell Division

- G1: Cell Growth, makes duplicate organelles, increase in size
- S phase: Duplicates all the chromosomes- photocopying of information
- G2: More growth, time needed to gain strength for mitosis
- Mitosis- Cell divides up the chromosomes so each of the new daughter cells has all the information
- Cytokinesis- The cell breaks into two cells



Mecanismos que regulam o ciclo celular/reprimem crescimento de tumores

- Cinases (CDKs) e ciclinas
- Checkpoints do ciclo celular- Key points (G1, G2, metáfase)
- CKI- Proteinas supressoras de tumores- erros e danos são reparados
- Apoptose

Carcinogénese, Oncogénese ou tumorigénese

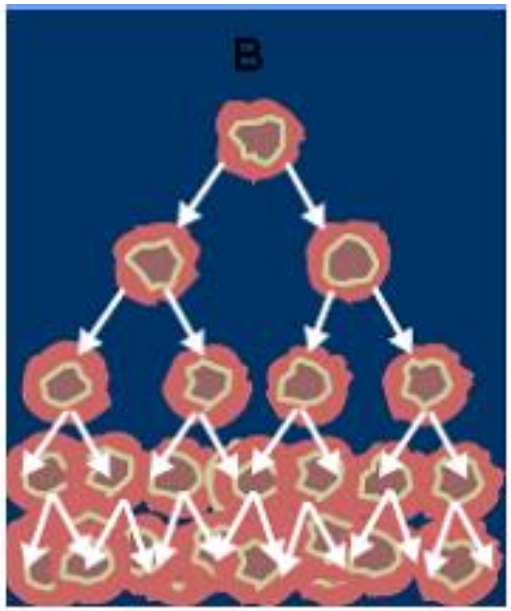
Cancro é uma das doenças mais comuns no mundo

Células cancerígenas funcionam anormalmente

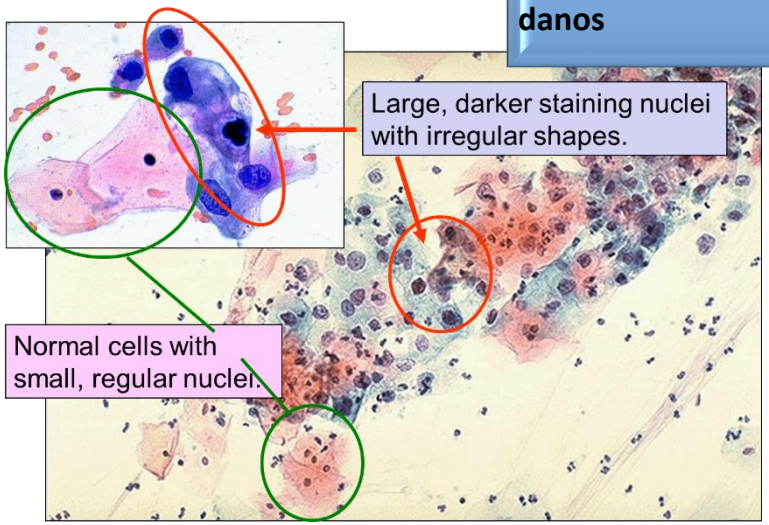
Perda do controlo do ciclo celular

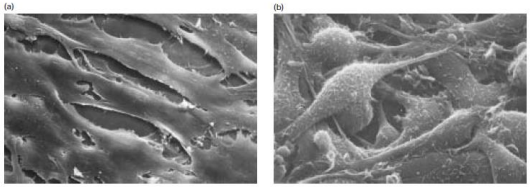
Falha nos checkpoints

Sem reparação de danos



A cancerous tumor forms when cell division gets out of control and cells do not undergo normal apoptosis





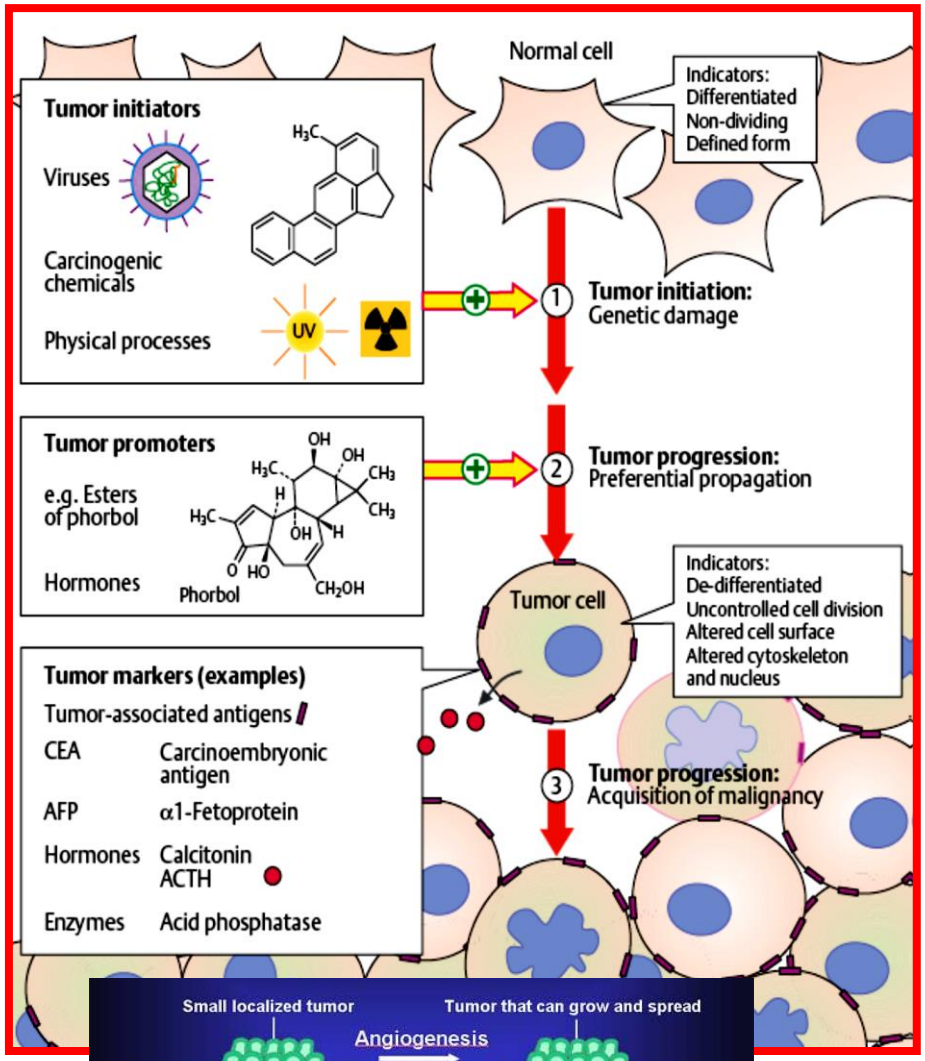
▲ **EXPERIMENTAL FIGURE 23-3** Scanning electron micrographs reveal the organizational and morphological differences between normal and transformed 3T3 cells. (a) Normal 3T3 cells are elongated and are aligned and closely packed in an orderly fashion. (b) 3T3 cells transformed by an oncogene encoded by Rous sarcoma virus are rounded and covered with small hairlike processes and bulbous projections. The transformed cells that grow have lost the side-by-side organization of the normal cells and grow one atop the other. These transformed cells have many of the same properties as malignant cells. Similar changes are seen in cells transfected with DNA from human cancers containing the *ras*^{D} oncogene. [Courtesy of L.-B. Chen.]

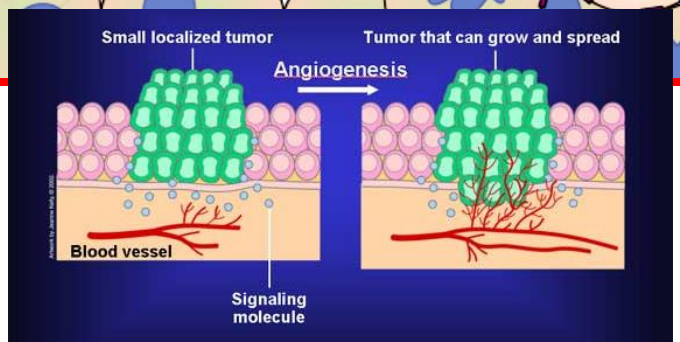
Cancer Cells Versus Normal Cells

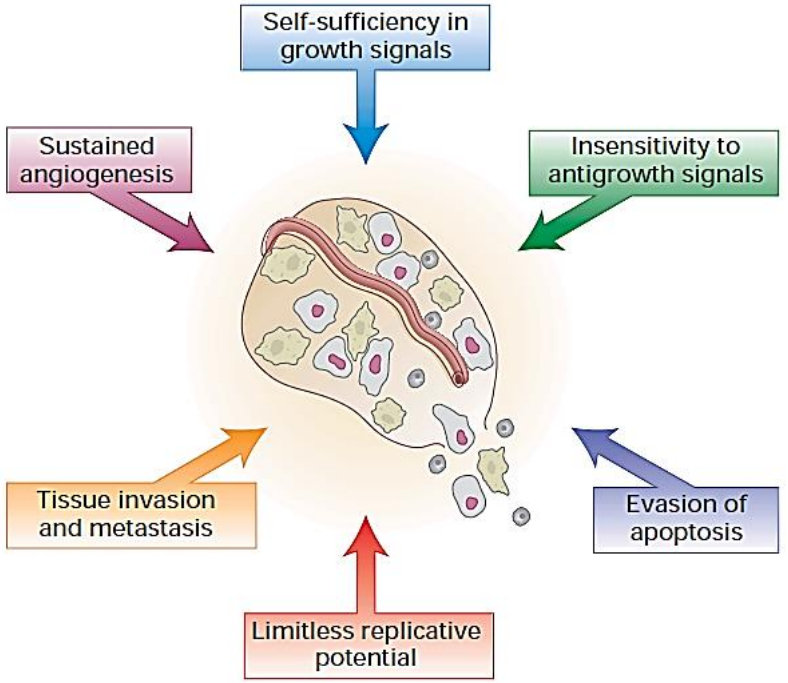
Cancer Cells	*Normal Cells*
Nondifferentiated cells	Differentiated cells
Abnormal nuclei	Normal nuclei
Do not undergo apoptosis	Undergo apoptosis
No contact inhibition	Contact inhibition
Disorganized, multilayered	One organized layer
Undergo metastasis and angiogenesis	

Dediferenciação

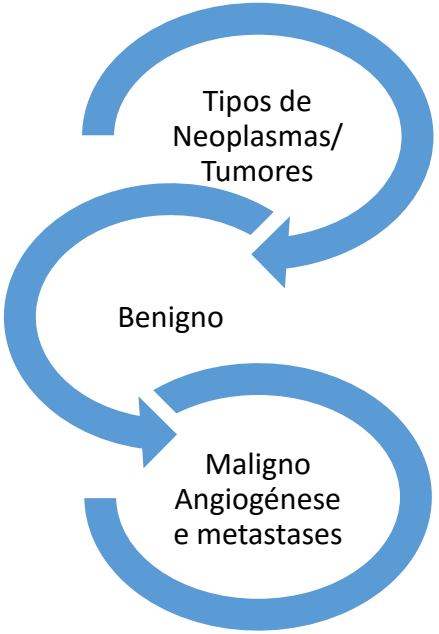
Mecanismo de transformação
Gradual pode levar anos





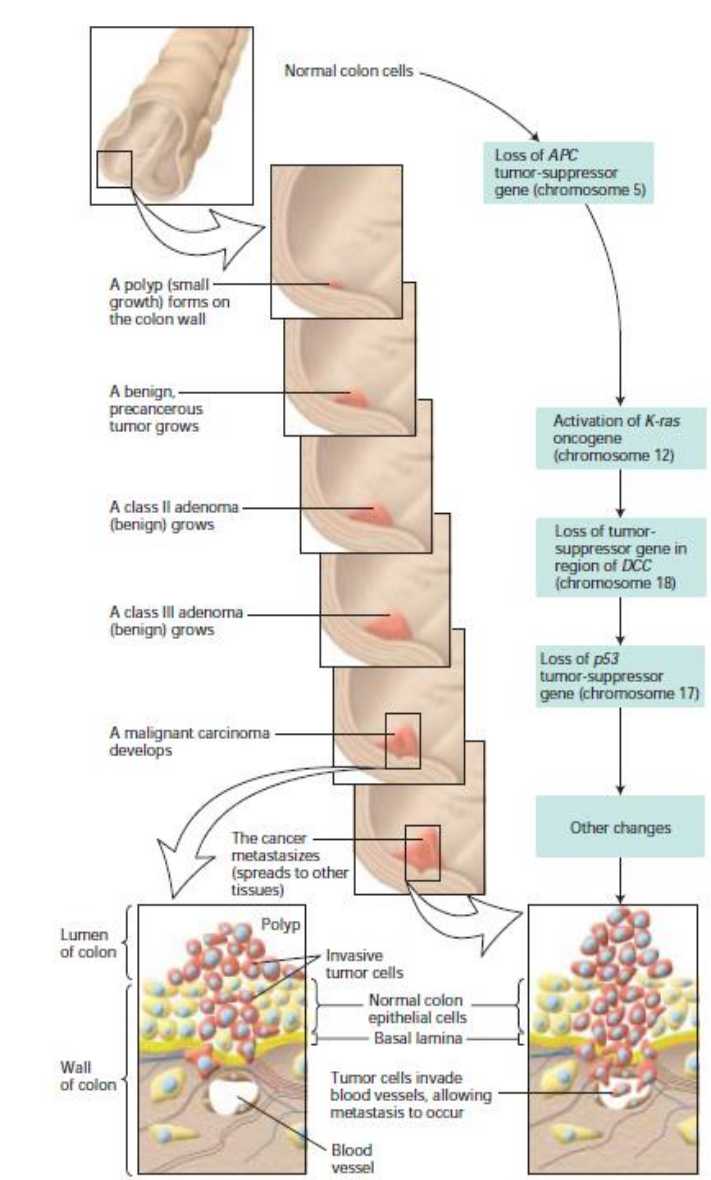


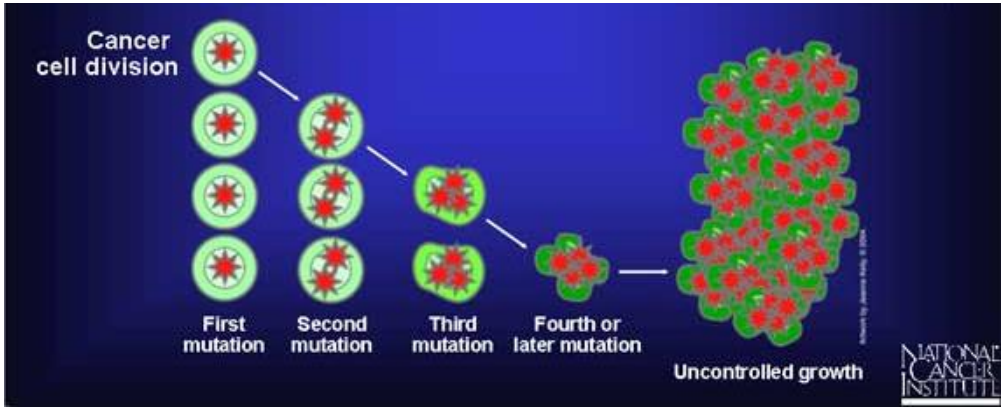
▲ **FIGURE 23-1 Overview of changes in cells that cause cancer.** During carcinogenesis, six fundamental cellular properties

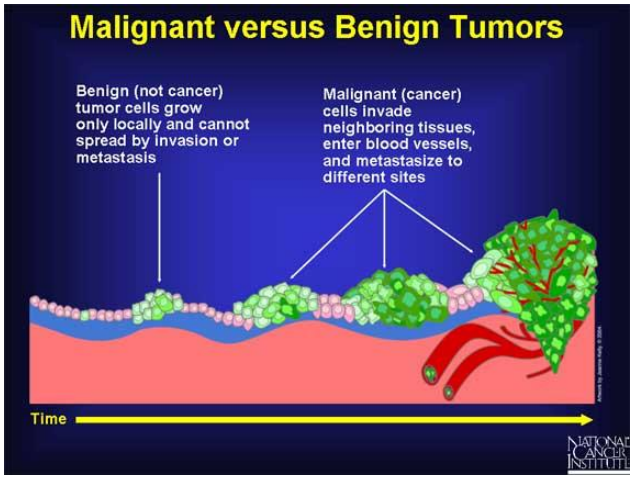


As mutações genéticas nas células causam a falha dos mecanismos de controle do ciclo celular

As células cancerígenas faltam sistema de reparação de DNA – grande número de mutações que se acumulam- multi hit model





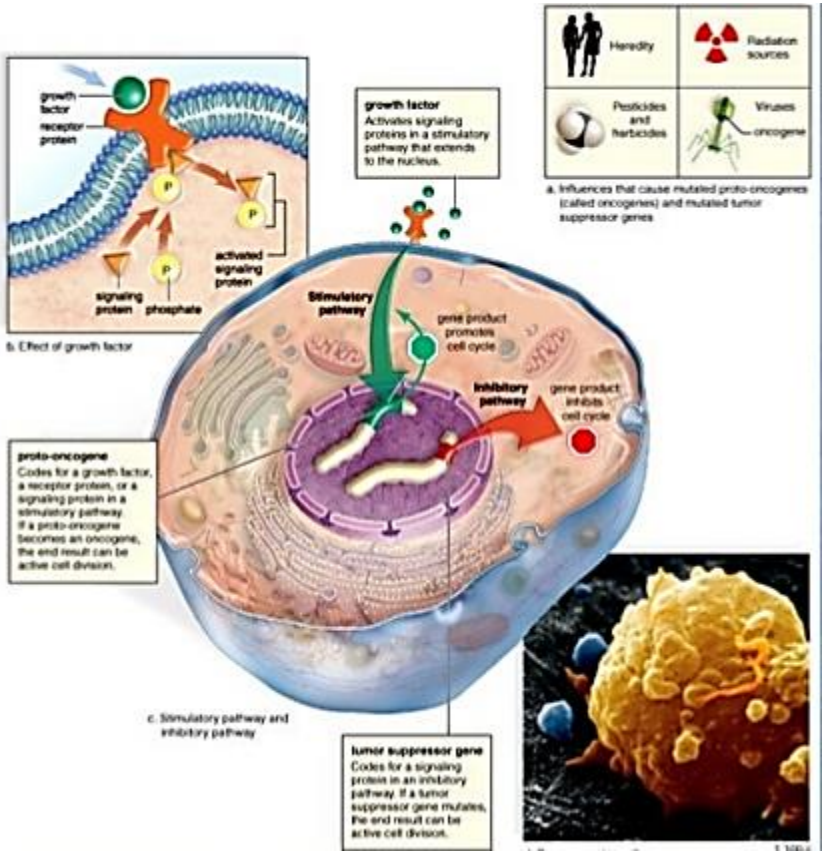


Benign versus malignant tumors. A benign glandular tumor and a malignant glandular tumor appear structurally distinct.
As células cancerígenas invadem tecidos escapando pela lamina basal que define os limites dos tecidos, espalham-se pelo corpo estabelecendo areas secundárias de crescimento- Metastases (secretam proteases que degradam a matrix extracelular circundante- MMPs de membrana)

As mutações que levam a metastases e angiogénese são ainda pouco conhecidas[6]

Mecanismo genético

indução do cancro
2 classes de genes que sofrem mutações



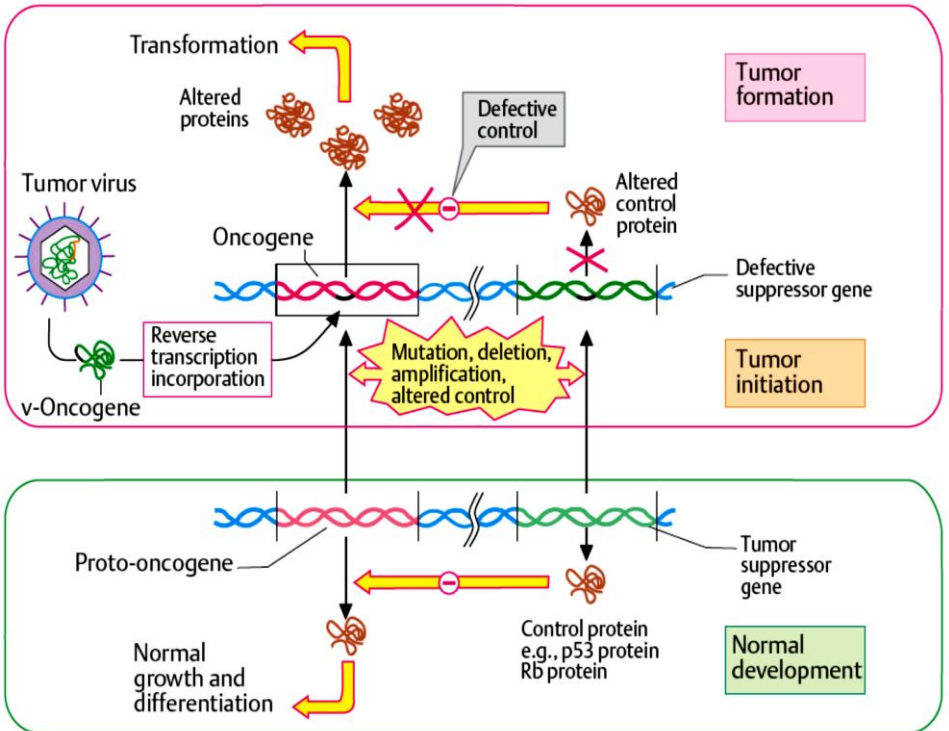
São genes de proteínas que ajudam a regular o crescimento da célula, a morte celular por apoptose ou em reparação de DNA danificado.

proto-oncogenes

- Proteínas de sinalização (ligandos)
- Receptores de sinais
- Proteinais de transdução de sinais
- Factores de transcrição
- Proteinas inibidoras da apoptose

genes supressores de tumores

- Proteinas apoptoticas
- Proteínas inibem proliferação celular
- Proteínas de reparação de DNA



Proto-oncogenes

- proteínas que ajudam a regular o crescimento, diferenciação ou transdução de sinais

Oncogenes

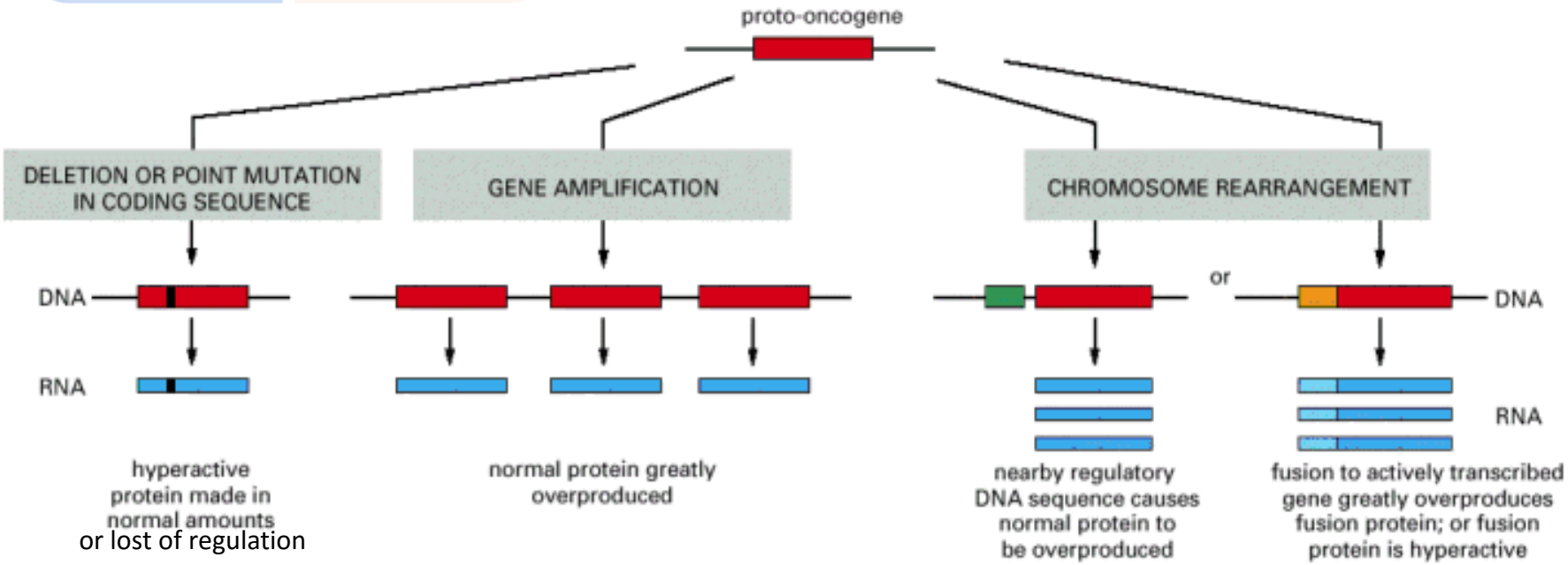
- proteínas oncogénicas estimulam as células a induzir o cancro

Gain-of-Function Mutations em proto-oncogenes

change in one allele will alter normal function

dominantes

Ex: myc, ras, src, abl, bcl2

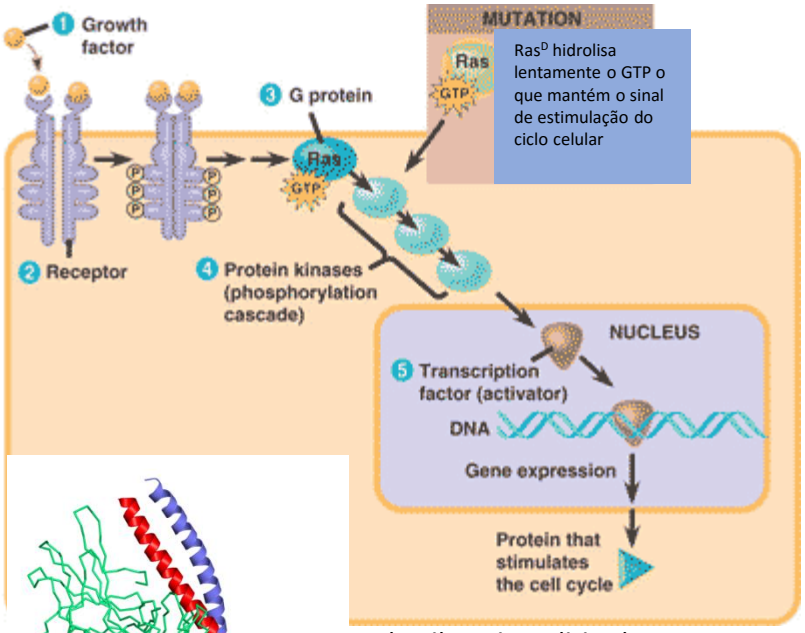


Schematic representation of three major types of genetic alterations leading to oncogene activation (bottom)
The proto-oncogene (top) is depicted as a regulatory sequence (RS) followed by the coding region (gene). In the first example, a star indicates the location of the nucleotide substitution on the transcribed portion of the gene. In the case of the translocation example, a different regulatory sequence becomes responsible for stimulating transcription of a resultant fusion protein. For the amplification example, the presence of multiple copies of the gene results in excessive expression (Adapted Kufe et al. 2003).

Three ways in which a proto-oncogene can be made <u>overactive</u> to convert it into an oncogene.

- **Mutações pontuais- resulta numa proteina produzida constitutivamente, mas que difere da proteína normal**

Mutações nos proto-oncogenes *ras*(proteína G transdução de sinal) comuns cerca de 20% to 30% tumores humanos- produz a proteína mutante Ras^D



- **Amplificação de genes- duplicação de um segmento de DNA que inclui o gene (ou a inserção de gene viral análogo) - superprodução da proteína**

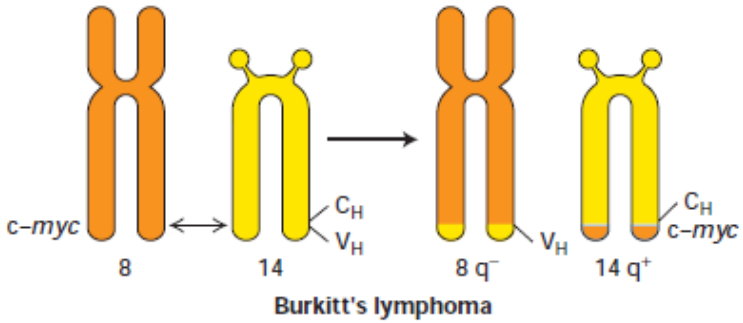
Proto-oncogene c-fos e c-jun (codifica factores de transcrição heterodímeros Fos-Jun-AP1- ou homodímeros Jun-Jun que estimulam a transcrição de genes de proteinas que promovem a progressão ao longo da fase G1) em alguns tumores estes são sobreexpressos

Fos(red) and Jun(blue) protein bound to DNA forming AP-1 transcription factor- c-jun and c-fos are proto-oncogenes

- **Translocação de cromossoma- põe o gene sobre controle de outro promotor**
proteína com expressão alterada ou superprodução da proteína

Proto-oncogene c-myc(codifica factor de transcrição que estimula a transcrição de genes de proteinas que promovem a transição entre a fase G1 a S)

Also bcl-2 oncogene is activated as a consequence of the t(14;18) chromosomal translocation in human follicular lymphomas- anti-apoptotic



▲ **FIGURE 23-19 Chromosomal translocation in Burkitt's lymphoma.** As a result of a translocation between chromosomes 8 and 14, the c-*myc* gene is placed adjacent to the gene for part of the antibody heavy chain (C_H), leading to overproduction of the Myc transcription factor in lymphocytes and hence their growth into a lymphoma.

Loss-of-Function Mutations in genes supressores de tumores

Genes supressores de tumores

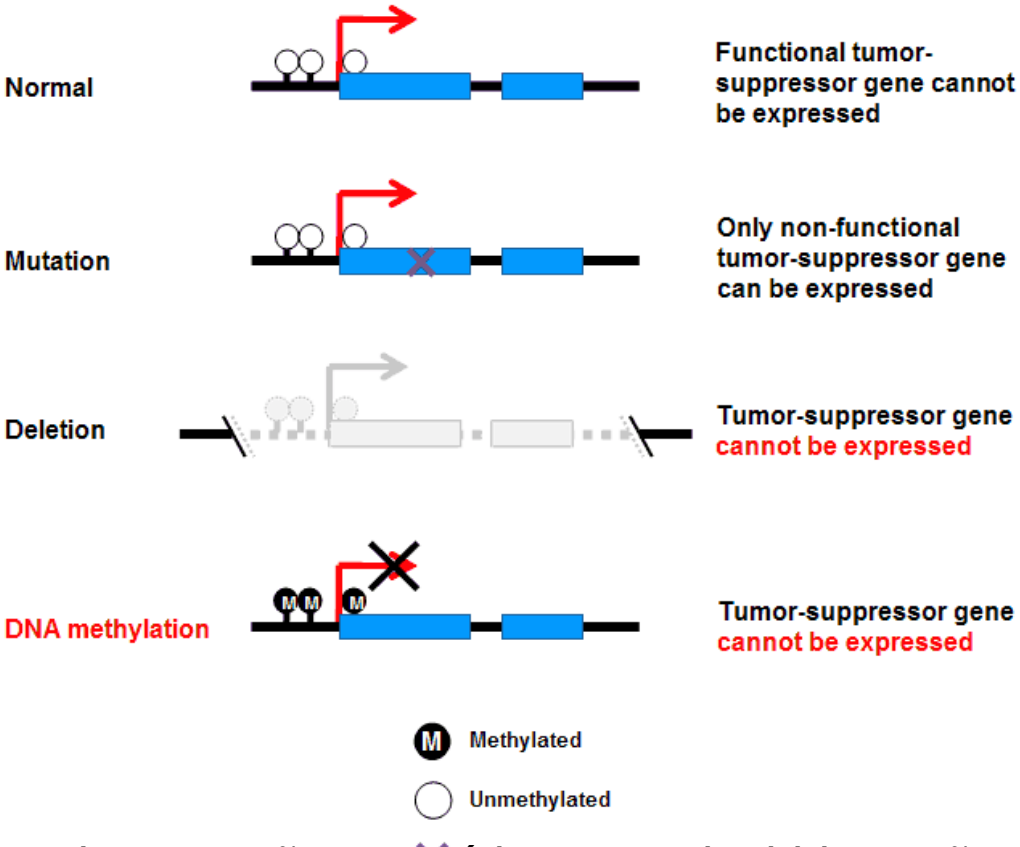
- proteínas inibidoras de CDks- mecanismos de paragem do ciclo celular

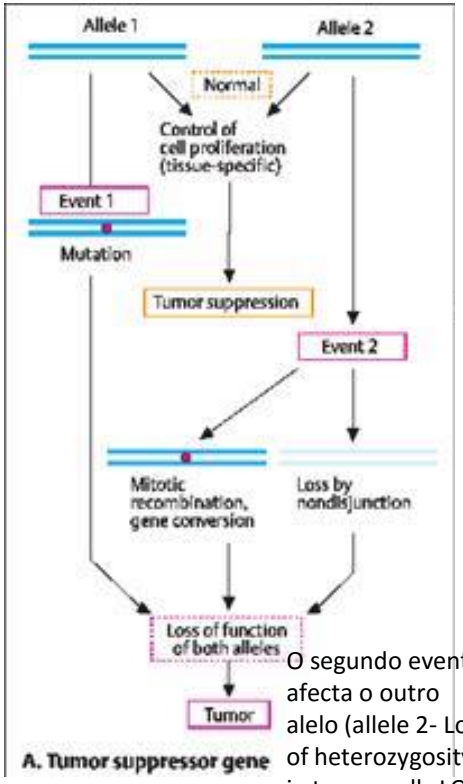
Mutações

- Perda de função

Recessivas
changes in both alleles will inhibit normal function

Ex: p53, Rb, APC, MEN1, NF1



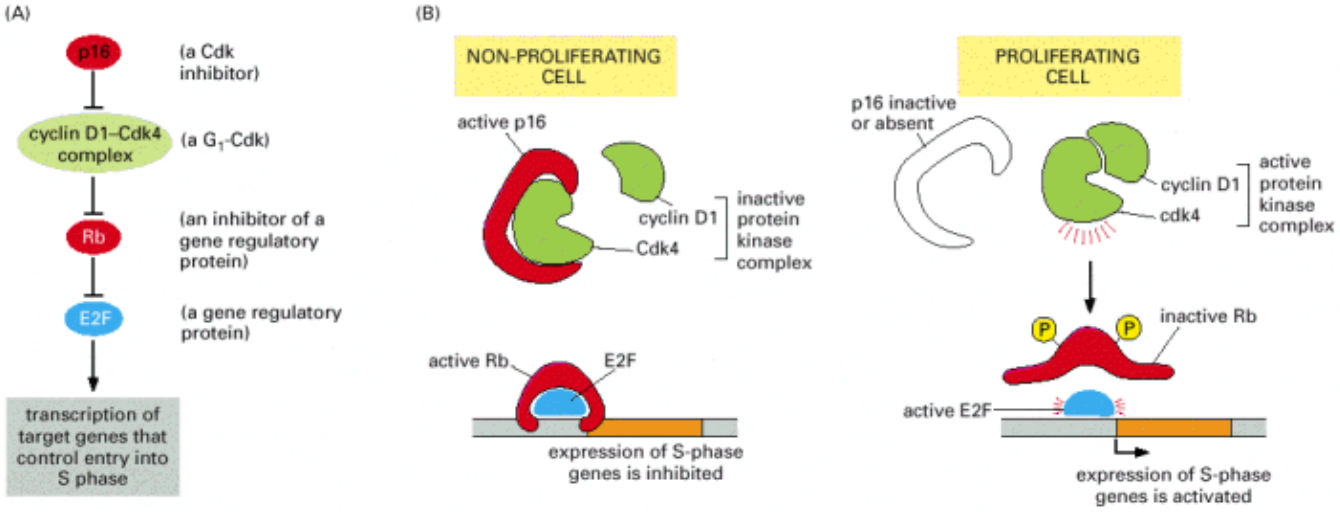


O segundo evento afecta o outro alelo (allele 2- Loss of heterozygosity in tumor cells LOH)

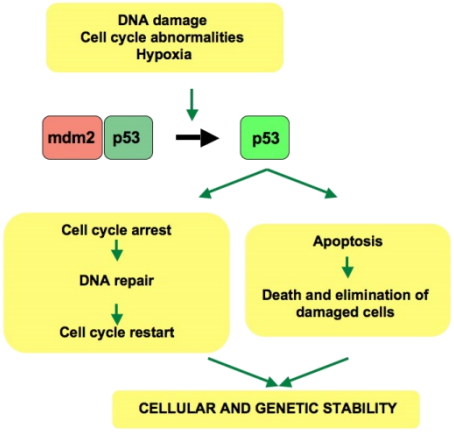
- Mutações pontuais- Mutações somáticas ou adquiridas –são mais comuns e devidas ao ambiente (predisposição aumenta com a idade)
- Delecções
- Metilação dos resíduos de citosina no promotor ou elementos de controle

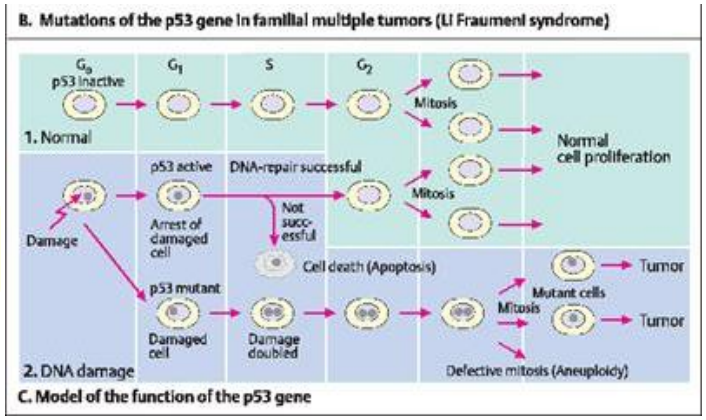
- **Proteinas intracelulares que regulam ou inibem a progressão numa fase do ciclo (p16 e pRb)**

Glioblastomas e cancros de mama: aumentada a expressão dos genes Cdk4 ou ciclina D1 (gain of function) e/ou delecção ou inactivação de p16 por metilação do DNA regulador (loss of function) e deste modo têm favorecida a proliferação celular (fase S)



- **Controle do ciclo celular e da apoptose (p53)**





Proteína supressora de tumor p53 é codificada pelo gene *TP53*.
Está em baixa concentração na célula normal

Para supressão de tumor:Liga-se a sequencias de DNA e regula a expressão de genes reguladores envolvidos no crescimento.
Controla a entrada na fase S- no ponto de regulação do ciclo celular G2/S por reconhecimento do DNA danificado- estimula a produção de p21 uma CKI
Interage com outras proteínas em resposta a DNA danificado estimulando a apoptose e enzima de reparação
Em células cancerígenas há falta de p53 faz com que cromossomas fiquem fragmentados (loss of function mutation ou mdm2 gain of function)

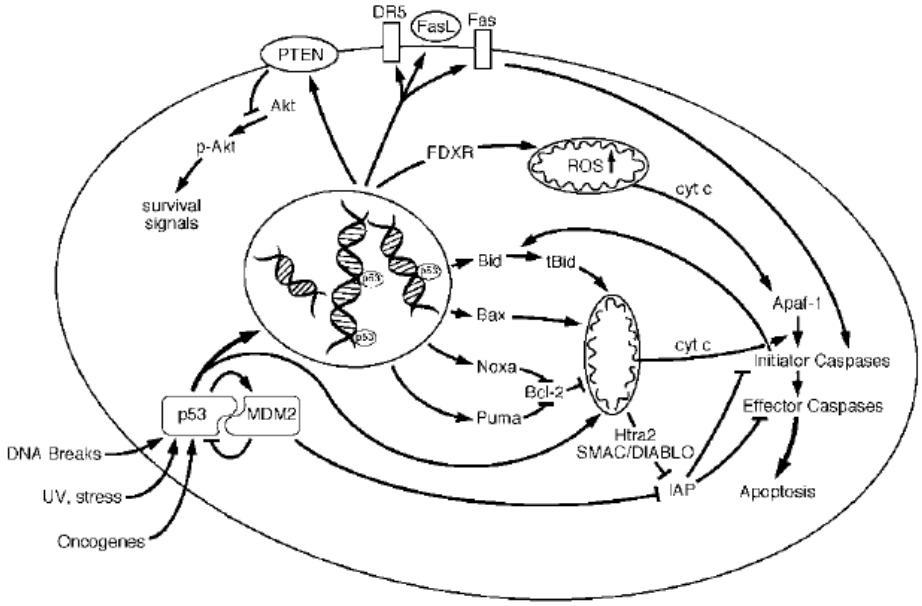
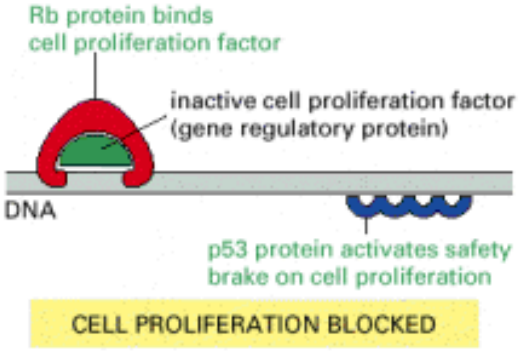
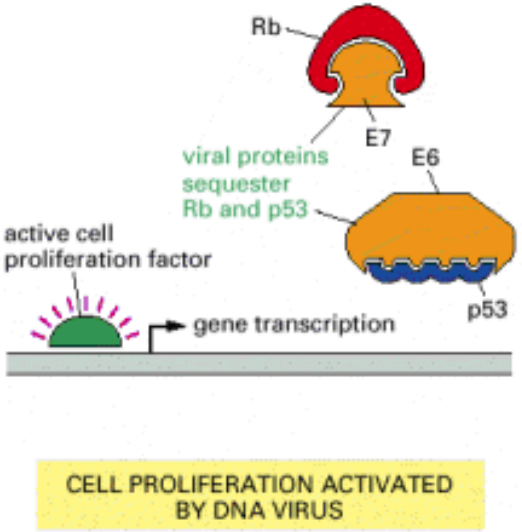


Figure 1 A model for p53-induced apoptosis by simultaneous targeting of distinct points in the apoptotic network.

- **DNA de virus cancerígenos**

Nos papiloma virus humano os oncogenes virais *E6* e *E7* interagem ligando-se às proteinas codificadas por dois genes supressores de tumores *:* gene RB1 forma proteína *p*Rb (co-repressor) que é inactivada pela proteína viral E7 p53 ligada à proteína viral E6 é eliminada por ubiquitinação





TERAPIAS

exploram a instabilidade genética das células cancerígenas: expressão de telomerase e perda de reparação do DNA

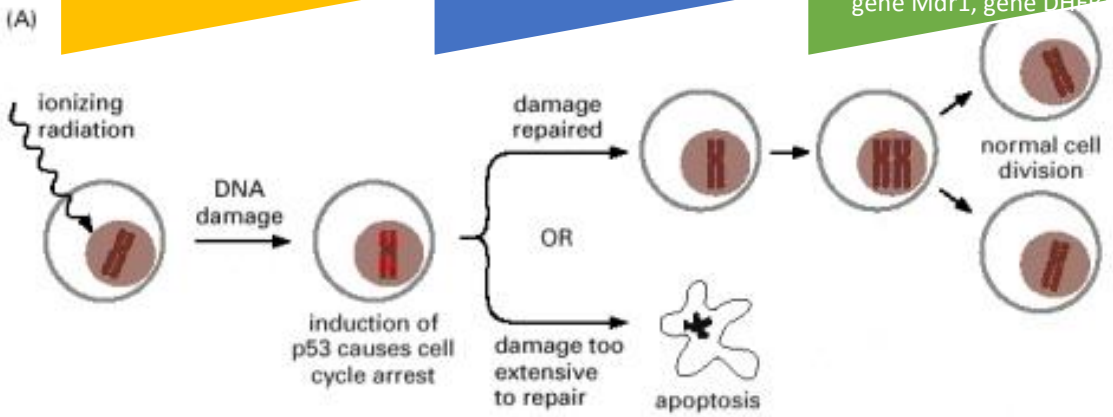
PREVENÇÃO

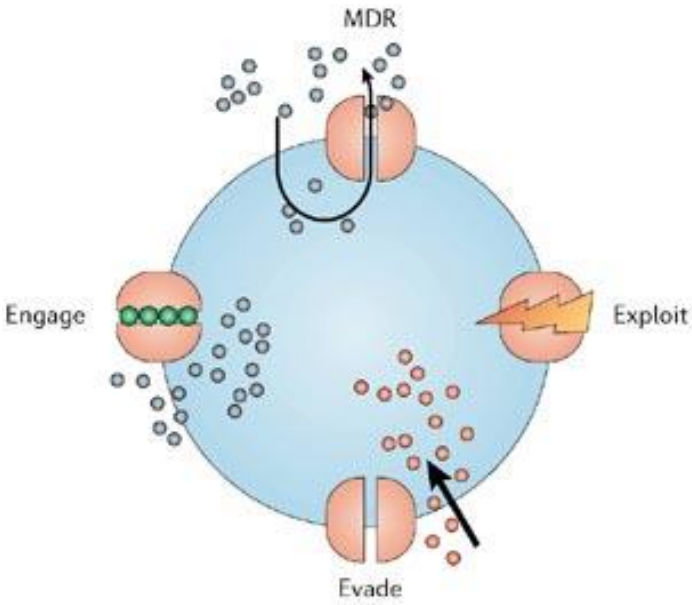
DETECÇÃO PRECOCE

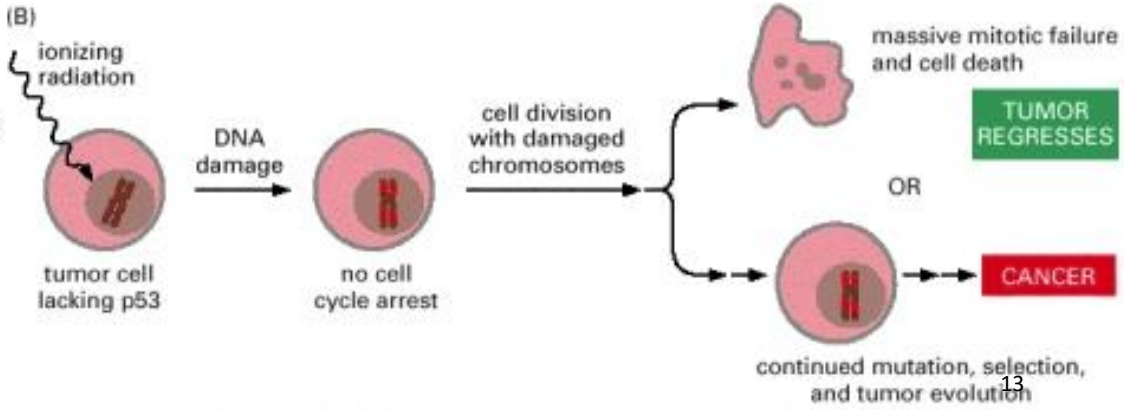
REMOÇÃO CIRURGICA

RADIAÇÃO IONIZANTE

TERAPIA CITOTÓXICA:
resistência células são heterogéneas e mutações sucessivas, multidrug resitance (amplificação do gene Mdr1, gene DHFR)





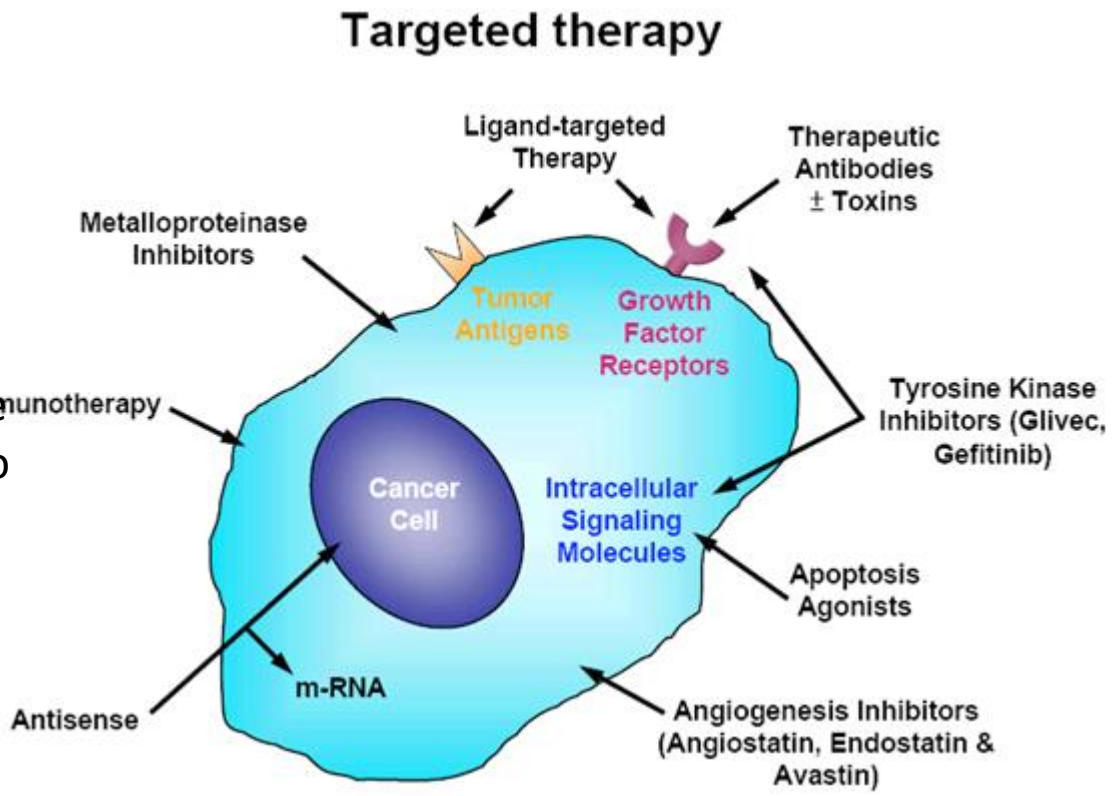


NOVAS TERAPIAS

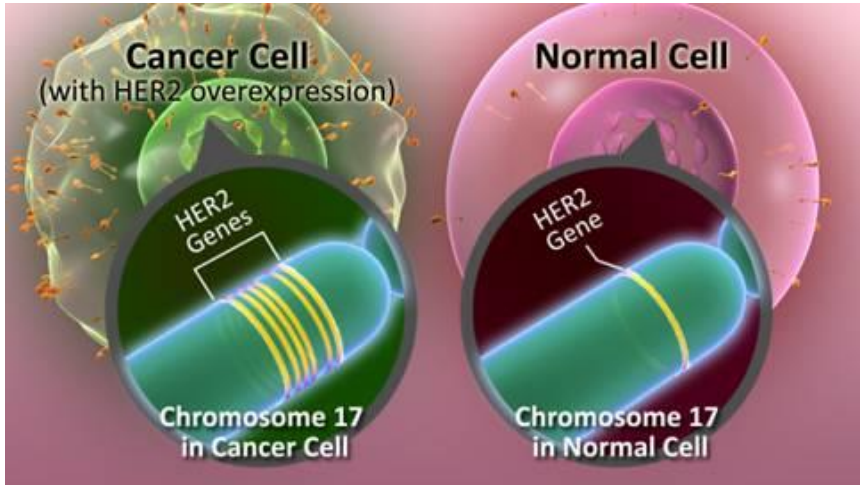
Conhecimento molecular do cancro e da sua progressão- tornando como alvo os defeitos

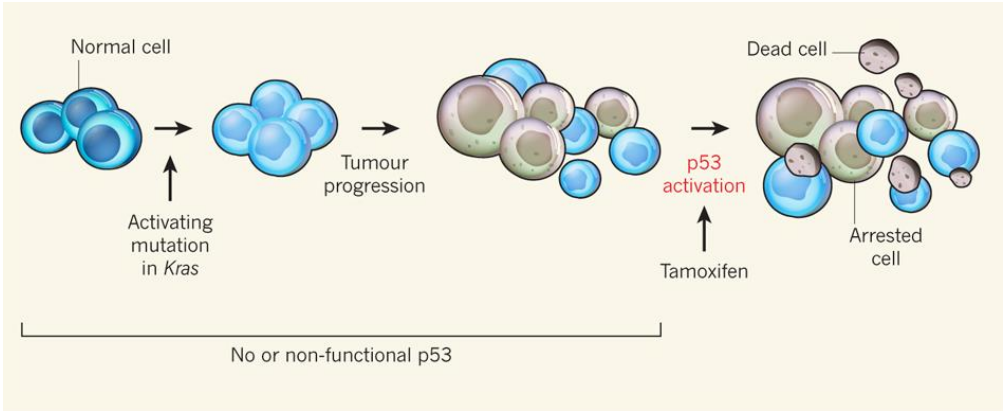
- Bloqueio de sinais de estimulação de crescimento
- Estimulam o sistema imune
- Entrega de drogas tóxicas a células cancerígenas

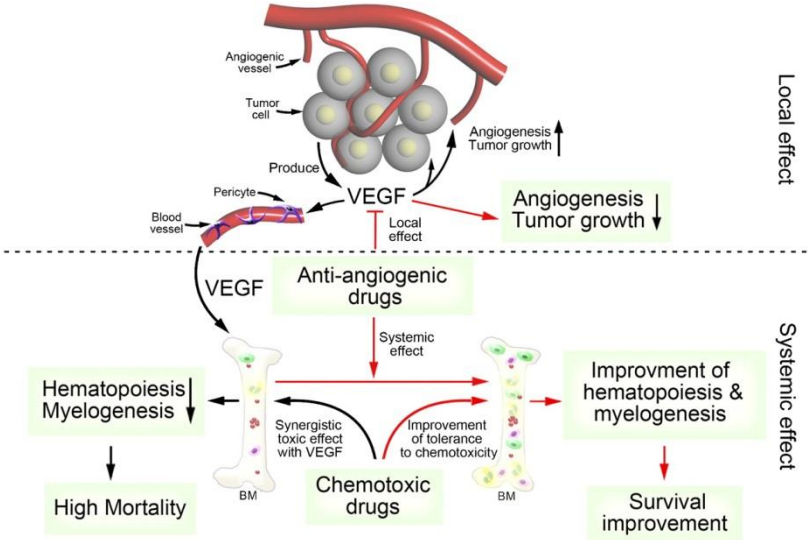
- Agente que bloqueia uma proteína que as células são altamente dependentes- anticorpo monoclonal que inibe a proteína ou activa uma resposta imune
- Activação de p53 nas células cancerígenas estimula a apoptose
- Agentes antiangiogénicos: inibição da formação dos vasos sanguineos do tumor



HER2 epidermal growth factor receptor family Herceptin® (trastuzumab) is a monoclonal antibody that binds to HER2. This prevents the receptor from activating the pathways that promote the proliferation and survival of breast cancer cells.

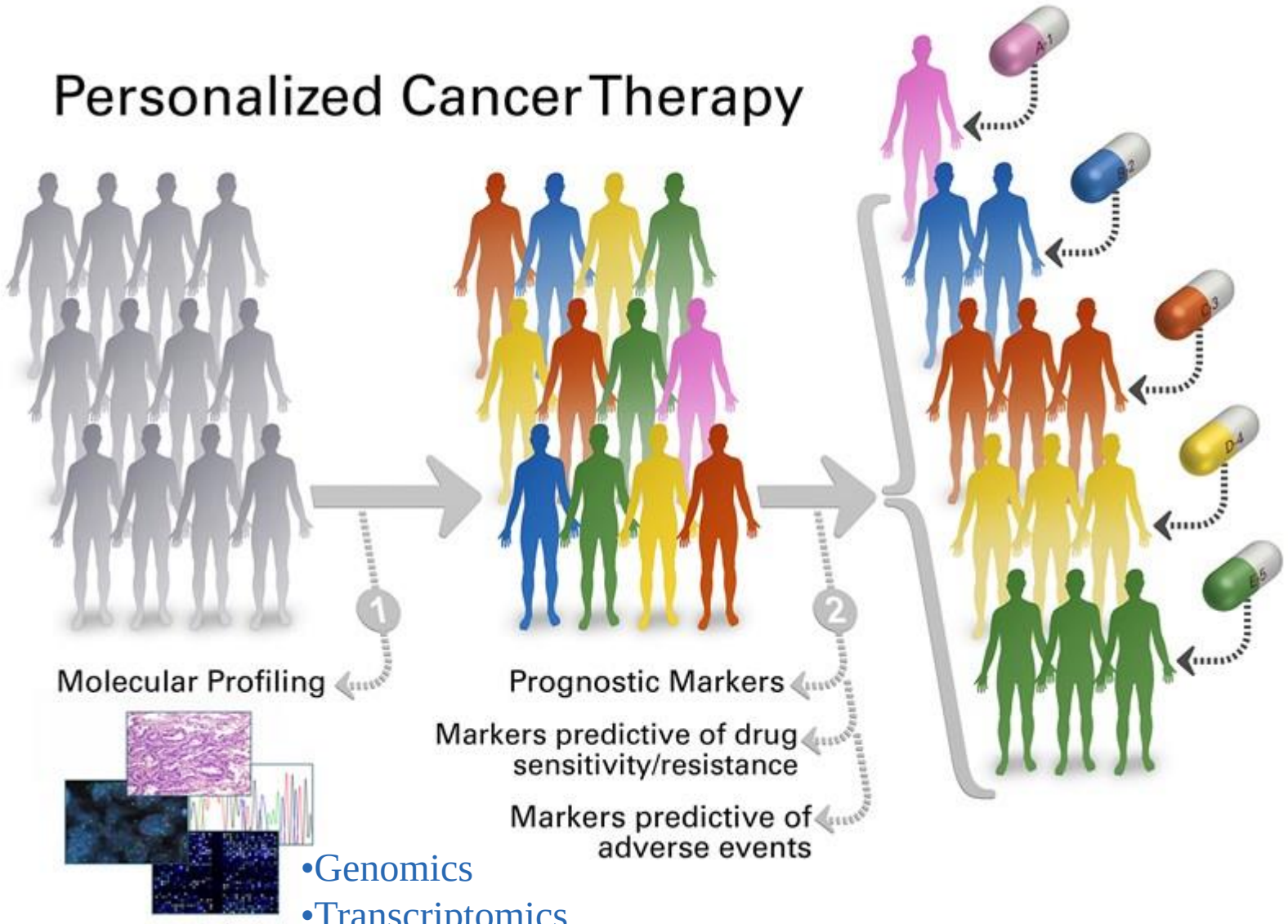






Schematic diagram of mechanisms underlying antiangiogenic and cytostatic drugs. Antiangiogenic agents significantly improve survival in tumor-bearing mice by increasing tolerance to chemotherapy-induced toxicity

Feldser *et al*.[1] and Junttila *et al*.[2] studied mouse models of non-small-cell lung cancer (NSCLC) characterized by oncogenic mutation of *Kras* to investigate what happens in the absence of p53. They find that, without p53, tumours could progress even if the oncogenic stress level increased above threshold level and the tumour-suppressor protein $p19^{Arf}$ was activated. When the authors restored p53 function with tamoxifen, tumour cells with an increased oncogenic flux were either arrested or killed. Less advanced lesions were unaffected, however, probably because their oncogenic flux remained below the threshold level. The authors did not detect DNA-damage response, indicating that, at least in their models, it does not contribute to p53 activation.



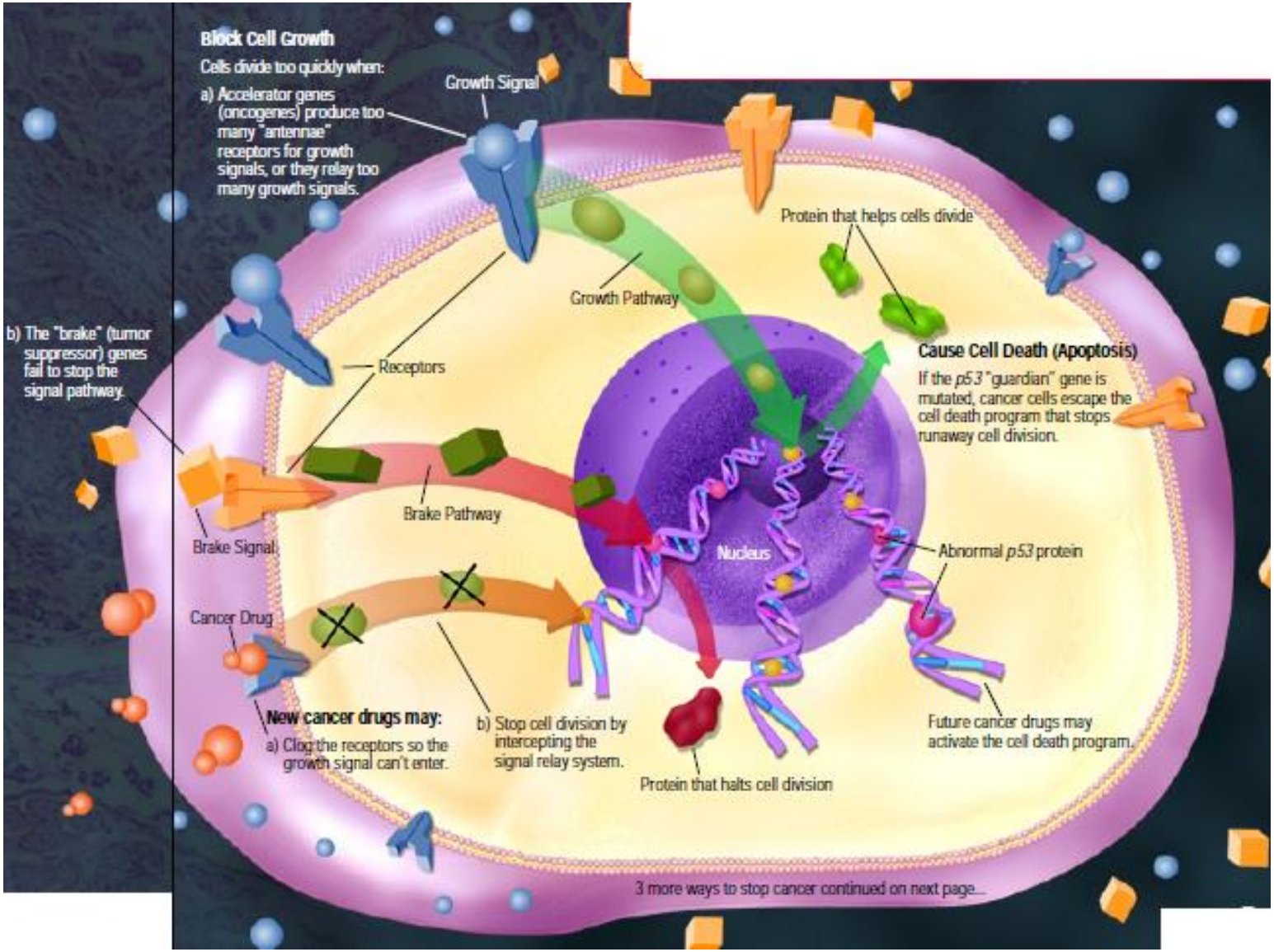
- Genomics
- Transcriptomics
- Proteomics
- Metabolomics

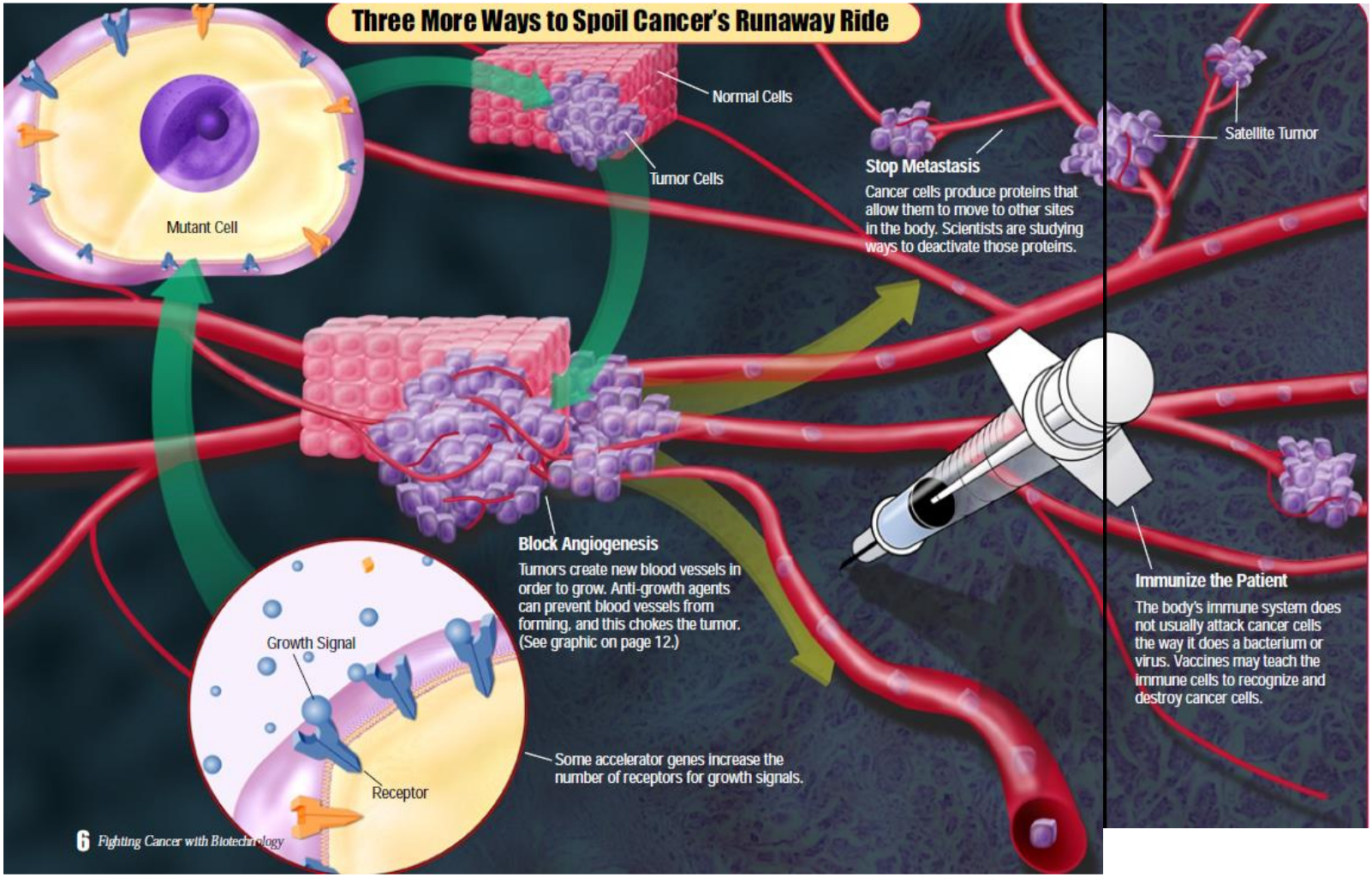
Bibliografia:

- H. Lodish, A. Berk, C.A. Kaiser, M. Krieger, M.P. Scott, A. Bretscher, H. Ploegh, P. Matsudaira, *Molecular Cell Biology*, 6th ed., W.H. Freeman & Co, 2008.

- B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter, *Molecular Biology of the Cell*, 4th ed., Garland Science, 2002.

As células cancerígenas diferem no controle do crescimento, morfologia, interacções célula a célula, propriedades das membranas, estrutura do citoesqueleto, secrecção de proteinas e expressão de genes.




Three More Ways to Spoil Cancer's Runaway Ride
Normal Cells
Tumor Cells
Mutant Cell
Stop Metastasis
Cancer cells produce proteins that allow them to move to other sites in the body. Scientists are studying ways to deactivate those proteins.
Satellite Tumor
Block Angiogenesis
Tumors create new blood vessels in order to grow. Anti-growth agents can prevent blood vessels from forming, and this chokes the tumor. (See graphic on page 12.)
Immunize the Patient
The body's immune system does not usually attack cancer cells the way it does a bacterium or virus. Vaccines may teach the immune cells to recognize and destroy cancer cells.
Growth Signal
Receptor
Some accelerator genes increase the number of receptors for growth signals.