

Zhodnocení současného stavu přístupu k onkologické léčbě

Reportáž z Akademie fyziologické regulační medicíny 1. 6. 2013 v Praze - Průhonicích



Prof. MUDr. Pier Mario Biava,
Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS)
Multimedica, Milano

Abstract

Some experiments demonstrated that extract of embryonal stem cells of *Danio rerio* fish can cause significant inhibition of growth various lines of cancer cells.

The aim of this research was to find out which molecular mechanisms can control and slow growth of these cancer lines. The research proved regulation of post-transcriptional molecules, e.g. p53 and pRb.

Investigation of processes of apoptosis and differentiation demonstrated that different factors of stem cells (DFKB) cause activation of caspase-3, namely via regulation of E2F1 gene and subsequently by hyperexpression of C-Myc and by activation p73-dependent apoptotic way. Furthermore, significant normalization of expression of e-kadherin/beta-katenin by means of increase of e-kadherin level was demonstrated.

Administration of DFKB in an open randomized controlled trial with 179 patients suffering from moderately advanced hepatocellular cancer caused regression of cancer in 19,8 % of patients (complete regression in 2,6 %), and in 16 % of patients brought about stabilization and significant prolongation of median of surviving. Following analysis of 50 patients suffering from moderately advanced hepatocellular cancer demonstrated complete regression in 13,1 % of them.

DFKB also significantly contributed to prevention of neurodegenerative processes caused by high doses of NMDA (N-methyl-D-aspartate) in cell lines of rat hippocampus. In almost 80 % of patients suffering from psoriasis, topical application of DFKB caused reduction or remission of the disease.

The function of DFKB bring about an idea of new model of complex psychosomatic adaptive systems which integrate conceptions of epigenetics and transmission of information in biological systems as well as in psycho-neuro-immuno-endocrine systems.

Úvod

Z literárních zdrojů je známo, že embryonální mikroprostředí je schopné v průběhu diferenačních procesů potlačovat vývoj nádorů.^{1,2} Podání karcinogenních látek v průběhu organogeneze způsobuje embryonální malformace, ale nevede u plodu k tvorbě nádorů. Po dokončení organogeneze však aplikace karcinogenních látek zvyšuje frekvenci nádorů plodu.^{3,4,5} Tyto informace naznačují, že rakovinu můžeme považovat za odchylku od normálního vývoje, která může být kontrolována faktory embryonálního mikroprostředí v průběhu buněčné diferenciace. Dále bylo prokázáno, že po implantaci do embrya se může teratom diferencovat na normální tkáň.⁶

Nedávno bylo též prokázáno, že implantace melanomu do embrya dána pruhovaného nevede k vývoji nádoru, zatímco po implantaci dospělým jedincům dojde k růstu nádorů.⁷ Navíc, melanomové buňky injikované do extraembryonálních membrán dána pruhovaného, se

Abstrakt

Experimenty provedené s různými liniemi nádorových buněk ukazují na významnou inhibici jejich růstu po podání extraktů z různých diferenačních stádií kmenových buněk embryí ryby dána pruhovaného (*Danio rerio*).

Výzkumy byly realizované s cílem zjistit, které molekulární mechanismy jsou zapojené do kontroly a zpomalení růstu těchto linií nádorových buněk a prokázaly post-transkripční regulaci klíčových molekul buněčného cyklu, jakou jsou p53 a pRb.

Zkoumání procesů apoptózy a diferenciace ukázalo, že diferenační faktory kmenových buněk (DFKB) vyvolávají aktivaci kaspázy-3, a to zejména prostřednictvím regulace genu E2F-1 a následné hyperexprese C-Myc a aktivace p73-dependentní apoptotické dráhy. Kromě toho byla současně prokázána významná normalizace exprese e-kadherinu/beta-kateninu, prostřednictvím nárůstu hladin e-kadherinu.

Podávání DFKB v otevřené, randomizované, kontrolované klinické studii provedené se 179 pacienty postiženými středně pokročilým hepatocelulárním karcinomem vedlo u 19,8 % pacientů k regresi onemocnění (přičemž u 2,6 % se dosáhlo kompletní regrese), u 16 % pacientů ke stabilizaci onemocnění a k významnému prodloužení mediánu celkového přežívání. Následná analýza 50 pacientů se středně pokročilými hepatocelulárním karcinomem ukázala u 13,1 % kompletní regresi.

DFKB přispěly také významně k předcházení neurodegenerativních procesů vyvolaných vysokými dávkami N-methyl-D-aspartátu (NMDA) u buněčných linií hipokampu krysy.

Topická aplikace DFKB pacientům s psoriázou vedla téměř u 80 % pacientů k redukci nebo remisi onemocnění.

Použití DFKB nás vede k představě nového modelu komplexních tělesných a duševních adaptivních systémů, které integrují koncepty epigenetiky a přenosu informací v biologických systémech, jakož i psycho-neuro-immuno-endokrinních systémech.

změnily na vlastní neuronální buňky. To demonstruje fakt, že nádorové buňky se mohou po implantaci do embryí diferencovat do normálních tkání.⁸

V tomto přehledu bychom rádi sumarizovali několik experimentů provedených v průběhu posledních 20 let *in vitro* a *in vivo*, jakož i klinické studie týkající se středně pokročilého hepatocelulárního karcinomu, u kterého byly podávány faktory získané v průběhu diferenciačních procesů kmenových buněk.

Nakonec bychom také rádi informovali o nejnovějších experimentech, které prokazují, že diferenciační faktory kmenových buněk (DFKB) jsou schopné předcházet neurodegenerativním procesům v buněčných liniích hipokampu myši a významně zmírňovat příznaky psoriázy.

Použité materiály a metody všech *in vitro* a *in vivo* experimentů s lidskými nádorovými buněčnými liniemi a výběr pacientů pro klinickou studii hepatocelulárního karcinomu byly podrobně popsány jinde.

Stejně tak už byly publikovány materiály a metody použité u studií psoriázy.

Materiály a metody (příprava řezů hipokampu) použité ve studii neurodegenerativní prevence, která nebyla dosud publikována, odpovídaly běžným postupům popsaným v literatuře.⁹ Při testování účinků DFKB jsme vystavili organotypické řezy hipokampů 50 μ M roztoku N-methyl-D-aspartátu v bezsérovém médiu, u sledované skupiny s přidavkem DFKB.

Pro každou aplikaci byla zaznamenávána neuroprotektivní aktivita DFKB. Při sledování celulárního poškození byla hodnocena fluorescence propidium jodidu (PI) (5 mg/ml) podle obecných postupů popsaných v literatuře.¹⁰

Ukutečněna byla kvantitativní analýza úmrtnosti buněk v CA1 oblasti hipokampu a byla porovnána s organotypickými buňkami vystavenými NMDA. Pomocí epifluorescenčního mikroskopu Zeiss Axiovert 200M (10x zvětšení) kamery Cool Snap CCD byly získány snímky řezů. Při kvalitativní analýze byly použity stejné doby expozice.

Pod lokalizaci odpovídajících oblastí CA1 byla změřena průměrná fluorescenční intenzita a úmrtnost buněk byla vyhodnocena ve smyslu intenzity fluorescence, plocha byla vyjádřena v pixelech.



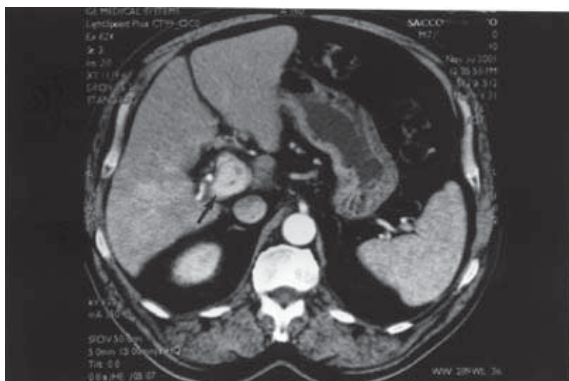
Výsledky *in vitro* experimentů s různými liniemi lidských nádorů

Sedm různých linií lidských nádorů (multiformní glioblastom, melanom, hepatocelulární karcinom, adenokarcinom prsu, ledvinový adenokarcinom, adenokarcinom tlustého střeva, akutní lymfoblastická leukemie) bylo ošetřeno faktory získanými z embryí dána pruhovaného ve čtyřech různých stádiích vývoje:

- a) stádium moruly, charakterizované pouze čistě multiplikačními pochody, a proto tvořené totipotentními embryonálními kmenovými buňkami;
- b) střední stádium blastuly-gastruly (50% epibolie), ve kterém se totipotentní embryonální kmenové buňky diferencují na pluripotentní kmenové buňky;
- c) stádium 5 somitů;
- d) stádium 20 somitů, ve kterém se odehrávají důležité diferenciační děje, charakterizující střední a závěrečné diferenciační fáze.

Všechny buněčné linie vykazaly po aplikaci faktorů z výše uvedených diferenciačních stádií významné zpomalení růstové křivky, přičemž procentuální hodnoty inhibice se pohybovaly od 73 % u glioblastomu po 26 % u melanomu. Při použití faktorů získaných ze stádia moruly (multiplikační stádium) se nepozorovaly žádné účinky, kromě slabé inhibice růstu nádorů. Tyto informace potvrzují představu, že v průběhu diferenciačních stádií je v embryu přítomná řada faktorů, které jsou schopné přesměrovat nádorovou buňku na normální vývojovou dráhu. Tyto faktory se objevují od raných fází gastrulace, ale v čistě multiplikačních stádiích nejsou přítomné.¹¹ Pro pochopení molekulárních dějů, které jsou zapojeny do inhibice růstu nádorů, byla provedena řada studií. V nich bylo prokázáno, že nejdůležitější molekuly zapojené do regulace buněčného cyklu, jako jsou např. p53 a pRb, se zapojují prostřednictvím transkripčních a posttranslačních regulačních procesů. Přesněji, v buňkách některých nádorových linií, jako např. multiformní glioblastom a melanom, dochází k transkripční regulaci p53, charakterizované významným nárůstem koncentrací tohoto proteinu. Tento jev po působení buněčných diferenciačních faktorů byl potvrzen cytofluorometrickými i imunohistochemickými metodami.¹² Zpomalení růstu

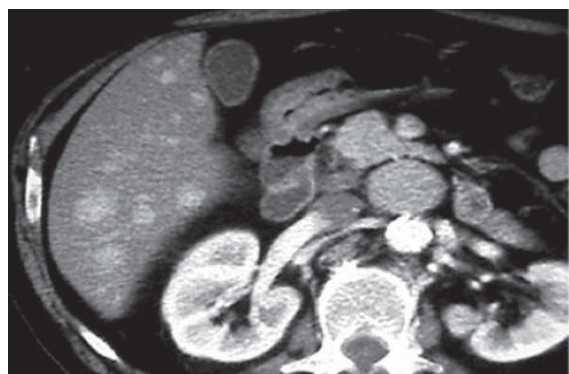
jiných nádorových linií, jako např. ledvinového adenokarcinomu, je zprostředkováno posttranslační regulací retinoblastomového proteinu (pRb), která vede k změně poměrů mezi fosforylovanou a nefosforylovanou formou proteinu.¹³ Je známé, že nefosforylovaná forma zastavuje buněčný cyklus, protože brání transkripci genu E2F-1, která je naopak zprostředkována fosforylací tohoto proteinu. Pro pochopení konsekvencí přisuzovaných diferenciačním faktorům v regulaci cyklu nádorových buněk byly zkoumány apoptotické pochody, jakož i buněčné diferenciační děje. Analýza realizovaná na buňkách adenokarcinomu tlustého střeva upozornila na aktivaci apoptotické dráhy závislé na p73, jakož i na dráhu buněčné diferenciace. V kultuře nádorových buněk tlustého střeva bylo zazna-



Spirální CT zobrazení jater v průběhu arteriální fáze před léčbou diferenciacími faktory kmenových buněk (DFKB) ukazuje pokročilý hepatocelulární karcinom v pravém laloku. Neoplazmatické hypervaskularizované oblasti jsou viditelné v segmentu 7, hypervaskularizovaný trombus (viz šipka) ucpává pravou větvi portální žíly a dosahuje až do hlavního kmene.



Spirální CT zobrazení vykonané po 6 měsících léčby DFKB ukazuje zmenšení portálního trombu a vymizení hepatocelulárního karcinomu v pravém laloku.



V jiném případě ukazuje CT zobrazení v průběhu arteriální fáze před léčbou DFKB několik nodulů hepatocelulárního karcinomu.



Po 6 měsících léčby CT zobrazení ukazuje vymizení neoplazmatické hypervaskularizace uvnitř nodulů. Léčba středně pokročilého hepatocelulárního karcinomu diferenciacími faktory kmenových buněk: otevřená, randomizovaná, klinická studie.

menáno významné zvýšení rychlosti apoptózy a zvýšení koncentrací e-kadherinu (marker buněčné diferenciaci).¹⁴ Mezi molekulární mechanismy vytvářející základ pro zpomalení růstu nádorů po působení DFKB tak patří: zastavení buněčného cyklu ve fázi G1-S nebo G2-M (podle typu nádoru), opravení poškozené genetické informace a rediferenciaci nebo apoptóza nádorové buňky, pokud reparace není možná z důvodu závažnosti mutačního poškození.

Výsledky klinické studie u středně pokročilého hepatocelulárního karcinomu

V období mezi 1. lednem 2001 a 30. dubnem 2004 proběhla randomizovaná klinická studie zahrnující 179 pacientů se středně pokročilým hepatocelulárním karcinomem, u kterých nebyla možná žádná další léčba, sledující účinek přípravku obsahujícího diferenciacími faktory, sestaveného na základě výše uvedených studií. Přípravek byl podáván sublinguálně v dávce 30 kapek 3krát denně. Sublinguální forma podávání byla zvolena z důvodu složení přípravku, jehož účinné frakce jsou tvořeny nízkomolekulárními proteiny a mikro-RNA.

Hodnocena byla objektivní odezva nádoru, medián celkového přežívání a celkový stav pacientů. Výsledky ukázaly, že u 19,8% pacientů se dosáhlo regrese a u 16% pacientů stabilizace onemocnění, s celkovou mírou přežívání po 40 měsících více než 60% u reagujících pacientů oproti 10% u nereagujících pacientů.

U velké většiny pacientů (82,6%) bylo zaznamenáno významné zlepšení celkového stavu, včetně pacientů s progresí onemocnění.¹⁵ Nedávno publikovaná nová studie v časopise Current Pharmaceutical Biotechnology o přeprogramování normálních a nádorových kmenových buněk potvrzuje roli DFKB jako určujícího faktoru kompletní odezvy u 13,1% pacientů se středně pokročilými nádory jater.¹⁶

Níže jsou uvedeny CT snímky kompletní odezvy pacientů s hepatocelulárním karcinomem: snímky ukazují játra před a po 6měsíční léčbě DFKB. Dále jsou uvedeny grafy porovnávající křivky přežívání reagujících a nereagujících pacientů.

Výsledky experimentů u neurodegenerativních onemocnění

První série experimentů byla uskutečněna s cílem stanovit nejlepší experimentální podmínky pro hodnocení předpokládané neuroprotektivní aktivity extraktů z dávného pruhovaného.

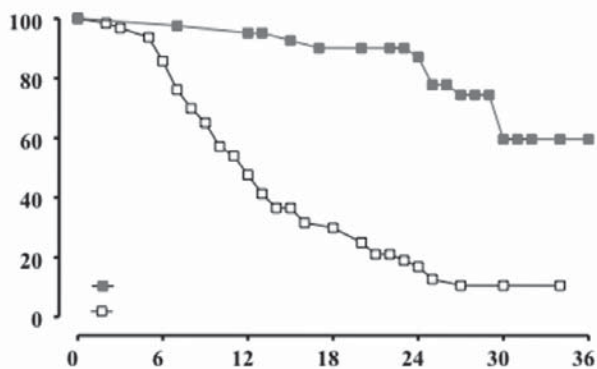
Zvoleno bylo hodinové působení 50 μ M roztoku NMDA, které ve studovaných experimentálních podmínkách vyvolávalo významnou úmrtnost buněk. Na organotypické hipokampální řezy byl aplikován 50 μ M roztok NMDA, který vyvolával očekávanou buněčnou smrt a po 24 hodinách bylo provedeno barvení propidium jodidem (PI).

- Po fixaci byla získána oblast CA1, ve které byla popsány metodami hodnocena smrt buněk.
- Aplikace NMDA zvyšovala 24 hodin po aplikaci v oblasti CA1 úmrtnost buněk o 47% oproti kontrolní skupině.
- Neuroprotektivní vlastnosti extraktů byly hodnoceny v organotypických hipokampálních řezech vystavených různým toxickým stimulům (sérová deprivace, NMDA 50 μ M; 1h).

V první sérii byl hodnocen neuroprotektivní účinek extraktů připravených jako směs faktorů A (stádium medio-blastuly/gastruly), B (stádium 5 somitů) a C (stádium 20 somitů).

Směs A+B+C byla podávána skupině vystavené NMDA a skupině s deprivací séra, s dalším ředěním 1:100, analýza smrti buněk byla provedena po 24 hodinách.

Ošetření tkání směsí extraktů A+B+C vedlo k redukci neuronální mortality (-31,6% \pm 6,2%, $p=0,005$) vyvolané 1hodinovou sérovou deprivací. Stejně tak došlo po působení směsi extraktů A+B+C k významnému snížení mortality ve skupině vystavené 50 μ M roztoku NMDA.



Livraghi T, Meloni F, Frosi A et al. Oncol Res 2005

Následně byly zkoumány potenciální neuroprotektivní aktivity samotných extraktů A, B nebo C. V tomto případě se prokázalo snížení mortality pouze u extraktu A, výsledky však nebyly dostatečně signifikantní, a to jak ve skupině vystavené NMDA, tak ve skupině po sérové deprivaci. Pro získání efektivních výsledků je tak zřejmě potřebný celý informační set faktorů.

Výsledky klinických studií u psoriázy

Účinnost topické aplikace extraktů embryí dávia pruhovaného u psoriázy byla sledována ve dvou klinických studiích.^{17,18} Extrakty byly přidány k topické formulaci obsahující extrakt *Boswellia serrata*, kyselinu 18-beta-glycyrrhetinovou, *Zanthoxylum alatum*, 7-dehydrocholesterol a vitamín E. Výsledky studií ukázaly po aplikaci klinicky objektivní zlepšení až u 80 % pacientů, s redukcí keratózy a svědění po 20-30 dnech od začátku léčby.



Brachydanio rerio

Diskuse a závěry

Použití diferenciačních faktorů kmenových buněk v protinádorové léčbě umožnilo postavit nový model onkologického onemocnění odpovídající realitě. V tomto modelu jsou nádorové buňky považované za nediferencované buňky, mutované a zablokované v multiplikační fázi mezi dvěma stádii buněčné diferenciace. Z tohoto pohledu proto nádorové buňky mohou být považovány za „mutované kmenové buňky“, které jsou podle jejich stupně malignity považované za blokované v různých fázích vývoje. Pro podporu tohoto modelu je vhodné připomenout, že u nádorů s vyšší maligní potencií, jako např. akutní lymfoblastom a myeloidní leukémie, jsou přítomné multipotentní mutované kmenové buňky, zatímco u nádorů s nižší maligní potencií, jako je např. lymfoblastická leukémie, jsou sice přítomny

buňky nekompletně (zcela) diferencované, ale jsou ve stavu mířícím k finální diferenciaci. V souladu s tímto pohledem připomínáme též společné charakteristiky nádorových a kmenových buněk: nádorové buňky se vyznačují přítomností onkofetálních antigenů, zachovávaných v průběhu fylogeneze²⁰ a specifických receptorů na buněčných membránách, prostřednictvím kterých pravděpodobně působí diferenciační faktory kmenových buněk. Jak bylo už uvedeno výše, tyto faktory aktivují metabolické dráhy celulórní diferenciace, které vedou buňky k diferenciaci nebo smrti, jak se obvykle děje v embryích (mnoho buněk v embryích podléhá apoptóze). Dále, nádorové a embryonální buňky sdílejí společné metabolické dráhy: např. dráhu APC/beta-katenin/TCF/Wnt a dráhu Hedgehog/Smoothened/Patched. Problém kmenových buněk je dvojitý: nejenže nesou genetické mutace, které jsou příčinou malignity (jak je dobře známo), ale také se vyznačují možná mnohem důležitějším znakem, a to je nevyvážeností epigenetického kódu. Konfigurace genů a metabolismus nádorových buněk jsou ve skutečnosti velmi podobné kmenovým buňkám: všechny mají aktivní protoonkogeny a produkují embryonální růstové faktory, prezentují, jak bylo uvedeno výše, onkofetální antigeny a fungují na anaerobním metabolismu. Rozdíl mezi nádorovou a kmenovou buňkou pak spočívá ve skutečnosti, že nádorová buňka na rozdíl od normální kmenové buňky není schopna dokončit svůj vývoj a diferencovat se, protože ztratila určitou informaci, tj. prodělala mutaci v epigenetickém kódu. Korekce epigenetického kódu pomocí diferenciačních faktorů umožňuje nádorové buňce vrátit se do oblasti normální fyziologie.

Je čím dál víc jasné, že regulační DNA je prostřednictvím RNA zodpovědná za transdukcii proteinů, takže mikro-RNA, transkripční faktory, transdukční a postregulační faktory hrají v regulaci genetického kódu, a tedy i v regulaci buněčného života, fundamentální roli. Jinými slovy, epigenetický kód je schopen diferencovat a regulovat normální kmenové buňky a nádorové buňky, deaktivovat geny, které vedou k proliferaci nádorových buněk a aktivovat nové diferenciační dráhy.

Naše studie byly nedávno potvrzeny výzkumníky v Children Hospital of Chicago a tyto výsledky v současnosti vyvolávají velmi vysoký zájem.²¹ Tyto studie potvrdily, že buňky maligního melanomu se mohou proměnit zpět do normálního fenotypu, pokud jsou vystaveny mikroprostředí embryí dávia pruhovaného. Na druhé straně se v současnosti objevuje stále více studií, které naznačují, že malignita nádorů souvisí s přítomností nádorových kmenových buněk,²² které se zdají být rezistentní na konvenční léčbu, jako je chemo- a radioterapie. Za posledních 4-5 let se jedná o takové množství vědeckých prací, že je téměř nemožné jmenovat je všechny. Zde bychom uvedli pouze ty práce, které prokázaly přítomnost nádorových kmenových buněk u glioblastomu,^{23,24,25} karcinomu prsu,^{26,27,28,29,30,31} plíc,^{32,33,34,35} prostaty,^{36,37,38} ovarií,^{39,40,41,42,43} jater,^{44,45,46,47,48,49} žaludku,^{50,51,52,53,54} tlustého střeva,^{55,56,57} pankreatu,^{58,59,60} nebo hlavy a krku.^{61,62,63,64} Na druhé straně je známo, že malignita vícerých hematologických nádorových onemocnění je způsobena přítomností kmenových buněk. Také s ohledem na interpretaci výsledků dosažených po působení diferenciačních faktorů kmenových buněk v prevenci neurodegenerativního poškození a v léčbě psoriázy můžeme předpokládat stejné vysvětlení: diferenciační faktory jsou epigenetickými regulátory, které na jedné straně umožňují předcházet degenerativním procesům a na druhé straně regu-

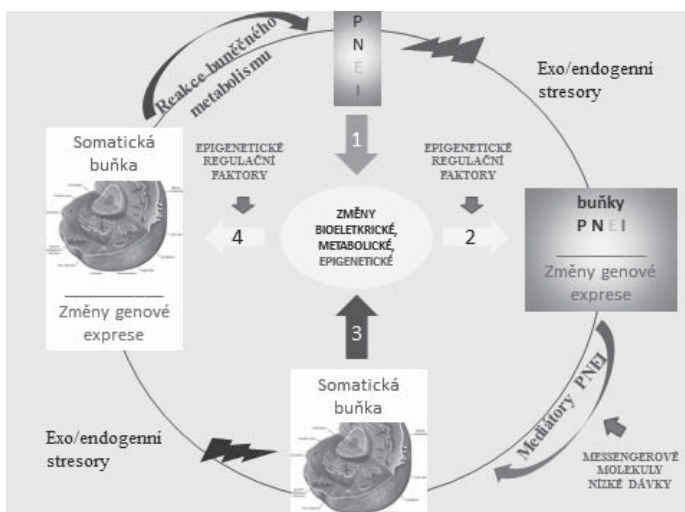
lují procesy změněné buněčné multiplikace, k jakým dochází např. právě u psoriázy, kdy je multiplikace buněk bazální epitelální vrstvy až pětikrát rychlejší než za normálních fyziologických podmínek. V tomto případě jsme prokázali, že diferenciační faktory dokážou redukovat působení pozměněných multiplikačních faktorů epidermálních buněk a normalizovat multiplikaci (předchozí, dosud nepublikovaná data, čekají na ověření). Předpokládá se, že faktory epigenetické regulace mohou najít velmi široké uplatnění v prevenci a léčbě degenerativních onemocnění nejen nervového systému, ale také kardiovaskulárního a muskuloskeletálního systému, diabetu a dalších. U degenerativních poruch se mohou uplatnit také jako anti-aging faktory, a to jak v podobě zlepšení celkového zdravotního stavu starších osob, tak obzvláště při topické aplikaci, která může přispět k výraznému zlepšení stavu pokožky. Studie provedené s těmito faktory, krátce zmiňované v tomto článku, mě vedou k novému modelu, který interpretuje lidský organismus jako komplexní kognitivní systém, který není možné nadále vysvětlovat pouze z integrovaného psycho-neuro-endokrinní-imunitního (PNEI) pohledu. Toto má velmi důležitý význam pro objasnění a pochopení množství mechanismů adaptability a chování lidského organismu vůči okolnímu prostředí. Ve světle posledních studií na biomedicíně není model založený na PNEI schopen dále dostatečně vysvětlit komplexnost lidské bytosti a měl by být proto integrován do většího modelu, který vysvětluje lidskou bytost jako informačně integrovaný somato-psychický systém. Tento model se liší od všech předchozích v tom, že klade důraz na koncept informací jako kritického prvku pro udržení života. Ze spektra výše uvedených experimentálních prací je zřejmé, že epigenetické regulační faktory jsou základními regulačními faktory informací, které obíhají živým systémem a udržují zdraví.

Je zřejmé, že v informačním systému nelze o termínu „rovnováha“ uvažovat pouze ve smyslu rovnováhy termodynamické energie, ale taktéž ve smyslu energo-informační rovnováhy, která udržuje život. V níže uvedeném modelu jsou uvedeny všechny vzory a kroky, které regulují informace udržující zdraví. Takový holistický model pak může být definován jako tzv. adaptivní kognitivní somatico-psychický systém.

Adaptivní kognitivní somatico-psychický systém

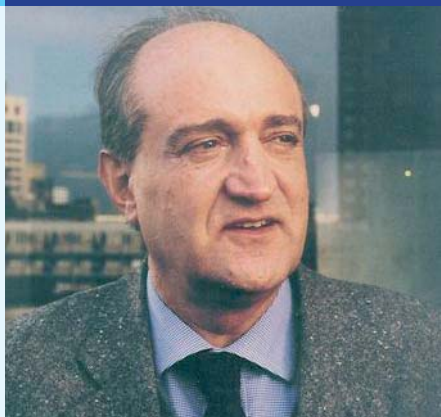
Tento model vysvětluje, jak organismus ovlivňují informace fyzikálního prostředí, jako jsou elektromagnetické vlnění širokého rozsahu frekvencí - od nejvyšších, jako gama- a rentgenové záření až k rádiovým vlnám, jiné fyzikální informace, jako jsou např. zvukové vlny, nebo chemické informace včetně stimulů vyvolávaných patogenními nebo toxickými organismy, tak i velmi silné signály odvozené z našich individuálních životů včetně těch, odvozených z individuálního podvědomí, kde jsou důkladně ukryty odstraněné nepříjemné zážitky. Adaptivní kognitivní somato-psychický systém tak funguje jako nedělitelná jednotka, ve které informace fungují v kruhovém režimu: z myslí do těla, ovlivňují tak tělesné reakce, na které zpětně působí další stimuly s informačním obsahem schopným vytvářet další modifikace. V souhrnu tyto modifikace působí na somatické buňky a ty pak zpětně ovlivňují systémy schopné vytvářet mentální fenomény a umožňují tak systému neustálé nové starty.

Rovnováha organismu proto zřejmě představuje proces kontinuální obnovy, udržovaný organizovanými informacemi, které kontinuálně cirkulují celým systémem, a to umožňuje expresi tak komplexního fenoménu, jako je život.



Kdo je

prof. MUDr. Pier Mario Biava



Od roku 1982 studuje vztahy mezi diferenciací kmenových buněk a nádory. Izoloval ty faktory, které jsou schopny zbrzdit růst nádoru, zabránit neurodegeneraci a působit při léčbě psoriázy.

Nyní pracuje ve Vědeckém ústavu výzkumu a zdravotní péče Multimedica Milano. Je autorem více než stovky vědeckých publikací a několika knih. Výsledky jeho výzkumné a klinické

práce byly prezentovány na mezinárodních odborných sympóziích, například na 36. setkání Mezinárodní společnosti onkologie a biomarkerů (říjen 2008, Tokio), 3rd World Cancer Congress (červen 2010, Singapur) aj.

Bylo mimořádnou příležitostí seznámit se s panem profesorem osobně a vyslechnout souhrn jeho vědecké práce v rámci Akademie fyziologické regulační medicíny 1. 6. 2013

Literatura

- 1 Einhorn, L. Are there factors preventing cancer development during embryonic life? *Oncodev. Biol. Med.*, 1982, 4, 219-229.
- 2 Lakshmi, M.S.; Sherbet, G.V. *Embryonic and Tumor Cell Interactions*. Karger Basel, 1974, 380-399.
- 3 Brent, R.L. *Radiation Teratogenesis*. *Teratology*, 1980, 21, 281-298.
- 4 Pierce, G.B. The cancer cell and its control by the embryo. *Am. J. Pathol.*, 1983, 113, 116-124.
- 5 Yu, C.-L.; Tsai, M.H. Fetal fetuin selectively induces apoptosis in cancer cell lines and shows anti-cancer activity in tumor animal models. *Cancer Letter*, 2001, 166:173/184.
- 6 Papaioannou, V.E.; McBurney, M.V.; Gardner, R.L.; Evans, R.L. Fate of teratocarcinoma cells injected into early mouse embryos. *Nature*, 1975, 258, 70-73.
- 7 Topczewska, J.M.; Postovit, L.M.; Margaryan, N.V. Embryonic and tumorigenic pathways converge via Nodal signaling: role in melanoma aggressiveness. *Nature Med.*, 2006, 12 (8): 925-932
- 8 Kulesa, P.M.; Kasermeier-Kulesa, J.C.; Teddy, J.M.; Margaryan, N.V.; Seftor, E.A.; Hendrix, M.J. Reprogramming metastatic tumor cells to assume a neural crest like phenotype in a embryonic microenvironment. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2006, 103, 3752-3757.
- 9 Gardoni F, Bellone C, Viviani B, Marinovich M, Meli E, Pellegrini-Giampietro DE, Cattabeni F, Di Luca M. Lack of PSD-95 drives hippocampal neuronal cell death through activation of an alpha CaMKII transduction pathway. *Eur J Neurosci*. 2002 Sep;16(5):777-86.
- 10 Pellegrini-Giampietro DE, Cozzi A, Peruginelli F, Leonardi P, Meli E, Pellicciari R, Moroni F. 1-Aminoindan-1,5-dicarboxylic acid and (S)-(+)-2-(3'-carboxy-bicyclo[1.1.1] pentyl-glycine, two mGlu1 receptor-preferring antagonists, reduce neuronal death in *in vitro* and *in vivo* models of cerebral ischaemia. *Eur J Neurosci*. 1999 Oct;11(10):3637-47.
- 11 Biava, P.M.; Bonsignorio, D.; Hoxa, M. Cell proliferation curves of different human tumor lines after *in vitro* treatment with Zebrafish embryonic extracts. *J.Tumor Marker Oncol.*, 2001, 16 195-202.
- 12 Biava, P.M.; Carluccio, A. Activation of anti-oncogene p53 produced by embryonic extracts *in vitro* tumor cells. *J. Tumor Marker Oncol.*, 1977, 12, 9-15.
- 13 Biava, P.M.; Bonsignorio, D.; Hoxa, M.; Facco, R.; Ielapi, T.; Fratini, L.; Bizzarri, M. Post-translational modification of the retinoblastoma protein (pRb) induced by *in vitro* administration of Zebrafish embryonic extracts on human kidney adenocarcinoma cell line. *J. Tumor Marker Oncol.*, 2002, 17(2); 59-64.
- 14 Cucina, A.; Biava, P.M.; D'Anselmi, F.; Coluccia, P.; Conti, F.; Di Clemente, R.; Miccheli, A.; Fratini, L.; Gulino, A.; Bizzarri, M. Zebrafish embryo proteins induce apoptosis in human colon cancer cells (Caco2). *Apoptosis*, 2006, 9, 1617-1628.
- 15 Livraghi, T.; Meloni, F.; Frosi, A.; Lazzaroni, S.; Bizzarri, M.; Fratini, L.; Biava, P.M. Treatment with stem cell differentiation stage factors of intermediate-advanced hepatocellular carcinoma: an open randomized clinical trial. *Oncol Res.*, 2005, 15 (7,8): 399-408.
- 16 Livraghi et. al. in special issue " Reprogramming of Normal and Cancer Stem Cells" P.M. Biava Guest Editor, *Current Pharmaceutical Biotechnology*, Vol. 12 N.2 febbraio 2011: 254-260.
- 17 Di Pierro F., Negri M., Bollero C. Terapia della psoriasi. Efficacia clinica di un preparato multicomponente. *Cosmetic Technology.*, 2009, 12 (2): 13-17
- 18 Harak H., Frosi A., Biava P.M. Studio clinico sull'efficacia e tollerabilità di una crema per uso topico nel trattamento della psoriasi. *La Medicina Biologica*....
- 19 Biava, P.M.; Bonsignorio, D. Cancer and cell differentiation: a model to explain malignancy. 2002, 17(3): 47-54
- 20 Biava P.M, Monguzzi A, Bonsignorio D, Frosi A, Sell S, Klavins J.V. *Xenopus Laevis* Embryos share antigens with Zebrafish Embryos and with human malignant neoplasms. *J. Tumor Marker Oncol.* 2001, 16; 203-206
- 21 Postovit, L.M.; Maragaryan, N.V.; Seftor, E.A. Human embryonic stem cell microenvironment suppress the tumorigenic phenotype of aggressive cancer cells. *Proc. Nat. Acad. Sci USA*, 2008, 18: 105-111.
- 22 Reya, T.; Morrison, S.J.; Clarke, M.F.; Weisman, I.L. Stem cells, cancer and cancer stem cells. *Nature*, 2001, 414(6859), 105-111.
- 23 Sato, A.; Sakurada, K.; Kumabe, T.; Sasajima, T.; Beppu, T.; Azano, K.; Ohkuma, H.; Ogawa, A.; Mizoi, K.; Tominaga, T.; Kitanaka, C.; Kayama, T. Association of stem cell marker CD133 expression with dissemination of glioblastoma. *Neurosurg. Rev.*, 2010, 33(2), 175-183.
- 24 Di Tommaso, T.; Mazzoleni, S.; Wang, E.; Sovena, G.; Claverna, D.; Franzin, A.; Mortini, P.; Ferrone, S.; Doglioni, C.; Marincola, F.M.; Galli, R.; Parmiani, G.; MacCalli, M. Immunobiological characterization of cancer stem cells isolated from glioblastoma patients. *Clin. Cancer Res.*, 2010, 16(3800-813).
- 25 Ji, J.; Black, K.C.; Yu, J.S. Glioma stem cell research for the development of immunotherapy. *Neurosurg. Clin. N. Am.*, 2010, 21(1). 159-166.
- 26 Chen, J.; Chen, Z.L. Technology update for the sorting and identification of breast cancer stem cells. *Chin. J. Cancer*, 2010, 29 (3), 265-269.
- 27 Roesler, R.; Cornelio, D.B.; Abujama, A.L.; Schwartzmann, G. HER2 as a cancer stem-cell target. *Lancet Oncol.*, 2010, 11(3), 225-226.
- 28 Wu, W. Patents related to cancer stem cell research. *Recent Pat. DNA Gene Seq.*, 2010, 4(1) 40-45.
- 29 Park, S.Y.; Lee, H.E.; Li, H.; Shipitsin, M.; Gelman, R.; Polyak, K. Heterogeneity for stem cell-related markers according to tumor subtype and histologic stage in breast cancer. *Cancer Res.*, 2010, 16(3), 876-887.
- 30 Lawson, J.C.; Blatch, G.L.; Edkins, A.L. Cancer stem cells in breast cancer and metastasis. *Cancer Res. Treat.*, 2009, 8(2), 241-254.
- 31 Luo, J.; Yin, X.; Ma, T.; Lu, J. Stem cells in normal mammary gland and breast cancer. *Am. J. Med. Sci.*, 2010, 339(4), 366-370.
- 32 Spiro, S.G.; Tanner, N.T.; Silvestri, G.A.; James, S.M.; Lim, E.; Vansteenkiste, J.F.; Pirker, R. Lung cancer: progress in diagnosis staging and therapy. *Respirolog*, 2010, 15(1), 44-50.
- 33 Gorelik, E.; Lokshin, A.; Levina, L. Lung cancer stem cells as target for therapy. *Anticancer Agents Med. Chem*, 2010, 10(2), 164-171.
- 34 Sullivan, J.P.; Minna, J.D.; Shay, J.W. Evidence for self-renewing lung cancer stem cells and their implications in tumor initiation, progression and targeted therapy. *Cancer Metastasis Rev.*, 2010, 29(1) 61-72.
- 35 Westhoff, B.; Colaluca, I.N.; D'Ario, G.; Donzelli, M.; Tosoni, D.; Volorio, G.; Pelosi, G.; Spaggiari, L.; Mazzarol, G.; Viale, G.; Pece, S.; Di Fiore, P.P. Alteration of the Notch pathway in lung cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, 87(3) 457-466.
- 36 Lawson, D.A.; Zong, Y.; Memarzadeh, S.; Xin, L.; Huang, J.; Witte, O.N. Basal epithelial stem cells are efficient targets for prostate cancer initiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010, 107(6), 2610-2615.
- 37 Lang, S.H.; Anderson, E.; Fordham, R.; Collin, A.T. Modeling the prostate stem cell niche: an evaluation of stem cell survival and expansion *in vitro*. *Stem Cells Rev.*, 2010, 19(4), 537-546.
- 38 Jung, J.Y.; Cho, K.S.; Kim, J.E.; Seo, H.K.; Ching, J.; Park, W.S.; Choi, M.K.; Lee, K.H. Prostate stem cell antigen mRNA in peripheral blood as a potential predictor of biochemical recurrence of metastatic prostate cancer. *J. Surg. Onc.*, 2010, 101(2), 145-148.
- 39 Liu, T.; Cheng, W.; Lai, D.; Huang, Y.; Guo, L. Characterization of primary ovarian cancer cells in different culture systems. *Oncol. Rep.*, 2010, 23(5), 1277-1284.
- 40 Fong, M.Y.; Kakar, S.S. The role of cancer stem cells and the side population in epithelial ovarian cancer. *Histol. Histopatol*, 2010, 25(1), 113-120.
- 41 Murphy, S.K. Targeting ovarian cancer initiating cells. *Anticancer Agents*, 2010, 10(2), 157-163.
- 42 Pen, S.; Mahile, N.J.; Huang, Y. Pluripotency factors Lin 28 and Oct 4 identify

- a sub-population of stem cell-like cells in ovarian cancer. *Oncogene*, 2010, 29(14), 2153-2159.
- 43 Kusumbe, A.P.; Bapat, S.A. Cancer stem cells and aneuploid populations within developing tumors are the major determinants of tumor dormancy. *Cancer Res.*, 2009, 69(24) 9245-9253.
- 44 Tomuleasa, C.; Soritau, O.; Rus-Ciuca, D.; Pop, T.; Todea, D.; Mosteanu, O.; Pinteau, B.; Foris, V.; Susman, S.; Kacso, G.; Irimie, A. Isolation and characterization of hepatic cells with stem-like properties from hepatocellular carcinoma. *J. Gastrointestin. Liver Dis.*, 2010, 19(1), 61-67.
- 45 Zou, G.M. Liver cancer stem cells as an important target in liver cancer therapies. *Anticancer Agents Med. Chem.*, 2010, 10(2), 172-175.
- 46 Lee, T.K.; Castilho, A.; Ma, S.; Ng, I.O. I. Liver cancer stem cells: implication for new therapeutic target. *Liver Intern.* 2009, 29(5), 955-965.
- 47 Marquardt, J.U.; Thorgeirsson, S.S. Stem Cells in hepatocarcinogenesis: evidence from genomic data. *Semin Liver Dis.*, 2010, 30(1), 26-34.
- 48 Kung, J.W.; Currie, I.S.; Forbes, S.J.; Ross, J.A. Liver development, regeneration, and carcinogenesis. *J. Biomed. Biotechnol.*, 2010, 30(1), 26-34.
- 49 Gai, H.; Nguyen, D.M.; Moon, Y.J.; Aguila, J.R.; Fink, L.M.; Ward, D.C.; Ma, Y. Generation of murine hepatic lineage cells from induced pluripotent stem cells. *Differentiation*, 2010, 79(3) 171-181.
- 50 Correia, M.; Machado, J.C.; Ristimaki, A. Basic aspects of gastric cancer. *Helicobacter*, 2009, 14(1), 36-40.
- 51 Takaishi, S.; Okumura, T.; Tu, S.; Wang, S.S.; Shibata, W.; Vigneshwaran, R.; Gordon, S.A.; Shimada, Y.; Wang, T.C. Identification of gastric cancer stem cells using the surface marker CD44. *Stem Cells*, 2009, 59(5), 106-120.
- 52 Nishii, T.; Yashiro, M.; Shinto, O.; Sawada, T.; Ohira, M.; Hirakawa, K. Cancer stem cell-like SP cells have a high adhesion ability to the peritoneum in gastric carcinoma. *Cancer Sci.*, 2009, 100(8), 1397-1402.
- 53 Chen, Z.; Xu, W.R.; Quian, H.; Zhu, W.; Bu, X.F.; Wang, S.; Yan, Y.M.; Mao, F.; Gu, H.B.; Cao, H.L.; Xu, X.J. Oct4 a novel marker for human gastric cancer. *J. Surg. Oncol.*, 2009, 34(5), 1201-1207.
- 54 Kang, D.H.; Han, M.E.; Song, M.H.; Lee, Y.S.; Kim, E.H.; Kim, H.J.; Kim, G.H.; Kim, D.H.; Yoon, S.; Baek, S.Y.; Kim, B.S.; Kim, G.B.; Oh, S.O. The role of hedgehog signaling during gastric regeneration. *J. Gastroenterol.*, 2009, 44(5), 372-379.
- 55 Yeung, T.M.; Ghandhi, S.C.; Wilding, J.L.; Muschel, R.; Bodmer, W.F. Cancer stem cells from colorectal cancer derived cell lines. *Proc. Natl. Sci. USA*, 2010, 107(8), 3722-3727.
- 56 Gulino, A.; Ferretti, E.; De Smaele, E. Hedgehog signaling in colon cancer and stem cells. *EMBO*, 2009, 1(6-7) 300-302.
- 57 Thenappen, A.; Li, Y.; Shetty, K.; Johnson, L.; Reddy, E.P.; Mishra, L. New therapeutic targeting colon cancer stem cells. *Curr. Colorectal Cancer Rep.*, 2009, 5(4), 209.
- 58 Rasheed, Z.A.; Yang, J.; Wang, Q.; Kowalski, J.; Freed, I.; Murter, C.; Hong, S.M.; Kostrza, J.B.; Rajeshkumar, N.V.; He, X.; Goggins, M.; Iacobuzio-Donahue, C.; Berman, D.M.; Laheru, D.; Jimeno, A.; Hidalgo, M.; Maitra, A.; Matsui, W. Prognostic significance of tumorigenic cells with mesenchymal features in pancreatic adenocarcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2010, 102(5), 340-351.
- 59 Puri, S.; Hebrok, J. Cellular plasticity within pancreas-lessons learned from development. *Dev. Cell.*, 2010, 18(3), 342-356.
- 60 Quante, M.; Wang, T.C.; Stem cells in gastroenterology and hepatology. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, 2009, 6(12), 724-737.
- 61 Ailles, L.; Prince, M. Cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Methods Mol. Biol.*, 2009, 568, 175-193.
- 62 Zhang, P.; Zhang, Y.; Mao, L.; Zhang, Z.; Chen, W. Side population in oral squamous cell carcinoma possesses tumor stem cell phenotype. *Cancer Lett.*, 2009, 277(2), 227-234.
- 63 Brunner M.; Thurnher, D.; Heiduschka, G.; Grasl, MCh.; Brostjan, C.; Erovic, BM. Elevated levels of circulating endothelial progenitor cells in head and neck cancer patients. *J. Surg. Oncol.*, 2008, 98(7), 545-550.
- 64 Zhang, Q.; Shi, S.; Yen, Y.; Brown, J.; Ta, J.Q.; Le, A.D. A subpopulation of CD133(+)-cancer stem-like cells characterized in human oral squamous cell carcinoma confer resistance to chemotherapy. *Cancer Lett.*, 2010, 289(29), 151-160.