



ΔΗΜΟΚΡΙΤΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΡΑΚΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Διατμηματικό Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών
«Κλινική Φαρμακολογία και Θεραπευτική»

Διπλωματική εργασία

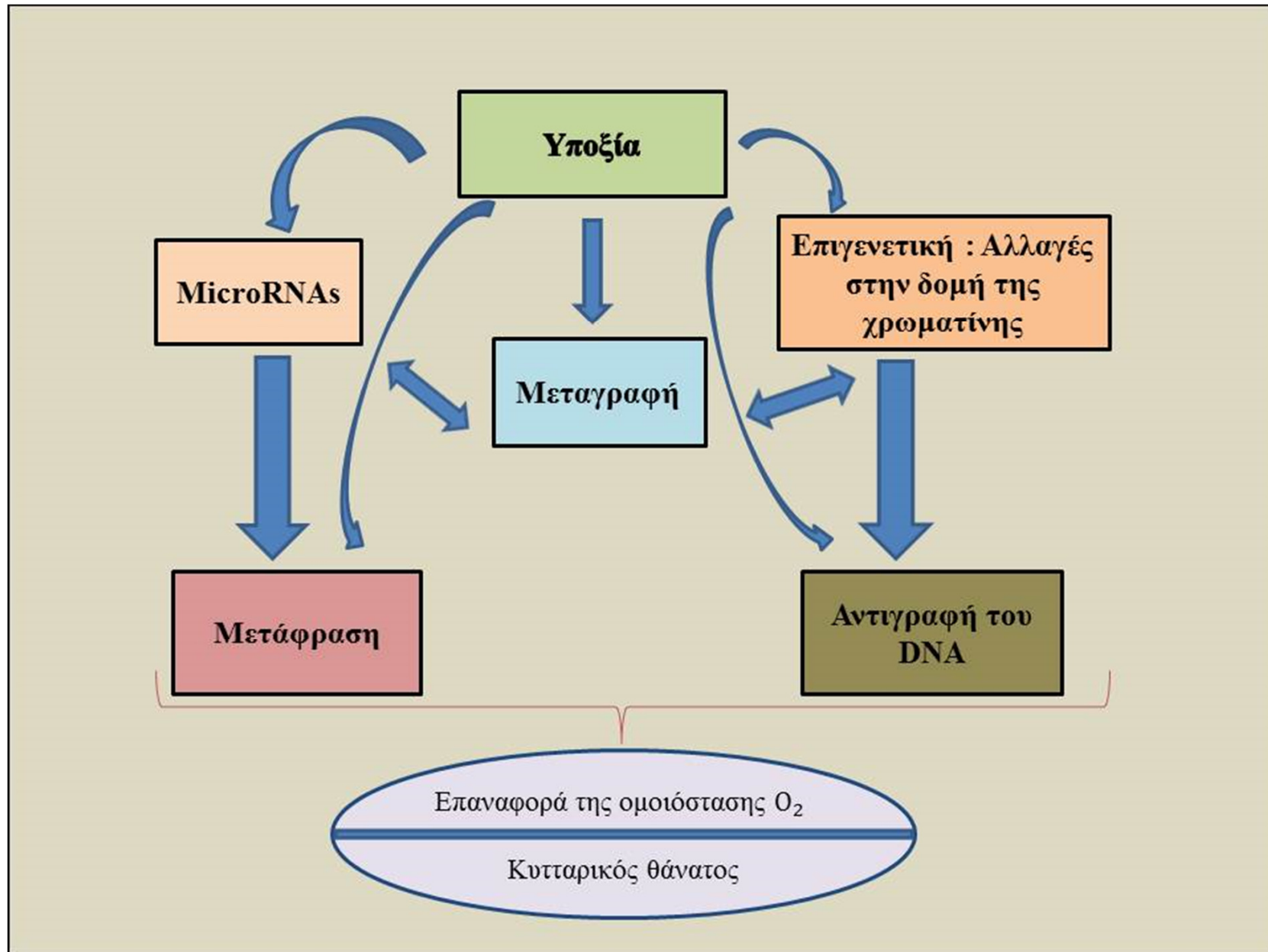
**ΤΟ ΣΗΜΑΤΟΔΟΤΙΚΟ ΜΟΝΟΠΑΤΙ ΤΟΥ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ
HIF-1 ΩΣ ΣΤΟΧΟΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΝΕΩΝ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΩΝ
ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΩΝ ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ**

Ευστάθιος-Ιάσων Βλαχάβας

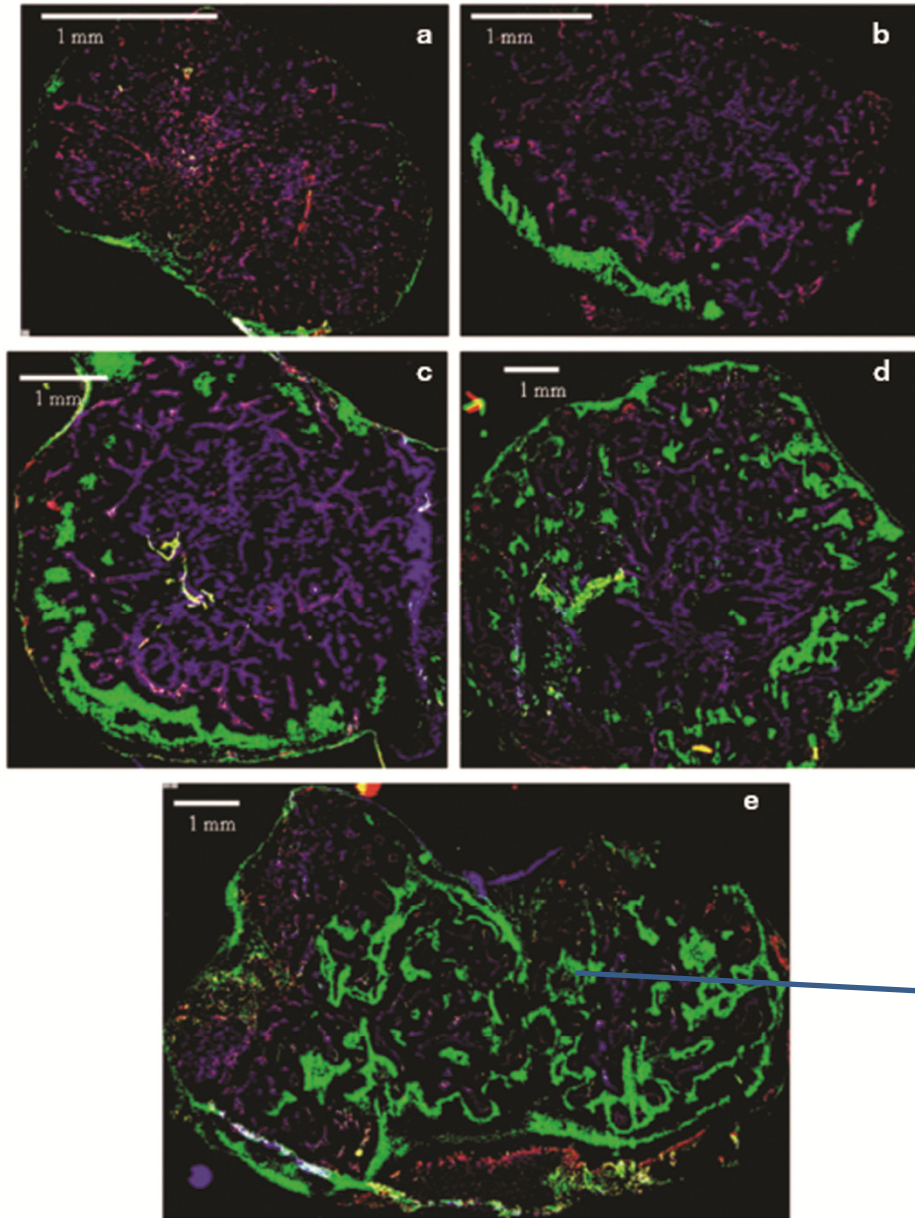
Επιβλέπων: Επίκουρος Καθηγητής Γαλάνης Αλέξιος, ΜΒΓ, ΔΠΘ

Αλεξανδρούπολη
2014

Η υποξία επάγει μια πλειοτροπική αλλαγή στην γονιδιακή έκφραση



Η εμφάνιση υποξίας αποτελεί ένα βασικό χαρακτηριστικό των περισσότερων συμπαγών όγκων



➤ Η αναπτυσσόμενη υποξία στο εσωτερικό των περισσότερων συμπαγών όγκων



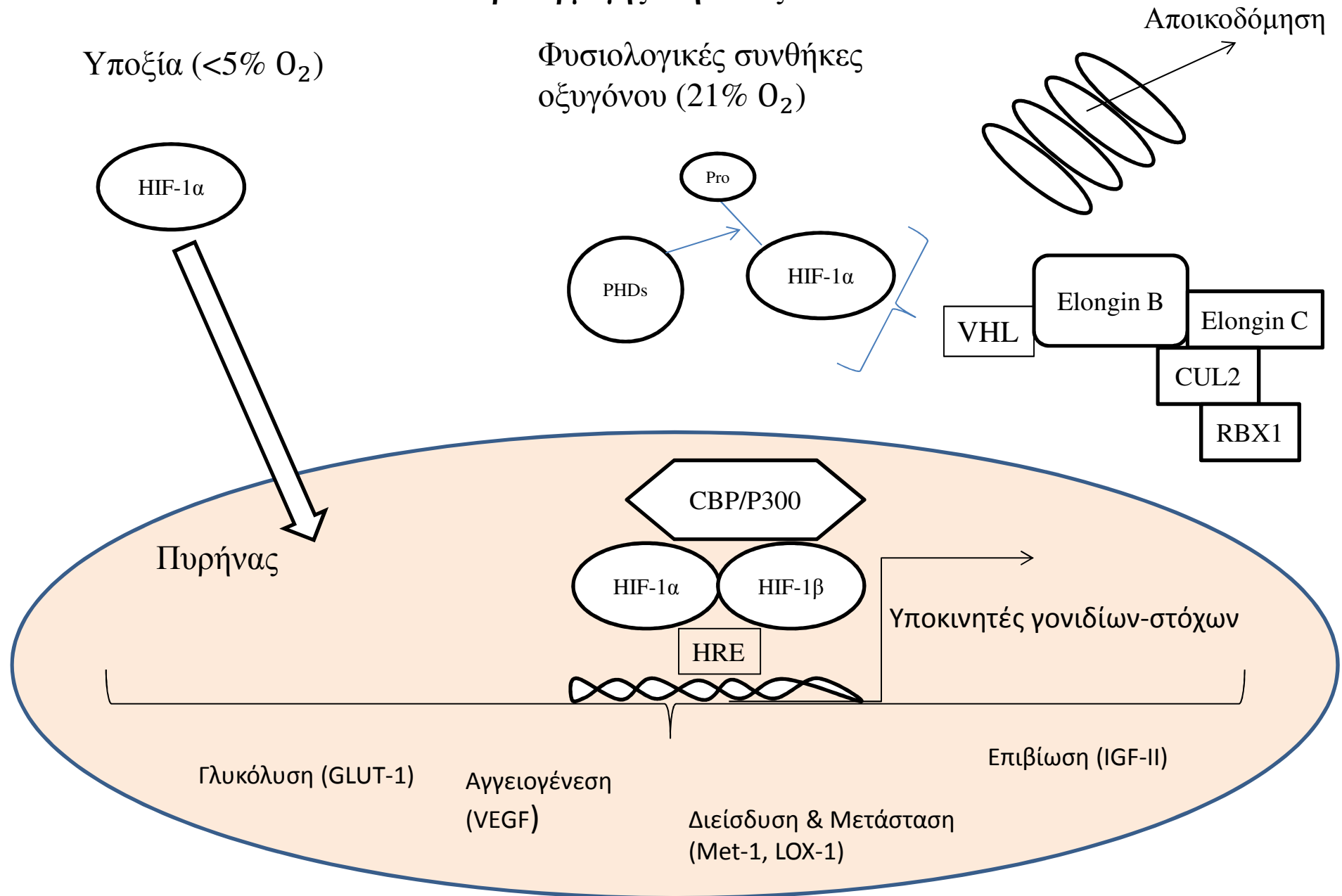
Ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων



Σχηματισμό μη λειτουργικών και δομικά μη φυσιολογικών αιμοφόρων αγγείων

Αυξημένη υποξία ανιχνεύεται σε αυξημένο μέγεθος όγκων (Hendriksen *et al.*, 2009)

Ο μεταγραφικός παράγοντας HIF-1, αποτελεί τον κύριο ρυθμιστή της κυτταρικής προσαρμογής στην υποξία



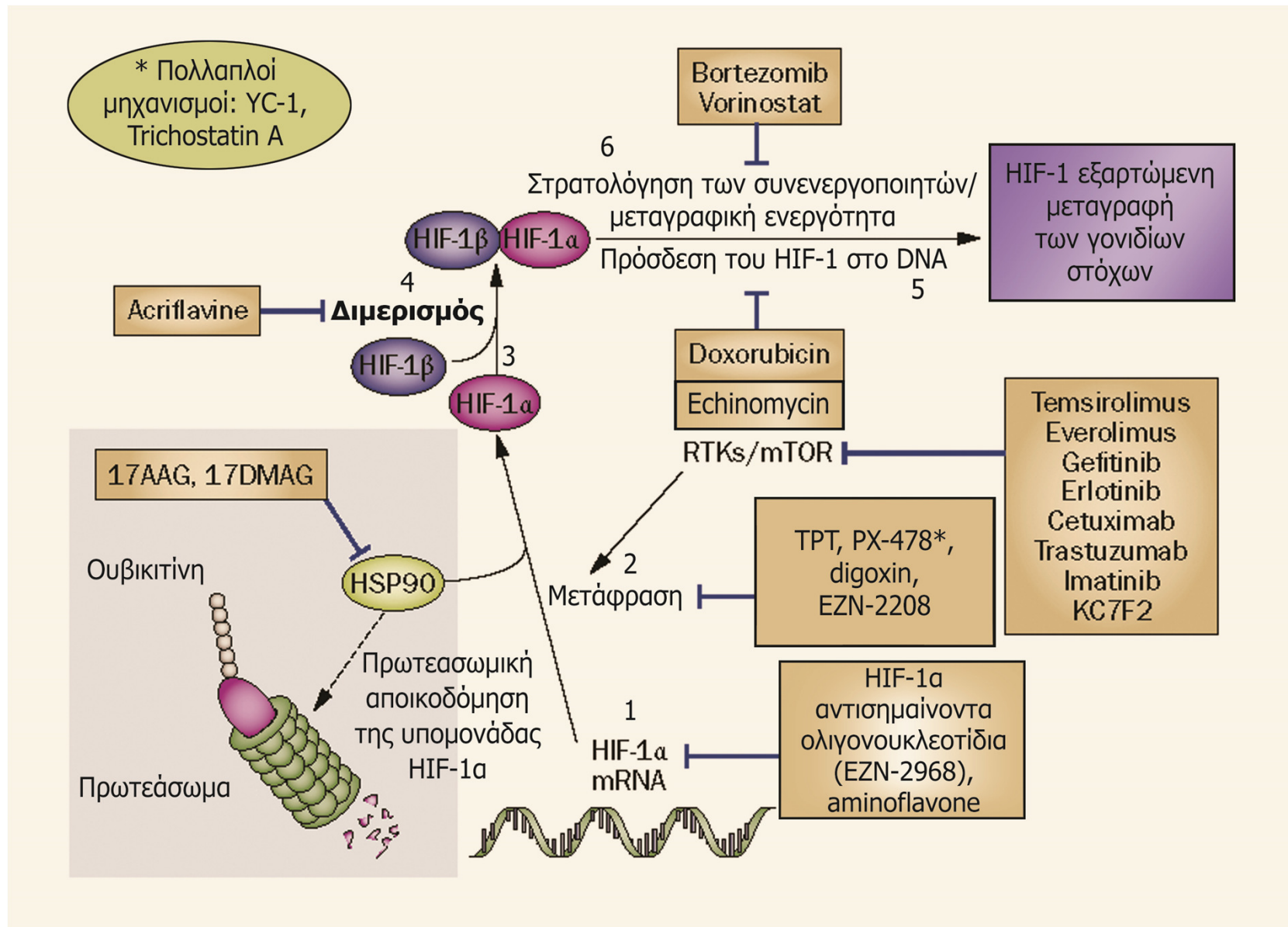
Σκοπός Διπλωματικής Εργασίας

- Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι εκτεταμένη ανασκόπηση της βιολογίας του σηματοδοτικού μονοπατιού του παράγοντα HIF-1, και πώς αυτό μπορεί να αξιοποιηθεί ουσιαστικά για την ανάπτυξη νέων αντικαρκινικών θεραπειών. Αναλυτικότερα :
 - I. Θα πραγματοποιηθεί μια εκτεταμένη ανάλυση της ρύθμισης του μεταγραφικού παράγοντα HIF-1 μέσω της υπομονάδας HIF-1α, τόσο σε μεταφραστικό όσο και σε μετα-μεταφραστικό επίπεδο
 - II. Εν συνεχεία, θα μελετηθεί ο ρόλος του HIF-1 στην παθογένεια του καρκίνου και η συσχέτισή του με την πρόοδο της ογκογένεσης
 - III. Θα ακολουθήσει αναλυτική ανασκόπηση και αξιολόγηση των υπαρχόντων HIF-1 αναστολέων και το πώς μπορούν να αξιοποιηθούν κατάλληλα με τις υπάρχουσες αντικαρκινικές θεραπείες
 - IV. Εξαγωγή συμπερασμάτων και πρόταση μελλοντικών θεραπευτικών εφαρμογών

Υλικά & Μέθοδοι (Μεθοδολογία)

- Αρχικά έλαβε χώρα η έρευνα στο PubMed με βάσει όρους όπως : **‘hypoxia’, ‘HIF-1 α subunit’, ‘HIF-1 transcriptional factor’, ‘HIF-1 inhibitors’, ‘HIF-1 and cancer’**.
- Εν συνεχεία, αξιοποιώντας το advanced search στο NCBI (Pubmed->PMC Advanced Search Builder) πραγματοποιήθηκε πιο εκτεταμένη και εξειδικευμένη αναζήτηση και με βάσει τα προηγούμενα αποτελέσματα, βάσει των κάτωθι φράσεων και προτάσεων : **‘HIF-1 inhibitors and cancer therapy’, ‘HIF-1 α subunit and novel anticancer therapeutics’, ‘Antiangiogenic agents and hypoxia’, ‘Antiangiogenic agents and HIF-1 inhibitors’**.
- Επιπρόσθετα, συμπληρωματικό επιστημονικό υλικό αξιοποιήθηκε από τις ιστοσελίδες <http://www.clinicaltrials.gov/>, από το εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου (NCI) <http://www.cancer.gov/> (<http://www.cancer.gov/cancertopics/factsheet/Therapy/angiogenesis-inhibitors>)
- Οι διάφορες εικόνες σχεδιάστηκαν με βάση τα προγράμματα μοριακών γραφικών PyMol & Chimera UCSF
- Τέλος, άλλα in silico υπολογιστικά δεδομένα αντλήθηκαν από τον server πρωτεϊνικής σταθερότητας CUPSAT (<http://cupsat.tu-bs.de/>) και το εργαλείο πρωτεϊνικής ανάλυσης PoPMuSiCv2.1 (<http://babylone.ulb.ac.be/popmusic/index.php>).

Στάδια στόχευσης της HIF-1α υπομονάδας από τους διάφορους μικρο-μοριακούς αναστολείς

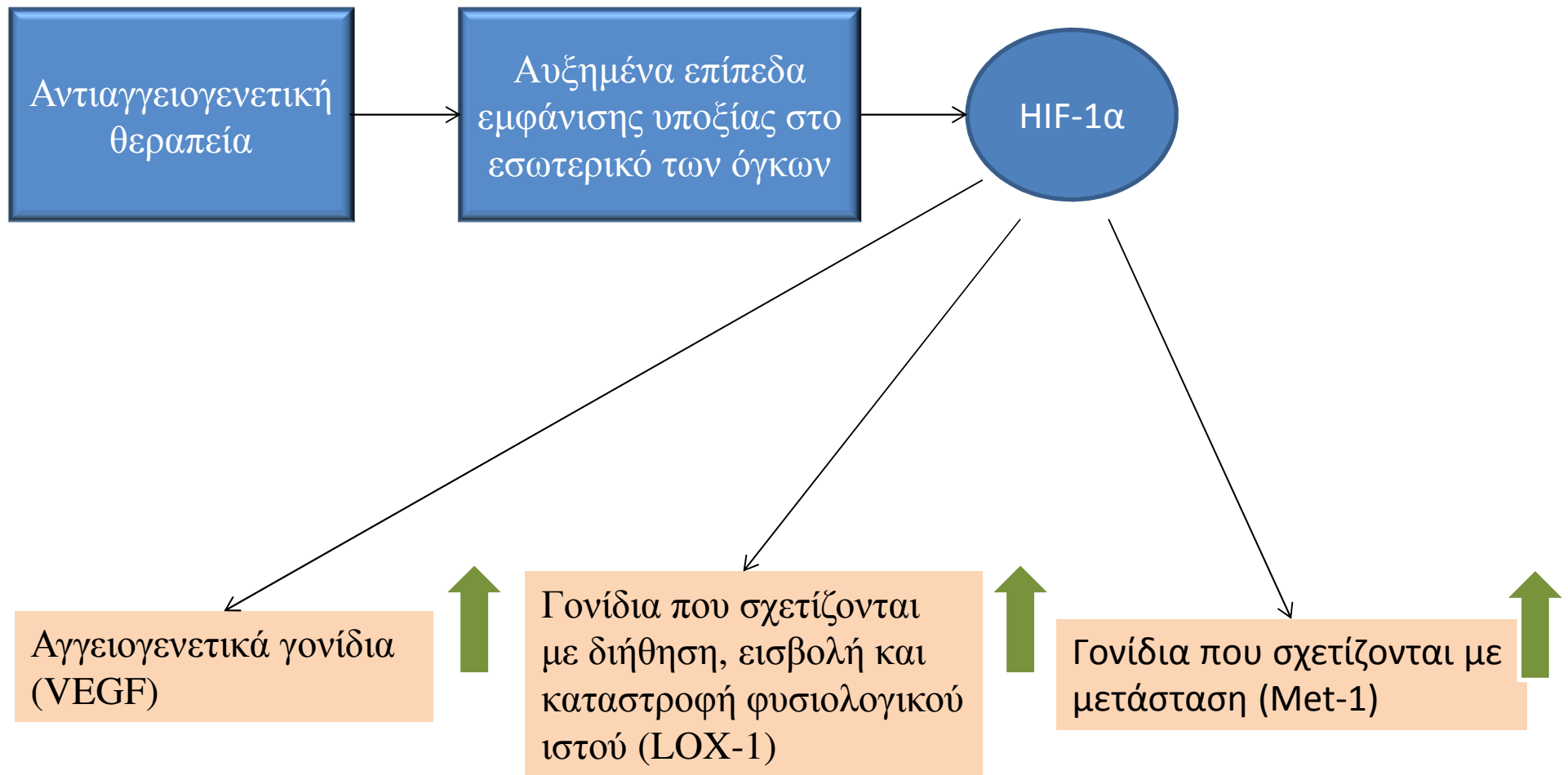


Προκλινικά (& κλινικά δεδομένα) για αυξημένη υποξία στο εσωτερικό των όγκων μετά την αντι-αγγειογενετική θεραπεία

Τύπος καρκίνου	Αντι-αγγειογενετικός παράγοντας	Αποτέλεσμα	Βιβλιογραφική αναφορά
Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα	Sorafenib	Αυξημένη υποξία στο εσωτερικό των όγκων	Liang <i>et al.</i> , 2013
Όγκος των νησιδίων του παγκρέατος	DC101	Περιοχές στο εσωτερικό των όγκων με έντονη υποξία, αυξημένα επίπεδα του HIF-1α	Casanovas <i>et al.</i> , 2005
Παγκρεατικό νευροενδοκρινές καρκίνωμα	DC101 ή Sunitinib	Αυξημένη μετάσταση, εισβολή και διείσδυση στο παρακείμενο φυσιολογικό ιστό και εμφάνιση υποξίας στο μικροπεριβάλλον των όγκων	Paez-Ribes <i>et al.</i> , 2009
Καρκίνος του μαστού	Bevacizumab ή Sunitinib	Αύξηση του αριθμού των καρκινικών βλαστικών κυττάρων, αύξηση υποξίας και των επιπέδων έκφρασης του HIF-1α	Conley <i>et al.</i> , 2012
Γλοιοβλάστωμα	Bevacizumab	Μείωση της μικροαγγειακής πυκνότητας (MVD), αύξηση της υποξίας στο εσωτερικό των όγκων, των επιπέδων της υπομονάδας HIF-1α και της μεταγραφής των HIF-1 εξαρτώμενων γονιδίων	Rapisarda <i>et al.</i> , 2009

Τύπος καρκίνου	Αντι-αγγειογενετικός παράγοντας	Αποτέλεσμα	Βιβλιογραφική αναφορά
Πρωτοπαθής καρκίνος του ήπατος	Bevacizumab	Μείωση στην αιματική ροή του όγκου (tumor perfusion), αυξημένα επίπεδα των HIF-1α και CA-IX	Yopp <i>et al.</i> , 2011
Καρκίνωμα των ωοθηκών	Bevacizumab	Καθόλου αλλαγές στην υποξία	Martinez-Poveda <i>et al.</i> , 2011
Νευροβλάστωμα	Bevacizumab ή Sunitinib	Η θετική επαγωγή της έκφρασης του HIF-1α αποτελεί τον κύριο μηχανισμό ανάπτυξης ανθεκτικότητας στην αντι-αγγειογενετική θεραπεία	Hartwich <i>et al.</i> , 2013
Χρόνια Μυελογενής Λευχαιμία	Imatinib	Η θετική επαγωγή της έκφρασης του HIF-1α στα καρκινικά κύτταρα εμφανίζουν αυξημένη BCR-ABL σηματοδότηση, συμβάλλει στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας στο imatinib	Zhao <i>et al.</i> , 2010

Ανάπτυξη ανθεκτικότητας στις αντι-αγγειογενετικές θεραπείες μέσω αύξησης της υποξίας

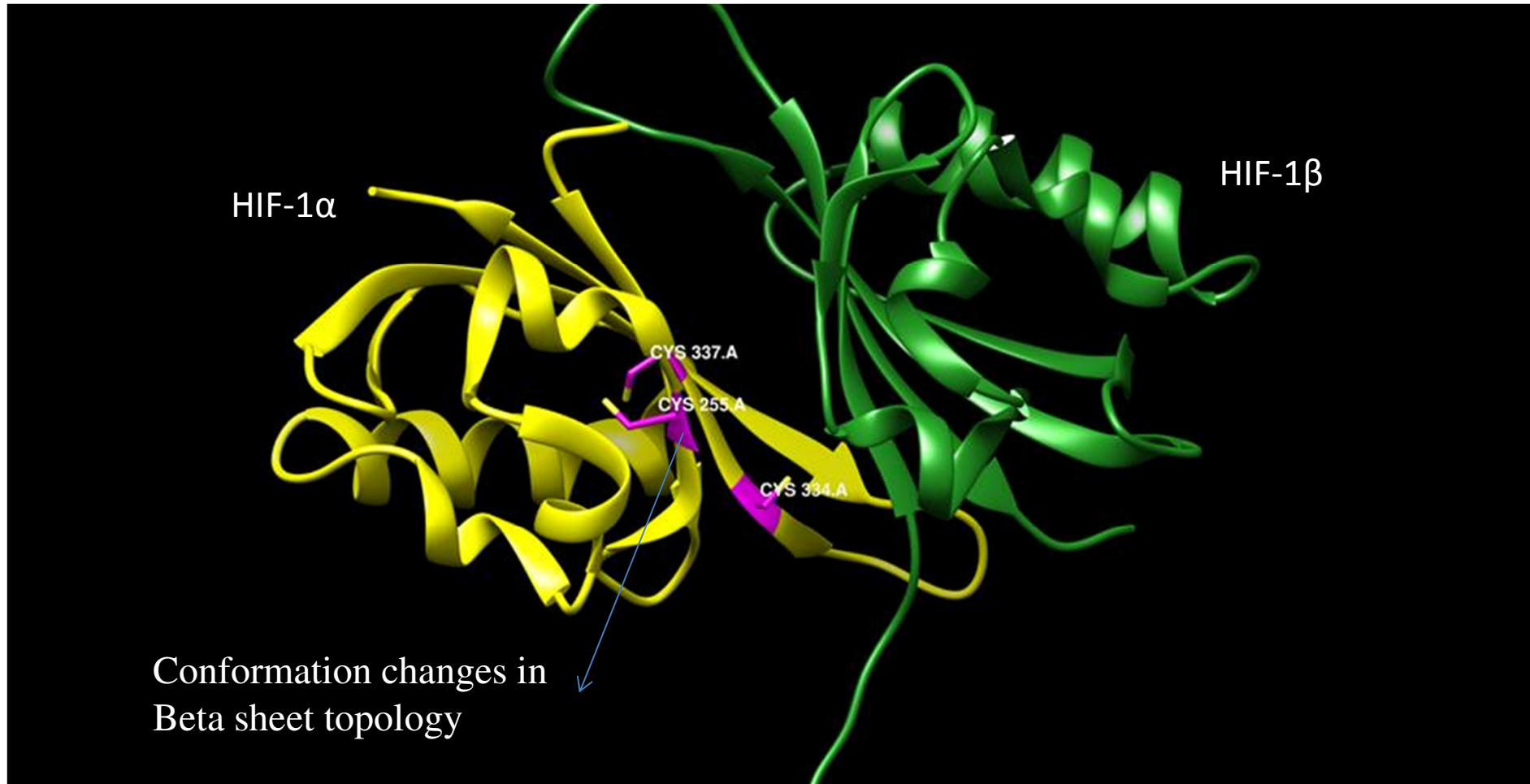


HIF-1 αναστολείς & αντι-αγγειογενετικοί παράγοντες

Τύπος καρκίνου	Συνδυασμός HIF-1 αναστολέων & αντι-αγγειογενετικών παραγόντων	Συμπεράσματα-αποτελέσματα μελέτης	Βιβλιογραφική αναφορά
Γλοιοβλάστωμα	Bevacizumab με χαμηλή δόση topotecan	Ο συνδυασμός των 2 παραγόντων ήταν πολύ πιο αποτελεσματικός όσον αφορά την αναστολή της ογκογένεσης απ' ό,τι το καθένα ξεχωριστά και προκάλεσε : συρρίκνωση των όγκων σε 5/5 ποντίκια με 47% μείωση του μεγέθους των όγκων στα καρκινικά ξενομοσχεύματα σε ποντίκια από την έναρξη της θεραπείας και 80 % μείωση συγκριτικά με τα vehicle treated mice (control)	Rapisarda <i>et al.</i> , 2009
Πολύμορφο γλοιοβλάστωμα	Bevacizumab και irinotecan	Σημαντικό κλινικό όφελος : το ποσοστό των ασθενών που δεν παρουσίασε επιπλοκές για 6 μήνες ήταν 46%-ενώ το συνολικό ποσοστό επιβίωση για τους 6 μήνες ήταν 77%	Wedenburgh <i>et al.</i> , 2007

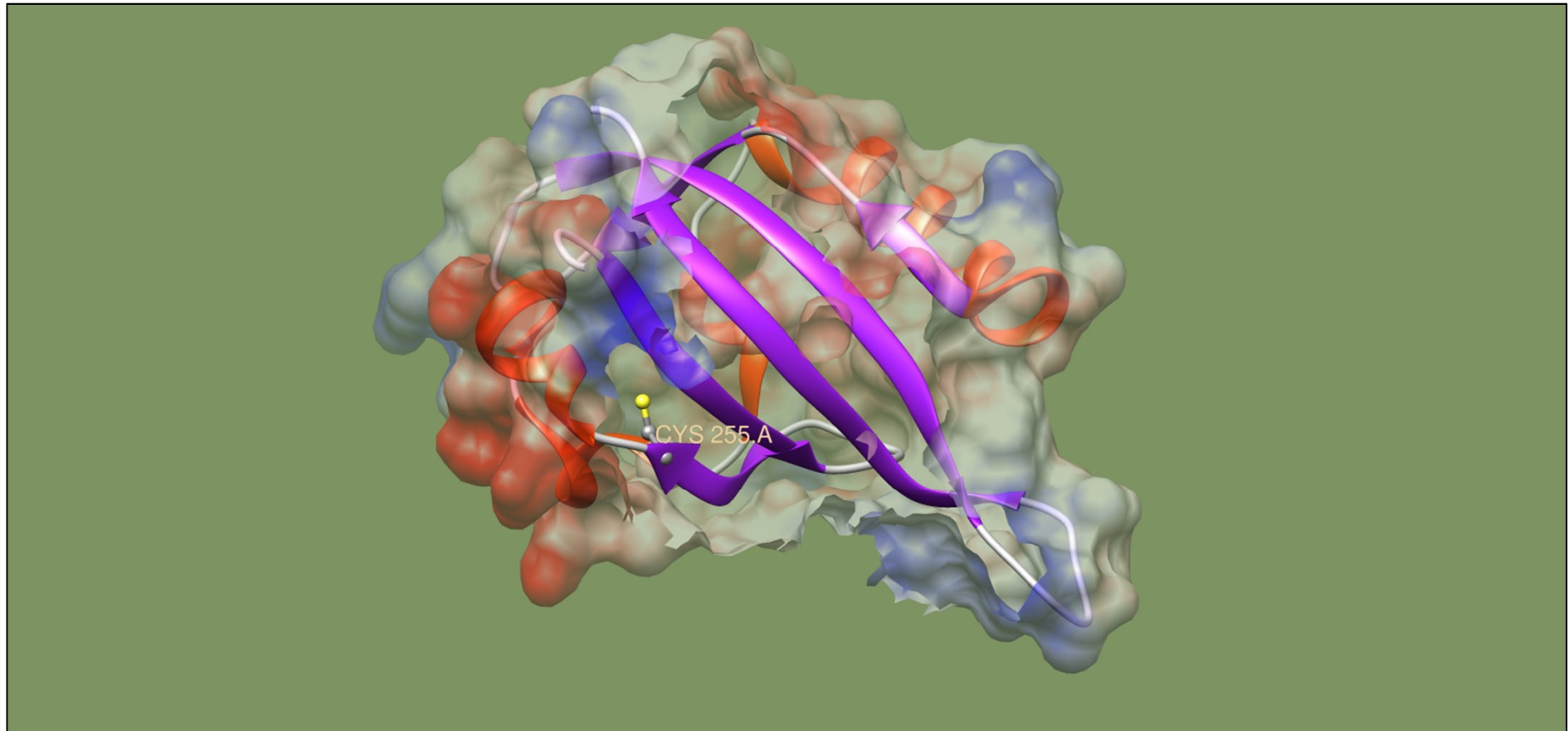
Τύπος καρκίνου	Συνδυασμός HIF-1 αναστολέων & αντι-αγγειογενετικών παραγόντων	Συμπεράσματα-αποτελέσματα μελέτης	Βιβλιογραφική αναφορά
Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα	EF-24 και sorafenib	Συνεργιστικά αποτελέσματα έναντι της παρατηρούμενης μετάστασης, τόσο <i>in vivo</i> όσο και <i>in vitro</i> -επίσης η συνχρηγήγηση των 2 παραγόντων αντισταθμίζει την ανάπτυξη ανθεκτικότητας των κυττάρων HCCs στο sorafenib	Liang <i>et al.</i> , 2013
Ανθεκτικοί συμπαγείς όγκοι	EZN-2208 (PEGylated SN-38) & bevacizumab	Πρώιμα αποτελέσματα : 2 στους 10 ασθενείς εμφάνισαν παρατεταμένη σταθεροποίηση της ασθένειας	Jeong <i>et al.</i> , 2013
Καρκίνος των ωοθηκών	Χαμηλή δόση topotecan (per os) και Pazopanib	Βελτίωση της αντικαρκινικής δράσης του topotecan μαζί με το pazopanib(100% ποσοστά επιβίωσης σε καρκινικά εμφυτεύματα σε ποντίκια)	Hashimoto <i>et al.</i> , 2010
Καρκίνος του παχέος εντέρου	Irinotecan & rapamycin	Αναστολή της συσσώρευσης της υπομονάδας HIF-1α μέσω συνεργιστικής δράσης των 2 παραγόντων <i>in vitro/in vivo</i>	Pencreach <i>et al.</i> , 2009

Μελλοντικές Θεραπευτικές Εφαρμογές-Αλλοστερική στόχευση της α υπομονάδας με πεπτιδικούς αναστολείς



(Cardoso *et al.*, 2012)

Ηλεκτροστατική απεικόνιση της PasB επικράτειας της HIF-1α υπομονάδας



- Πιθανές αλληλεπιδράσεις του καταλοίπου Cys255 μπορούν να αποτελέσουν στόχο ανάπτυξης πεπτιδίων-αναστολέων

Εργαλείο ανάλυσης και πρόβλεψης της πρωτεϊνικής σταθερότητας

CUPSAT: Cologne University Protein Stability Analysis Tool

[Home](#)
[Run CUPSAT](#)
[Server Status](#)
[Prediction Model](#)
[Torsion Angles](#)
[Help](#)
[Feedback](#)
[Contact](#)

Comprehensive Prediction Results

Mutation Site			
Protein	Chain	Wild type AA	Residue ID
4H6J.PDB1	A	CYS	255

Structural Features		
SS element	Solvent accessibility	Torsion angles (ϕ , ψ)
Sheet	2.85%	-139.7°, 133.6°

Amino Acid Mutations			
Amino acid	Overall Stability	Torsion	Predicted $\Delta\Delta G$ (kcal/mol)
GLY	Destabilising	Unfavourable	-9.5
ALA	Destabilising	Unfavourable	-8.46
VAL	Destabilising	Favourable	-7.77
LEU	Destabilising	Unfavourable	-7.72
ILE	Destabilising	Favourable	-8.97
MET	Destabilising	Favourable	-12.25
PRO	Destabilising	Unfavourable	-14.86
TRP	Destabilising	Unfavourable	-8.13
SER	Destabilising	Unfavourable	-10.81
THR	Destabilising	Favourable	-10.67
PHE	Destabilising	Favourable	-8.6
GLN	Destabilising	Unfavourable	-15.92
LYS	Destabilising	Favourable	-15.35
TYR	Destabilising	Favourable	-11.2
ASN	Destabilising	Unfavourable	-14.85
GLU	Destabilising	Unfavourable	-12.3
ASP	Destabilising	Unfavourable	-14.71
ARG	Destabilising	Favourable	-10.38
HIS	Destabilising	Favourable	-15.41

Note: Overall stability is calculated from atom potentials and torsion angle potentials. In case of unfavourable torsion angles, the atom potentials may have higher impact on stability which results in a stabilising mutation.

[Print](#)

[Back](#)

Σύνοψη-Συμπεράσματα

Φαίνεται πως η πλειοψηφία των HIF-1 αναστολέων δεν στοχεύει άμεσα αλλά έμμεσα την HIF-1α υπομονάδα, με αποτέλεσμα η παρατηρούμενη έλλειψη αποτελεσματικότητας να δυσχεραίνει την αξιολόγηση του HIF-1 ως αντικαρκινικό στόχο.

Η χορήγηση HIF-1 αναστολέων σε συνδυασμό με τις υπάρχουσες αντικαρκινικές θεραπείες, ίσως να βελτιώσει την αποτελεσματικότητά τους, ιδιαίτερα σε έντονα υποξικούς όγκους όπου η υπερέκφραση της HIF-1α υπομονάδας εντοπίζεται σε διαγνωστικές βιοψίες ή/και στην περίπτωση θεραπευτικών προσεγγίσεων που επάγουν την HIF-1 ενεργότητα (αντι-VEGF θεραπείες).

Τέλος, παραμένει επιτακτική ανάγκη η επιστημονική κοινότητα να επικεντρωθεί στην ανάπτυξη κατάλληλων προγνωστικών βιοδεικτών, όπου σε συνδυασμό με την χρήση συγκεκριμένων απεικονιστικών τεχνικών (π.χ. DCE-MRI) θα βοηθήσουν στην κατάλληλη επιλογή θεραπευτικού συνδυασμού-ασθενών.

Ευχαριστώ