

KARCINOGENEZA – NASTANEK RAKASTIH CELIC

Srdjan Novaković

Onkološki inštitut Ljubljana

Povzetek

Rakasta pretvorba celice je odvisna od skupnega delovanja mutagenih snovi – iniciatorjev in nemutagenih snovi – promotorjev. Skupaj prizadenejo ekspresijo genov (še posebej je pomembna ekspresija regulatornih genov), stimulirajo celično proliferacijo in spodbujajo delitev tistih celic, ki imajo poškodovano DNA. Med bolj znanimi snovmi, ki povzročajo nastanek raka, so karcinogeni dejavniki kemičnega izvora, razni virusi in različne vrste sevanja, kot so UV svetloba in ionizirajoče sevanje. V nastanek raka sta vpleteni predvsem dve skupini genov in sicer protoonkogeni in tumorski supresorski geni. Prvi so med procesom karcinogeneze spodbujeni k čimvečji ekspresiji, medtem ko so drugi spremenjeni na takšen način, da je njihova ekspresija zmanjšana ali da je njihov produkt funkcionalno neaktiven. Na sam proces karcinogeneze vplivajo tudi drugi dejavniki, ki ne povzročajo sprememb v nukleotidnem zaporedju DNA in jih imenujemo epigenetski dejavniki.

Uvod

Prve korake k razumevanju karcinogeneze predstavljajo opažanja kirurga Percivala Potta iz sredine 18. stoletja. Opisal je povezavo med številom bolnikov z rakom skrotuma in kronično izpostavljenostjo sajam pri dimnikarjih. Na potrditev tovrstnih povezav smo morali čakati do 50-ih let prejšnjega stoletja, ko so profesionalno izpostavljenost delavcev v tekstilni in usnjarski industriji, ter proizvodnji različnih barvil in gume, povezali s povečanim številom obolelih za rakom mehurja. Vzroke za nastanek tega raka so pripisali aromatičnim spojinam – aminom, ki so jih s pridom uporabljali v omenjenih industrijskih panogah brez kakršnekoli zaščite.

Danes, več kot 50 let po teh odkritjih, še vedno ne poznamo vseh podrobnosti, ki bi razkrivale natančen potek procesa nastanka raka. Najnovejše študije s tega področja so nedvoumno potrdile obstoj na stotine dejavnikov, ki s svojim delovanjem lahko preusmerijo normalno celico na pot rakaste pretvorbe. Vse te dejavnike, ki so sposobni izzvati nastanek rakaste celice, imenujemo karcinogeni dejavniki. Proces, v katerem se normalna celica preoblikuje v rakasto, pa imenujemo karcinogeneza ali onkogeneza.

Karcinogeneza kot večstopenjski proces

Sam proces karcinogeneze je dolgotrajen in zapleten. Na splošno govorimo o treh osnovnih stopnjah, ki vključujejo vrsto različnih podstopenj: **i) iniciacija, ii) promocija in iii) progresija**. Ob predpostavki, da tumor nastaja iz ene same spremenjene celice, je jasno, da je prvi pogoj za kopičenje in izražanje nastalih sprememb v celici njihovo dedovanje v naslednjih generacijah celic. Ob tem zapletenem procesu govorimo o dvojni vlogi karcinogenih dejavnikov. Prva vrsta karcinogenih dejavnikov deluje kot mutageni impulz in neposredno spremeni celični genetski zapis. S tem povzroči mutacije, ki se prenašajo na naslednje generacije celic. Druga vrsta karcinogenih dejavnikov vpliva na vzorce izražanja cele vrste genov, ki spremenijo izražanje nekaterih kritičnih genov (ter nastanek in delovanje njihovih produktov) brez neposrednega vpliva na DNA zaporedje. Ta način delovanja imenujemo epigenetsko delovanje. Prav tako pri epigenetskih spremembah kot pri genetskih spremembah je potrebno, da se novi vzorec »vtisne v na novo zasnovan celični spomin« in se kot tak prenese v naslednje generacije celic.

Da bi celica »zaživela« kot rakasta celica, mora torej nakopičiti celo vrsto sprememb in si pridobiti lastnosti, ki jo naredijo relativno neodvisno od ustaljenih mehanizmov v normalnih celicah. Ker so ti mehanizmi odvisni od vrste celice oz. tkiva, iz katerega celica izhaja, so kombinacije sprememb oz. lastnosti, ki jih rakasta celica mora pridobiti, različne za različne vrste raka. Na splošno lahko strnemo vse te lastnosti rakastih celic v nekaj kategorij. **1) Samozadostnost za lastno proliferacijo**. To pomeni, da so vsi (ali vsaj večina) potrebni signali za podvojevanje regulirani znotraj same celice neodvisno od okolja in signalov iz okolja. **2) Neodzivnost na signale, ki uravnavajo število celičnih delitev**. Vsaka celica ima v svojem »spominu« vgrajeno določeno število celičnih delitev. To število je skrbno uravnavano preko različnih mehanizmov, ki se aktivirajo z diferenciacijo in s »staranjem« celice. Rakasta celica se preprosto izogne delovanju teh mehanizmov in se nekontrolirano deli. **3) Neodzivnost na signale, ki sprožajo apoptozo**. Ob hujših napakah na celični DNA se v normalni celici sprožijo popraviljalni mehanizmi, ki bodisi napako popravijo, bodisi celico - ob večjih napakah preusmerijo v programirano celično smrt - apoptozo. Celica mora na svoji poti maligne transformacije postati neodzivna na te mehanizme, da bi omogočila prenos mutacije in njeno izražanje v hčerinskih celicah. S tem si rakasta celica pridobi še eno pomembno lastnost in to je **4) Genetska nestabilnost**. To pomeni, da so rakaste celice mnogo bolj dojemljive za razne spremembe, kar jim omogoča hitrejšo in boljše prilagajanje na vplive iz okolja. **5) Preureditev tvorbe citokinov in izražanja celičnih antigenov**. S prilagoditvijo tvorbe citokinov in izražanjem antigenov si celica zagotovi dve stvari hkrati: slabšo prepoznavnost za imunski sistem in s tem imunsko neodzivnost, ter neposredno delovanje na celice v okolju. Pomembna je njihova produkcija angiogenih dejavnikov, ki omogočajo neovaskularizacijo tumorskega tkiva. **6) Zmožnost prehoda rakastih celic v limfni in krvni obtok**. Razvoj ožilja v

tumorju omogoča tudi razširitev bolezni v oddaljene organe – metastaziranje.

7) Pritrditev v drugih organih in ponovna klonalna rast.

Glede na procese, ki so vpleteni v nastanek raka in na čas potreben, da se vsi dogodki zgodijo, se je dolgo časa govorilo o raku kot o bolezni starostnikov. Danes o raku ne govorimo samo kot o bolezni starostnikov, pač pa kot o genski bolezni, ki se izraža na dva različna načina. To sta - kot posledica somatskih mutacij - **sporadični rak** ali kot posledica mutacij v spolnih celicah - **dedni rak**. Ob upoštevanju kompleksnosti nastanka rakaste celice ter števila potrebnih dogodkov, da si celica zagotovi vse spremembe in uspešno konča pot maligne preobrazbe, je jasno, da preko spolnih celic podedovane mutacije, ki destabilizirajo genom, močno skrajšajo sam proces nastanka raka. Zato je za vse dedne rake značilno, da nastanejo mnogo prej kot sporadični primeri in da so osebe prizadetih družin mnogo bolj ogrožene za različne vrste raka.

Karcinogeni dejavniki

V grobem ločimo karcinogene dejavnike na fizikalne, kemične in biološke. Skupna lastnost vseh ne glede na izvor je, da spremenijo celično DNA. Spremenijo jo bodisi tako, da izzovejo mutacije – mutageni dejavniki, ali da spremenijo izražanje genov brez poseganja v strukturo DNA – epigenetski dejavniki.

Epigenetski dejavniki se izražajo predvsem tako, da celico vzpodbujajo in jo konstantno silijo v ekspresijo določenih genov. Med karcinogenezo se spremeni metilacija protoonkogenov, tumorskih supresorskih genov ter genov, ki so odgovorni za DNA popravilne mehanizme v celici. Hipermetilirajo in s tem utišajo se tumorski supresorski geni ter geni odgovorni za popraviljanje nastalih napak na DNA. Hipometilirajo in s tem aktivirajo pa se protoonkogeni in geni odgovorni za tumorsko metastaziranje. Sam proces metilacije naj bi bil tudi neposredno povezan z nastankom mutacij. Tako naj bi hipermetilacija predpogojevala nastanek točkovnih mutacij, mutacij zaradi spremembe bralnega okvirja, mutacij z drugim pomenom in delecij. Vse našete mutacije pripeljejo do izgube funkcije genov. Nasprotno pa naj bi bila hipometilacija možen vzrok za kromosomske mutacije (preureditve in aneuploidijo), ki potencirajo izražanje ponovljenih genov.

Fizikalni karcinogeni dejavniki delujejo na strukturo DNA z različnimi visokoenergetskimi delci. Pri tem lahko neposredno poškodujejo celično DNA ter povzročijo mutacije ali pa le-te sprožijo z delovanjem prostih radikalov, ki so nastali po obsevanju. Vsaka vrsta sevanja je lahko potencialno nevarna za strukturo DNA, vendar med bolj raziskane prištevamo UV svetlobo in ionizirajoče sevanje.

Kemični karcinogeni dejavniki delujejo na dva načina: **i)** tako, da z vezavo na nukleotide v DNA destabilizirajo vezi med komplementarnimi nukleotidi ali **ii)** kot dejavniki, ki se vežejo med nukleotidi in povzročijo napake pri podvoje-

vanju DNA. Med pomembnejše karcinogene dejavnike prištevamo aflatoksine, heterociklične aromatske amine, benzopirene, *N*-nitrozamine, katrane in akrilamid.

Med biološke karcinogene dejavnike prištevamo predvsem razne viruse. Na celično DNA delujejo na dva načina: **i**) neposredno povzročijo mutacije ob svojem pomnoževanju ali **ii**) posredno s svojimi promotorji vplivajo na izražanje določenih genov. Med pomembnejše viruse, za katere obstajajo dokazi o karcinogenem delovanju, spadajo virus hepatitisa B (hepatocelularni karcinom), Epstein Barrov virus (Burkittov limfom, nazofaringealni karcinom), humani T limfocitotropni virus 1 (HTLV-1 – T celična levkemija/limfom odraslih) ter virus humane imunske pomanjkljivosti (HIV – Kaposijev sarkom).

Protoonkogeni in tumorski supresorski geni

Gene, ki so neposredno vpleteni v nastanek karcinogeneze, lahko v grobem razdelimo na skupino, ki je odgovorna za celično delitev ter podvojevanje DNA in skupino, ki je odgovorna za preverjanje podvojene DNA ter nadzor celičnega ciklusa. Med prve prištevamo protoonkogene, ki spadajo med t.i. zgodnje celične gene, med druge pa tumorske supresorske gene.

Onkogeni, ki so pravzaprav spremenjeni protoonkogeni, vključujejo gene, ki kodirajo za različne rastne faktorje, receptorje ali signalne prenašalce in jedrne transkripcijske faktorje. V to skupino uvrščamo več kot 100 različnih genov. Med procesom maligne transformacije se ponavadi spremenijo v promotorskih regijah, kar ima za posledico nekontrolirano prepisovanje in nastajanje produkta. Na njihovo stopnjo izražanja poleg mutacij odločilno vpliva stopnja metilacije. Med onkogene s pomembnim vplivom na nastanek raka uvrščamo skupini *ras* in *myc* onkogenov. Proteini, ki jih kodirajo *ras* onkogeni, so na celičnih membranah in so soudeleženi pri prenosu signalov tako za rastne faktorje kot za mitogene dejavnike. Za razliko od proteinov, ki jih kodira *ras*, so proteini, ki jih kodira *myc*, jedrni fosfoproteini (*c-myc*, *N-myc* in *L-myc*). Ti proteini so pomembni transkripcijski faktorji za različne gene.

Za razliko od protoonkogenov, ki se med karcinogenezo prekomerno izražajo, so tumorski supresorski geni neaktivni. Inaktivirajo se na dva načina: tako, da je prisotna mutacija v delu, ki kodira strukturne proteine ali tako, da je regulatorna regija hipermetilirana. V obeh primerih je rezultat enak – odsotnost aktivnega proteina, ki bi kontroliral celični ciklus in preverjal pravilnost podvojene DNA. V prvem primeru je vzrok neaktiven mutiran protein in v drugem blokirana transkripcija gena. Zanimivo je, da se ta dva mehanizma pri tumorskih supresorskih genih velikokrat dopolnjujeta. Tako je pri tistih osebah, ki so podedovale mutacijo v enem alelu tumorskih supresorskih genov, najpogostejši razlog za neaktivnost drugega alela prav hipermetilacija. Težko je reči, kateri od tumorskih supresorskih genov je najpomembnejši, kajti vsi so pomembni. Zato se bom omejil le na tiste, ki so najbolj znani in raziskani. Retinoblastomski gen – *Rb* so prvič opisali na začetku 90-ih let in predstavlja prototip tumorskega supresorskega gena. Neaktivnost tega gena ima za

posledico nekontrolirano celično delitev (natančneje prehod v S fazo celičnega ciklusa). *p53* nosi tudi ime »varuh genoma« in ima verjetno najbolj pomembno funkcijo med vsemi tumorskimi supresorskimi geni. Za razliko od *Rb*, ki so ga dokazali mutiranega v glavnem pri retinoblastomu, je mutiran *p53* povezan z nastankom vsaj polovice znanih malignih bolezni. Tudi vloga *p53* je nekoliko drugačna od vloge *Rb*. Medtem ko predstavlja *Rb* predvsem kontrolni gen za celično delitev, je *p53* nekakšna zasilna zavora, ki deluje tako na regulacijo celičnega ciklusa kot tudi na aktivacijo apoptoze v primeru, da popravilni mehanizmi niso uspešno opravili svoje naloge. Poleg *Rb* in *p53* velja omeniti vsaj še *BRCA1* in *BRCA2* kot tumorska supresorska gena povezana z dednim rakom dojke, ter *APC* in *DCC* pri karcinomih širokega črevesa.

Zaključek

Karcinogeneza je kompleksen proces, med katerim mora priti do radikalnih sprememb na celični DNA. Pri tem je pomembno, da spremembe nastanejo tako na protoonkogenih kot tudi na tumorskih supresorskih genih. Vse nastale spremembe morajo biti ireverzibilne in se morajo kot take prenesti na naslednjo generacijo celic. Po iniciaciji karcinogenih sprememb še ne govorimo o rakasti celici, kajti za to je potrebna še faza promocije, ko se spremenjena celica deli in tako izraža vse pridobljene nove lastnosti. Natančnih mehanizmov in povezav o tem, kateri geni morajo biti spremenjeni za razvoj določene vrste raka, še ne poznamo. Zato so novejša raziskava usmerjene prav v odkrivanje pomembnih genskih povezav med nastankom raka kot tudi (ali celo predvsem) v to, katere so tiste celice, ki imajo možnost nadaljevanja in ponovitve klona v oddaljenih organih. Vsa ta dejstva so osnova za razumevanje biologije raka in učinkovito zdravljenje in preventivo.

Viri in literatura

1. DeVita TV, Hellman S, Rosenberg AS, editors. Principles and practice of Oncology 7th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
2. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P, editors. Molecular biology of the cell 4th edition. New York: Garland Science; 2002.
3. Rubin P, editor. Clinical Oncology. A Multidisciplinary Approach for Physicians and Students 7th edition. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1993.
4. Karpinets TV, Foy BD. Tumorigenesis: the adaptation of mammalian cells to sustained stress environment by epigenetic alterations and succeeding matched mutations. *Carcinogenesis* 2005; 26: 1323-34.
5. Kisseljova NP, Kisseljev FL. DNA demethylation and carcinogenesis. *Biochem* 2005; 70: 743-52.