

Απόπτωση, καρκίνος και θεραπεία

Νακοπούλου Α., Μιχαλοπούλου Α.

Τα τελευταία χρόνια, νέες προοπτικές διαφάνηκαν στο πεδίο της θεραπείας του καρκίνου, όταν αναγνωρίστηκε ότι οι μηχανισμοί ρύθμισης του κυτταρικού θανάτου παίζουν εξίσου σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση με τους μηχανισμούς ελέγχου του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Η απόπτωση αποτελεί ένα ενδογενές πρόγραμμα κυτταρικής αυτοκτονίας απαραίτητο για την εξάλειψη ανεπιθύμητων κυττάρων και για τη διατήρηση της ομοιόστασης των ιστών. Η ρύθμισή της είναι εξαιρετικά πολύπλοκη και πλήθος γονιδίων συμμετέχουν σε αυτή. Τα γονίδια αυτά διακρίνονται σε εκείνα που προάγουν την απόπτωση (*p53*, *c-myc*, *E2F*, *Fas*, *Bax*, *Bad*, *Bak*, *Bcl-Xs*) και σε εκείνα που την αναστέλλουν (*Bcl-2*, *Bcl-XL*, *Bcl-w*, *MCL-1*, *A-I*, *crmA*, *p35*). Απόπτωση συναντάται στα περισσότερα κακοήδη νεοπλασμάτα και υψηλός αποπτωτικός δείκτης έχει παρατηρηθεί σε ταχέως αναπτυσσόμενους όγκους. Οι διάφορες μορφές θεραπείας του καρκίνου (χημειοθεραπεία, ακτινοθεραπεία, ορμονοθεραπεία) είναι σε δέση, κάτω από ορισμένες συνθήκες, να προάγουν την απόπτωση. Νέες δυνατότητες θεραπευτικής παρέμβασης δημιουργούνται με την κατανόηση της βιοχημείας και της γενετικής της απόπτωσης. Στόχος αυτών είναι αφενός μεν, η αύξηση του αυτόματου κυτταρικού θανάτου στα κύτταρα του όγκου και αφετέρου, η μείωση της αντοχής των νεοπλασματικών κυττάρων στις διάφορες μορφές θεραπείας. Οι στόχοι αυτοί θα επιτευχθούν αν αυξηθεί η έκφραση των γονιδίων που προάγουν την απόπτωση, με φάρμακα τα οποία θα προκαλούν υπερέκφραση του φυσικού στελέχους του *p53* ή θα μιμούνται τη δράση του ή θα δρουν ως αντισώματα *Fas*, που πυροδοτούν την απόπτωση. Στο ίδιο αποτέλεσμα στοχεύει η ανεύρεση φαρμάκων τα οποία θα αναστείλουν την έκφραση του *bcl-2*. Ομοίως η μείωση της έκφρασης μεταλλαγμένων γονιδίων, όπως ο μεταλλαγμένος τύπος του γονιδίου *p53* ή το χιμαιρικό γονίδιο *Bcr-Abl* της χρονίας μυελογενούς λευχαιμίας, θα είχε ανάλογα αποτελέσματα. Μελλοντικές έρευνες στο πεδίο της απόπτωσης θα βοηθήσουν σημαντικά στη θεραπεία του καρκίνου.

Από τα κυριότερα χαρακτηριστικά ενός όγκου είναι η αύξηση του αριθμού των κυττάρων. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να οφείλεται σε αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή σε ελαττωμένο κυτταρικό θάνατο ή και στα δύο. Προηγούμενες μελέτες που αφορούν την ογκογένεση έχουν εστιαστεί στις ανωμαλίες του πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Πρόσφατα η μοριακή βιολογία έδειξε ότι οι ανωμαλίες που

συμβαίνουν στον έλεγχο του κυτταρικού θανάτου και της επιβίωσης έχουν μεγάλη σημασία στην ογκογένεση.

Κατά τη διάρκεια των τριών τελευταίων δεκαετιών έχουν οριστεί δύο διαφορετικοί τύποι κυτταρικού θανάτου με βάση τη μορφολογία, τη βιοχημεία και τη συχνότητα: η απόπτωση και η νέκρωση. Η απόπτωση είναι μια γενετικά καθορισμένη ενεργός διαδικασία με βιολογική σημασία, η οποία παίζει ρόλο αντίθετο της μίτωσης στην ρύθμιση του μεγέθους των ιστών. Η απόπτωση σχηματίζει όργανα κατά τη διάρκεια της μορφογένεσης των δηλαστικών και απομακρύνει τα κύτταρα που είναι ανοσολογικά αντιδρώντα εναντίον του εαυτού τους, καθώς και μολυσμένα ή γενετικά αλλοιωμένα των οποίων η συνεχιζόμενη ύπαρξη θέτει σε κίνδυνο τον άνθρωπο. Η νέκρωση αντίθετα είναι μια τυχαία παθητική διαδικασία που έχει σαν αποτέλεσμα την προοδευτική διάλυση των κυτταρικών δομών. Αυτή συμβαίνει μετά από μη αναστρέψιμη βλάβη που οφείλεται σε περιθαντολογικές αλλαγές, όπως η απότομη και σοβαρή ισχαιμία, οι ακραίες δερμοκασίες και τα μηχανικά τραύματα (1). Στη βιολογία του καρκίνου, γίνεται ολοένα πιο εμφανές ότι πολλά καρκινικά κύτταρα αναχαιτίζουν τους φυσιολογικούς αποπτωτικούς μηχανισμούς για να εμποδίσουν την αυτοκαταστροφή, η οποία θα ήταν ενδεδειγμένη εξαιτίας των πολλών μεταλλάξεων που φιλοξενούν.

Πράγματι, η αποδυνάμωση της απόπτωσης και άλλων παρόμοιων μηχανισμών μπορεί να έχει δεμελιώδη σημασία στο να επιτραπεί η ανάπτυξη των κακοήδων και μεταστατικών φαινοτύπων².

Ο Αυστραλός παθολογοανατόμος Kerr και ο Currie Καθηγητής της Παθολογικής Ανατομικής του Aberdeen της Σκωτίας περιέγραψαν το 1970 ένα διαφορετικό κυτταρικό θάνατο από τα ευρήματα πειραματικών μελετών. Οι μελέτες αυτές στηρίχθηκαν στα ευρήματα από HM. Το 1972 οι Kerr, Wyllie και Currie αναγνωρίζοντας ότι ο όρος νέκρωση ήταν ακατάλληλος για να περιγράψει τον ενεργητικό θάνατο που συνέβαινε κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, πρότειναν τον όρο "απόπτωση" εμπνευσμένοι από τους στίχους της Ιλιάδας "ως τα φύλλα που ο άνεμος χαμάδις χέει". Από τότε ο όρος "απόπτωση" χρησιμοποιήθηκε πολλές φορές ως συνώνυμος του όρου "προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος"^{3,4}.

Η απόπτωση έτυχε την πρώτη της αναγνώριση με την ανακάλυψη της ενδοπυρηνικής δραύσης του DNA που επιτεύχθηκε με την αύξηση της ενδονουκλεάσης κατά τη διάρκεια της απόπτωσης και όχι της νέκρωσης⁴. Ο τύπος αυτός της δραύσης του DNA έγινε με την ανακάλυψη το 1972 από τον Wyllie μιας ενδονουκλεάσης. Το εύρημα αυτό έπεισε πολλούς ερευνητές ότι η απόπτωση είναι η εκδήλωση ή το αποτέλεσμα μιας βιοχημικής διαδικασίας.

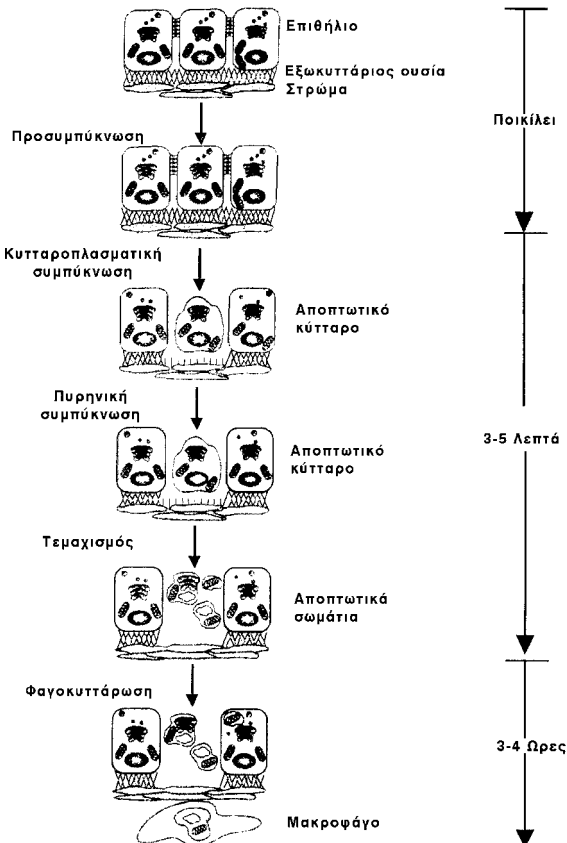
Η απόπτωση σχετίζεται με ένα ευρύ φάσμα ερεδισμάτων φυσιολογικών και παθολογικών. Στα φυσιολογικά ερεδίσματα εντάσσονται η επίδραση ορμονών ή άλλων παραγόντων (π.χ. αυξητικοί παράγοντες, TNF, νευροδιαβιταστές, ουσίες συνδετικού υποστρώματος) κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης ή υποστροφής ιστών καθώς και κατά την ωρίμανση οργανικών συστημάτων όπως του ανοσοποιητικού συστήματος. Στα παθολογικά ερεδίσματα περιλαμβάνονται η ιονίζουσα ακτινοβολία, τα κυτταροτοξικά φάρμακα και η ισχαιμία¹.

Λέξεις-κλειδιά: Απόπτωση, καρκίνος, χημειοθεραπεία

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Η απόπτωση είναι μια ταχύτατη διαδικασία κατά την οποία το κύτταρο εξαφανίζεται σε 4 ώρες. Παρόλο που τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της απόπτωσης είναι ορατά, μόνο ένα μικρό ποσοστό αποπτωτικών κυττάρων παρατηρείται σε ένα ιστό, σε σχέση με τη μεγάλη απώλεια κυττάρων που προκαλείται.

Η αρχική φάση της απόπτωσης χαρακτηρίζεται μορφολογικά στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο από πύκνωση και περιφερική διάταξη της χρωματίνης στην πυρηνική μεμβράνη και ακολουθείται από κερματισμό του πυρήνα⁵. Το κυτταρόπλασμα παρουσιάζει και αυτό πύκνωση και σχηματίζει πτυχώσεις οι οποίες περιβάλλουν τα τμήματα των πυρήνων. Επέρχεται στη συνέχεια διάσπαση του κυττάρου σε αποπτωτικά σώματα τα οποία αποτελούν τμήματα κυτταροπλάσματος και πυρήνα που περιβάλλονται από μεμβράνη^{6,7} (Σχήμα 1).



Σχήμα 1. Σχηματική παράσταση των σταδίων της απόπτωσης.

Ιστολογικά τα αποπτωτικά σώματα φαίνονται σαν στρογγυλές και ωοειδείς κυτταροπλασματικές μάζες που περιέχουν ή δεν περιέχουν βασεόφιλο πυρηνικό υλικό. Τα μεγαλύτερα διάκριτα αποπτωτικά σώματα έχουν αναγνωριστεί από παλιά σε φυσιολογικούς και παθολογικούς ιστούς και έχουν πάρει διάφορες ονομασίες. Τέτοιες είναι τα σώματα Councilman στο ήπαρ, τα καρνολυτικά σώματα στις εντερικές κρύπτες, τα σώματα Civatte στον ομαλό λειχήνα κ.α. Τα αποπτωτικά σώματα στη συνέχεια φαγοκυτταρώνονται γρήγορα από τα γειτονικά κύτταρα ή τα μακροφάγα και καταβολίζονται από τα ένζυμα των λυσοσωμάτων^{6,7}. Το μικρό μέγεθος και το σύντομο χρονικό διάστημα της ζωής των αποπτωτικών σωμάτων καθώς και η απουσία φλεγμονής κάνουν σχετικά ασαφή, ιστολογικά, την απόπτωση. Ακόμη και μικρή αύξηση στο ποσοστό της απόπτωσης σε έναν ιστό μπορεί να αντιπροσωπεύει σημαντικές κυτταρικές απώλειες⁸. Το κλείσιμο της συνέχειας των κυττάρων από υπολειμματικά κύτταρα έχει σαν αποτέλεσμα τη συρρίκνωση του συμπαγούς ιστού, με μικρή συνήθως διαταραχή της φυσιολογικής αρχιτεκτονικής.

Έτσι η απόπτωση είναι φυσιολογικός κυτταρικός θάνατος ο οποίος συμβαίνει σε μεμονωμένα κύτταρα με ελεγχόμενο μηχανισμό χωρίς απώλεια της ακεραιότητας του κυττάρου και χωρίς φλεγμονή. Η νέκρωση αντίθετα είναι παθολογικός κυτταρικός θάνατος που συμβαίνει σε ομάδες κυττάρων και οφείλεται σε γενικευμένη έκπτωση των κυτταρικών ρυθμιστικών μηχανισμών λόγω επίδρασης σοβαρού κυτταρικού τραύματος. Η νέκρωση προκαλείται λόγω διαταραχής της ισορροπίας ιόντων και νερού που έχει σαν συνέπεια την αδυναμία διατήρησης της ακεραιότητας των μεμβρανών με επακόλουθο την απελευθέρωση των ενδοκυττάρων ενζύμων. Τα ένζυμα αυτά προκαλούν λύση των κυττάρων και έκλυση του περιεχομένου των στο διάμεσο ιστό με επακόλουθο την ανάπτυξη αντιδραστικής φλεγμονής (Πίνακας 1).

ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Οι τεχνικές διαπίστωσης της απόπτωσης βασίζονται στην ανίχνευση των πολλαπλών διανουκλεοσωματικών κλασμάτων του DNA. Οι τεχνικές αυτές είναι η **ηλεκτροφόρηση** του DNA που απομονώνεται από νεοπλασματικό ιστό

Πίνακας 1. Μορφολογικές και βιοχημικές διαφορές μεταξύ απόπτωσης και νέκρωσης

Απόπτωση	Νέκρωση
Σε μεμονωμένα κύτταρα Δεν διαταράσσεται η ακεραιότητα των μεμβρανών	Ομάδες κυττάρων Διαταράσσεται η ακεραιότητα των μεμβρανών Αύξηση του όγκου του κυττάρου
Ελάττωση του όγκου του κυττάρου Διατηρείται η ακεραιότητα των κυτταροπλασματικών οργανιδίων Η χρωματίνη συμπυκνώνεται σε μεγάλη μάζα Μη τυχαίος τεμαχισμός του DNA Το κύτταρο διασπάται σε μικρά τεμαχίδια → αποπτωτικά σωμάτια Φαγοκυττάρωση από μακροφάγα και γειτονικά κύτταρα	Παρουσιάζουν εξοίδηση Σε μικρές αδροίσεις Τυχαία διάσπαση του DNA Καταστροφή του κυττάρου Φαγοκυττάρωση από μακροφάγα του διάμεσου υποστρώματος Φλεγμονώδη αντίδραση Προκαλείται από μη φυσιολογικές επιδράσεις
Οχι φλεγμονώδη αντίδραση Προκαλείται από φυσιολογικά ερεθίσματα Είναι ρυθμιζόμενη επεξεργασία με στάδιο σύνδεσης και ενεργοποίησης Χρειάζεται ενέργεια De novo μεταγραφή γονιδίων	Απώλεια ρύθμισης της ιοντικής ομοιόστασης Δεν χρειάζεται ενέργεια Δεν γίνεται μεταγραφή άλλων γονιδίων

και δίνει χαρακτηριστική εικόνα επιχρίσματος.

Τεχνική in situ σήμανσης των αποπτωτικών κυττάρων η οποία επιτρέπει την εντόπισή τους με μεγάλη ευαισθησία και ειδικότητα. Η τεχνική αυτή βασίζεται στη σύνδεση των 3 άκρων των διανουκλεωσωματικών κλασμάτων του DNA σε σημασμένα νουκλεοτίδια που επιτυγχάνεται με τη βοήθεια εξωγενών ενζύμων. Δύο μέθοδοι in situ σήμανσης αναφέρονται ανάλογα με το είδος του χρησιμοποιούμενου ενζύμου, η μέθοδος TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated d-UTP nick end labeling) και η μέθοδος ISEL (in situ end labeling).

Η **τεχνική αννεξίνης V** χρησιμοποιείται κυρίως για τον προσδιορισμό του ρυθμού απόπτωσης των αιματολογικών παθήσεων.

ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

Πιστεύεται σήμερα ότι στην απόπτωση συμβαίνει μια σειρά βιοχημικών γεγονότων τα οποία τελικά οδηγούν το κύτταρο στο θάνατο. Αναγνωρίζονται δύο τουλάχιστον μηχανισμοί που οδηγούν στην πρόκληση της απόπτωσης⁹:

1) **Θάνατος από απώλεια:** Το αποπτωτικό πρόγραμμα το οποίο εκφράζεται¹⁰, πυροδοτείται με ένα παθητικό τρόπο όταν τα κύτταρα χάνουν τις μεσοκυττάρειες επαφές¹¹ ή όταν απομακρύνονται από τροφικούς παράγοντες που

καταστέλλουν την απόπτωση^{12,13}. Ο τελευταίος αυτός μηχανισμός είναι ιδιαίτερα σημαντικός στον έλεγχο του αριθμού των προδρόμων αιμοποιητικών κυττάρων όπου απαιτούνται οι αιμοποιητίνες, οι οποίες περιορίζονται in vivo, σαν παράγοντες επιβίωσης για να καταστείλουν την απόπτωση¹⁴.

2) **Ενεργός αυτοκτονία:** Η ενεργοποίηση της απόπτωσης είναι μια ενεργός διαδικασία, όπου τα σήματα που διεγείρουν το αποπτωτικό πρόγραμμα επάγουν ταχύ κυτταρικό θάνατο. Η απουσία του σήματος έναρξης της απόπτωσης επιτρέπει στα κύτταρα να επιβιώσουν, ενώ όταν αρχίσει το σήμα γρήγορα προκαλείται κυτταρικός θάνατος. Ο μηχανισμός αυτός γίνεται με τη σύνδεση μιας υποκατηγορίας υποδοχέων της κυτταρικής επιφάνειας, όπως οι υποδοχείς p55 TNF-a και FAS, οι οποίοι συνδέονται με τα δραστικά μόρια που προκαλούν τον κυτταρικό θάνατο^{15,16}.

Η πρωτεΐνη **ced-3** μελετήθηκε αρκετά στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο που συμβαίνει κατά την ανάπτυξη του νηματιδίου *C.elegans* σαν μια ειδική της κυστίνης πρωτεΐνη και σχετίζεται δομικά με το ένζυμο που μετατρέπει την Ιντερλευκίνη Ιβ (ICE)¹⁷⁻¹⁹. Πρόσφατα έχει ανακαλυφθεί μια σειρά ομολόγων του ced-3 στα δηλαστικά και οι πρωτεΐνες αυτές αναφέρονται ως κασπάσες²⁰. Οι κασπάσες λειτουργούν για να διασπούν βιορρυθμιστικές συνδέσεις (π.χ. ICE διασπά βιορρυθμιστικές συνδέσεις και την pro-IL-1β) ή είναι σημαντι-

γίνεται δια μέσω της ενεργοποίησης της έκφρασης και/ή της δραστηριοποίησης των κυρίαρχων ογκογονιδίων όπως το *c-myc* ή E_2F^{27-29} . Η απορρύθμιση του κυτταρικού κύκλου δυνατόν να επιτελείται δια μέσου εξάλειψης ή μη δραστηριοποίησης των κατασταλικών γονιδίων, τα οποία φυσιολογικά ελέγχουν τον κυτταρικό κύκλο. Τα πιο σημαντικά γονίδια είναι το p53 το οποίο παρουσιάζει μεταλλάξεις στο ήμισυ όλων των καρκινωμάτων και το κατασταλικό γονίδιο του ρετινοβλαστώματος pRb του οποίου η φυσιολογική λειτουργία είναι να ελέγχει τη δραστηριότητα του E_2F . Η δραστηριοποίηση των ογκογονιδίων και η μη δραστηριοποίηση μερικών κατασταλικών γονιδίων, αυξάνουν δραματικά την απόπτωση^{12,29-31}.

Η δράση των ογκοπρωτεϊνών *Myc* και $E2F$ υλοποιείται με το σχηματισμό ετεροδιμερών *Myc/Max* κάτω από συνθήκες διακοπής του κυτταρικού κύκλου, όπως είναι η αποστέρηση αυξητικών παραγόντων και μπορεί να προκαλέσει προαγωγή της απόπτωσης. Το σύμπλοκο *max/max* από την άλλη μεριά καταστέλλει τη λειτουργία του *c-myc*. Επομένως η σχέση του συμπλόκου *c-myc/Max* προς το σύμπλοκο *Max/Max* είναι καθοριστική για τις συνέπειες της ενεργοποίησης του *c-myc*. Επίσης η ταυτόχρονη υπερέκφραση του πρωτοογκογονιδίου *bcl-2* αναστέλλει την ικανότητα του αυξημένου *c-myc* να προάγει την απόπτωση³².

Το γονίδιο p53 κωδικοποιεί μια πυρηνική πρωτεΐνη που ρυθμίζει τη μεταγραφή γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την επιδιόρθωση του DNA, την κυτταρική διαίρεση και την απόπτωση. Ο φυσικός τύπος της πρωτεΐνης p53 ελέγχει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό σε καταστάσεις που προκαλούνται δομικές αλλοιώσεις του DNA όπως η χημειοθεραπεία και η ακτινοβολία που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του καρκίνου προκαλώντας άμεσα ή έμμεσα βλάβη του κυτταρικού DNA. Αυτό επιτυγχάνεται με υπερέκφραση της φυσικής πρωτεΐνης p53 η οποία προκαλεί στάση του κυτταρικού κύκλου ή απόπτωση. Πρόσφατα αναφέρθηκε ότι η μεταγραφική ενεργοποίηση του p53 είναι σημαντική για την απόπτωση και επιτυγχάνεται μέσω της αυξημένης παραγωγής της πρωτεΐνης του γονιδίου p21. Επί εκτεταμένης και μη επιδιορθώσιμης βλάβης της δομής του DNA η πρωτεΐνη p53 με άγνωστο ακόμη μηχανισμό οδηγεί το κύτταρο σε απόπτωση προστατεύοντας έτσι το κυτταρικό DNA από συσσώρευση και μετάδοση μεταλλάξεων στα θυγατρικά κύτταρα³³.

ταρα³³.

Η αδρανοποίηση του p53 έχει άμεση σχέση με την αδυναμία του να προκαλέσει στάση του κυτταρικού κύκλου στη φάση G_1 ή απόπτωση. Η απόπτωση παρουσιάζει ενδιαφέρον στην αντοχή πολλών καρκινωμάτων (πνεύμονας, παχύ έντερο, ουροδόχος κύστη και προστάτης) στη χημειοθεραπεία.

ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΚΑΚΟΗΘΗΣ ΕΞΑΛΛΑΓΗ

Η διατήρηση του φυσιολογικού αριθμού κυττάρων σε έναν ιστό είναι αποτέλεσμα της ισορροπίας που υπάρχει μεταξύ του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της απόπτωσης. Η ανάπτυξη νεοπλασμάτων φαίνεται ότι προέρχεται από τον αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό ή την ελάττωση του ρυθμού της απόπτωσης ή συνδυασμό και των δύο. Η κακοήθης εξαλλαγή οφείλεται στη σταδιακή συσσώρευση μεταλλάξεων σε βασικά γονίδια που είναι υπεύθυνα για την αύξηση και την επιβίωση του κυττάρου. Το κύτταρο ενεργοποιεί το μηχανισμό της αυτοκαταστροφής του, όταν μια μετάλλαξη δεν έχει τη δυνατότητα επιδιόρθωσης με αποτέλεσμα να εμποδίσει τη μετάδοση των γονιδιακών ανωμαλιών στα θυγατρικά κύτταρα. Όταν το πρόγραμμα του κυτταρικού θανάτου παρουσιάζει διαταραχή τότε είναι δυνατή η επιβίωση και ο πολλαπλασιασμός κυττάρων με σταδιακή συσσώρευση γονιδιακών ανωμαλιών που στη συνέχεια αναπτύσσουν κακοήθεις κυτταρικούς κλώνους. Τα φυσιολογικά κύτταρα για την επιβίωσή τους εξαρτώνται από τοπικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες και έτσι δεν είναι δυνατόν να επιβιώσουν σε μη φυσιολογικές θέσεις. Αντίθετα τα νεοπλασματικά κύτταρα έχουν τη δυνατότητα να ξεπερνούν τους τοπικούς ομοιοστατικούς μηχανισμούς και να επιβιώνουν σε θέση μακριά από το όργανο που προέρχεται με αποτέλεσμα να δημιουργούν μεταστατικές εστίες. Η ανεξέλεγκτη αυξητικότητα που παρουσιάζουν τα νεοπλάσματα μπορεί να αποδοθεί στο γρήγορο ρυθμό πολλαπλασιασμού, στην ελάττωση του ρυθμού του κυτταρικού θανάτου ή σε συνδυασμό και των δύο παραγόντων².

Η απόπτωση συναντάται σε όλα σχεδόν τα κακοήδη νεοπλάσματα πριν την εφαρμογή θεραπείας. Οι περισσότεροι καλοήθεις όγκοι έχουν ελάχιστη ή καθόλου απόπτωση με ελάχιστες εξαιρέσεις.

ΑΠΟΠΤΩΣΗ ΚΑΙ ΤΟ ΔΙΛΗΜΜΑ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών, η θεραπεία του καρκίνου γίνεται με τη χρήση ποικίλων ειδών κυτταροτοξικής χημειοθεραπείας και ακτινοθεραπείας. Οι παρεμβατικές αυτές θεραπείες είχαν σημαντικά θετικά αποτελέσματα σε πολλές αιματολογικές κακοήθειες και σε μερικούς συμπαγείς όγκους, κυρίως σε όγκους από βλαστικά κύτταρα, καθώς και σε μερικές κακοήθειες των παιδιών. Η πλειοψηφία πάντως των κακοηθειών έχει αποδειχθεί περισσότερο ή λιγότερο ανθεκτική στις θεραπείες αυτές².

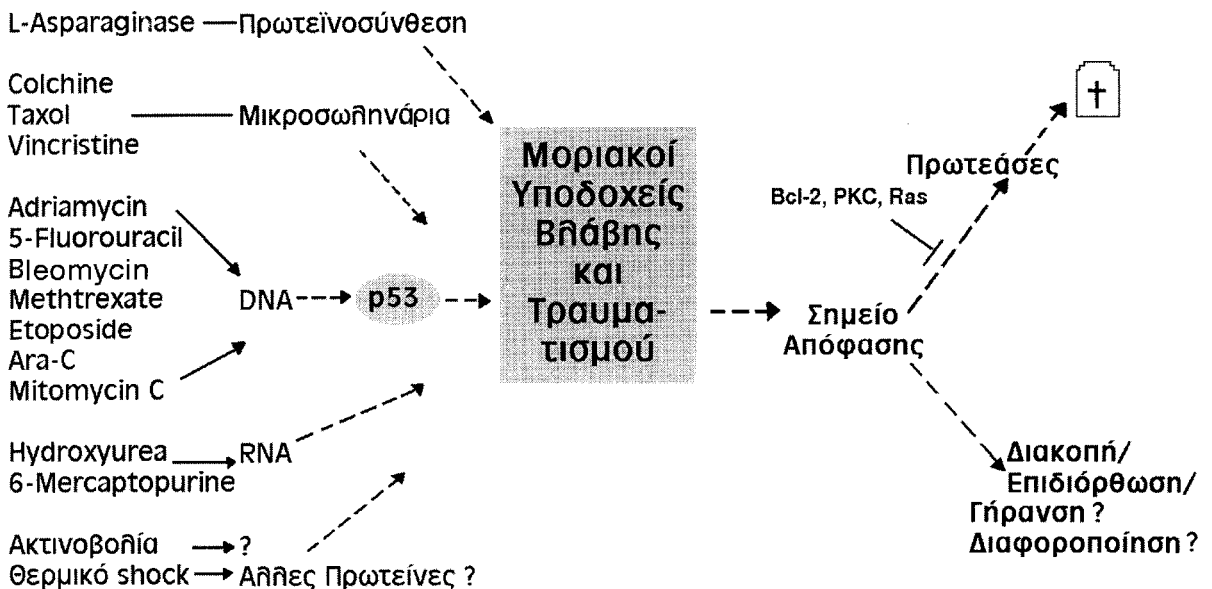
Τα τελευταία χρόνια φαίνεται να επικρατεί η άποψη ότι πολλοί, ίσως και όλοι, οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες επιδρούν στη δολοφονία των κυττάρων του όγκου *in vitro* και *in vivo* μέσω της ενεργοποίησης του μηχανισμού της απόπτωσης. Παραδόξως η αναγνώριση του γεγονότος ότι οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες και πιθανώς η ιονίζουσα ακτινοβολία επιδρούν πρωταρχικά μέσω της ενεργοποίησης της απόπτωσης εγείρει την υπόνοια ότι οι όγκοι που είναι από τη φύση τους ανθεκτικοί στη χημειοθεραπεία δεν είναι ικανοί να ενεργοποιήσουν τον αποπτωτικό μηχανισμό και ως εκ τούτου μπορεί να έχουν μεγάλη αντίσταση στο χημειοθεραπευτικό κυτταρικό θάνατο³.

Οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες που μέχρι σήμερα θεωρούνται ότι επάγουν την από-

πτωση είναι το ετοποσίδιο, το VM26, το m-AMSA, η δεξαμεθαζόνη, η βινκριστίνη, το cis-platinum, η κυκλοφωσφατίνη, το paclitaxel, η 5' fluoro-δεσοξυριδίνη, η 5' φλουοουρακίλη και η αδριαμυκίνη (Σχήμα 3). Η αποπτωτική δράση αυτών έχει διαπιστωθεί σε πολλές κυτταρικές σειρές σε καλλιέργειες ιστών. Επίσης έχει αποδειχθεί ότι η υποξία του όγκου, η ιονίζουσα ακτινοβολία και η απόσυρση ορμονών σε ορμονοευαίσθητους όγκους προκαλούν απόπτωση².

Νέες μελέτες αποδεικνύουν ότι οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες επάγουν τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο *in vivo*. Τ-λεμφώματα που αντιμετωπίστηκαν με ρετινοϊκό οξύ υπέστησαν απόπτωση *in vivo*. Μια μελέτη που αφορούσε ακανδοκυτταρικό καρκίνωμα του οισοφάγου έδειξε ότι και η ακτινοβολία και η χημειοθεραπεία (5-φθοριουρακίλη, cis-platinum και η μπλεομυκίνη) επάγουν τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο *in vivo*, γεγονός που αποδείχθηκε με την ιστολογική εξέταση βλαστικού υλικού. Η χημειοθεραπεία σε ασθενείς με οξεία λευχαιμία (ετοποσίδιο, m-AMSA, αραμπινοσίδη κυτοσίνη) προκάλεσε αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο.

Τα επιθηλιακά νεοπλάσματα γενικά είναι πιο ανθεκτικά στη χημειοθεραπεία και στην ακτινοβολία απ' ό,τι είναι οι λεμφοειδείς όγκοι³⁵. Μια λογική εξήγηση είναι ότι τα υψηλά επί-



Σχήμα 3. Συμμετοχή διαφόρων χημειοθεραπευτικών φαρμάκων στην απόπτωση.

πεδα του bcl-2 μπορούν να προκαλούν την αντίσταση των επιδηλιακών όγκων στη θεραπεία, όπως έχει αποδειχθεί στα προστατικά καρκινώματα. Η έκφραση του bcl-2 στα προστατικά καρκινώματα σχετίζεται με ανάπτυξη του όγκου μετά την ορμονική θεραπεία, γεγονός που υποδηλώνει ότι το bcl-2 μπορεί να εμφανίζει αντίσταση στη θεραπεία αποστέρησης ανδρογόνων³⁶. Στους ορμονοευαίσθητους όγκους υπάρχουν δύο επιδηλιακοί πληθυσμοί, οι αρνητικοί στην bcl-2 που θεωρείται ότι είναι ευαίσθητοι στην αποστέρηση ανδρογόνων και ελαττώνονται με τη θεραπεία και οι θετικοί στο bcl-2 όπου τα καρκινικά κύτταρα μπορεί να επιζήσουν και να συνεχίσουν να πολλαπλασιάζονται και τελικά να δώσουν μεταστάσεις.

Η σχέση του bcl-2 με την αντίσταση στη θεραπεία και την κακή πρόγνωση δεν έχει τεκμηριωθεί σε άλλα κακοήδη νεοπλάσματα. Η έκφραση του bcl-2 σε καρκινώματα του μαστού σχετίζεται με την έκφραση των οιστρογονικών και προγεστερονικών υποδοχέων, αλλά η έκφραση αυτή δεν έχει επίδραση στην απάντηση των καρκινικών κυττάρων στην ορμονική θεραπεία. Στην πραγματικότητα ασθενείς με όγκους που εκφράζουν bcl-2 φαίνονται να έχουν το μεγαλύτερο κέρδος από την ενδοκρινική θεραπεία. Έχει επίσης βρεθεί ότι η έκφραση του bcl-2 στα καρκινώματα του μαστού σχετίζεται με δείκτες καλύτερης πρόγνωσης, όπως χαμηλός μιτωτικός δείκτης, χαμηλά επίπεδα έκφρασης του EGFR, η δε απώλεια αυτής σε καρκινώματα από το μεταβατικό επιθήλιο της ουροδόχου κύστης, σχετίζεται με κακή πρόγνωση^{34,37}.

Σε μη μικροκυτταρικά καρκινώματα του πνεύμονα (38) η έκφραση του bcl-2 έχει σχετισθεί με καλύτερη πενταετή επιβίωση καθώς και σε ασθενείς με μη-Hodgkin λεμφώματα.

Οι *in vivo* και *in vitro* μελέτες σε συνδυασμό με τα στοιχεία του μηχανισμού που συμμετέχει στην ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου δείχνουν ξεκάθαρα ότι πολλά χημειοθεραπευτικά φάρμακα επάγουν την απόπτωση. Από την άλλη μεριά δεν έχει αποσαφηνισθεί ακόμη ποιο ποσοστό των κυτταρικών θανάτων των νεοπλασματικών κυττάρων γίνεται μέσω αποπτωτικών μηχανισμών.

Το μεγάλο ερώτημα που τίθεται είναι γιατί μερικά καρκινικά κύτταρα είναι πιο ευάλωτα στην απόπτωση; Δυστυχώς λίγα είναι σήμερα γνωστά σχετικά με τους μηχανισμούς που αποφασίζουν αν ένα κύτταρο υφίσταται απόπτωση,

διακοπή του κυτταρικού κύκλου ή άλλη απάντηση στη βλαπτική επίδραση ή στα φάρμακα.

Η κατανόηση της βιοχημικής και μοριακής βάσης για την απόφαση αυτή που παίρνει το κύτταρο μπορεί να επιτρέψει ένα βελτιωμένο θεραπευτικό παράθυρο που θα οδηγεί περισσότερο νεοπλασματικά κύτταρα στην απόπτωση ενώ θα διατηρούνται τα φυσιολογικά κύτταρα².

Κατανοώντας όλο και περισσότερο τον τρόπο δράσης των γονιδίων αυτών σε σχέση με την απόπτωση και κατέπεκταση με τον κυτταρικό θάνατο, νέες προοπτικές διαγράφονται στη θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου. Στόχος αυτής της θεραπευτικής αντιμετώπισης είναι αφενός μεν η αύξηση του αυτόματου κυτταρικού θανάτου στα κύτταρα του όγκου και αφετέρου η μείωση της αντοχής των νεοπλασματικών κυττάρων στις διάφορες μορφές θεραπείας. Οι στόχοι αυτοί θα επιτευχθούν, αν αυξηθεί η έκφραση των γονιδίων που προάγουν την απόπτωση, με φάρμακα τα οποία θα προκαλούν υπερέκφραση του φυσικού τύπου του p53 ή θα μιμούνται τη δράση του ή θα δρουν ως αντισώματα Fas, που πυροδοτούν την απόπτωση. Στο ίδιο αποτέλεσμα στοχεύει η ανεύρεση φαρμάκων τα οποία θα αναστέλουν την έκφραση του bcl-2, το οποίο, ως γνωστό, καταστέλλει την απόπτωση. Ομοίως, μείωση της έκφρασης μεταλλαγμένων γονιδίων, όπως ο μεταλλαγμένος τύπος του γονιδίου p53 ή το χιμαιρικό γονίδιο Bcr-Abl της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας, θα είχε ανάλογα αποτελέσματα. Τέλος, οι αυξητικοί παράγοντες προσφέρουν ένα σημαντικό πεδίο θεραπευτικής παρέμβασης. Για παράδειγμα, αποστέρηση ειδικών αυξητικών παραγόντων (όπως ο IGF-1 για τους ινοβλάστες) ευνοεί την αποπτωτική δράση του c-myc².

Το επιθυμητό αποτέλεσμα όλων των παραπάνω θεραπευτικών χειρισμών είναι η προαγωγή της απόπτωσης, η οποία θα δώσει στον κλινικό τη δυνατότητα να χορηγήσει χαμηλότερες δόσεις χημειοθεραπείας ή ακτινοβολίας, που, με τη σειρά τους, προάγουν την απόπτωση².

Συμπερασματικά, η απόπτωση παρατηρείται στα κακοήδη νεοπλάσματα, ενώ δεν φαίνεται να παρουσιάζει συσχέτιση με προγνωστικούς δείκτες. Τα κυτταροστατικά, η ακτινοβολία και η ορμονοθεραπεία, κάτω από ορισμένες συνθήκες, προάγουν την απόπτωση. Μελλοντικές έρευνες στο δέμα αυτό, αναμένεται να βοηθήσουν σημαντικά στη θεραπεία του καρκίνου.

SUMMARY

**Apoptosis, cancer and therapy, Review article
Nakopoulou L., Michalopoulou A.**

Department of Pathology, Medical School, University of Athens

During the last years new perspectives have arisen in the field of cancer therapy, when it has been generally accepted that the mechanisms which regulate cell death play an equally important role in tumorigenesis as the mechanisms which regulate cell proliferation. Apoptosis constitutes an intrinsic program of cell suicide which is necessary for the depletion of undesired cells and for the maintenance of tissue homeostasis. Its regulation is extremely complex process and a large number of genes contribute to this process. These genes are divided to the ones that induce apoptosis (p53, c-myc, E2F, Fas, Bax, Bad, Bak, Bcl-x_s) and to those that suppress apoptosis (Bcl-2, Bcl-X_L, Bcl-w, MCL-1, A-I, crmA, p35). Apoptosis exists in most malignant tumors and a high apoptotic rate has been found in rapidly proliferating tumors. The variable types of cancer therapy (chemotherapy, radiation therapy, hormonotherapy) have the capability, under certain circumstances, to induce apoptosis. The understanding of the biochemistry and genetics of apoptosis creates new possibilities of therapeutic intervention which aim, on the one hand, in the increase of automatic cell death of tumor cells and on the other hand in the diminution of the resistance of the tumor cells to the different types of therapy. These aims will be obtained if the expression of the genes that induce apoptosis increases with the use of drugs that will cause overexpression of the wild type of p53 or will mimic its effect or will act as antibodies Fas which trigger apoptosis. The discovery of drugs that will suppress the expression of bcl-2 aims to the same effect. In the same way the diminution of the expression of mutant genes, such as the mutant type of p53 or the Bcr-Abl chimerical gene of chronic myeloid leukemia, will have the same results. Future searches in the field of apoptosis will help significantly in cancer therapy.

Key words: Apoptosis, cancer, chemotherapy

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Cummings MC, Winterford CM, Walker NI: Apoptosis. *Am J Pathol* 21(1):88-101, 1997.
2. Hannun YA: Apoptosis and the dilemma of cancer chemotherapy. *Blood* 89(6): 1845-1853, 1997.
3. Wyllie AH: The patient and the cell: an appreciation of Sir Alastair Currie. *Cancer Research Campaign Scientific Yearbook* 95:6-9, 1994.
4. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR: Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26:239-57, 1972.
5. Kerr JFR, Cobe GC, Winterford CM, Harmon BV: Anatomical methods in cell death. *Methods Cell Biol* 46:1-26, 1995.
6. Walker NI: Ultrastructure of the rat pancreas after experimental duct ligation. I. The role of apoptosis and intraepithelial macrophages in acinar cell deletion. *Am J Pathol* 126:439-451, 1987.
7. Walker NI, Gobe GC: Cell death and cell proliferation during atrophy of the rat parotid gland induced by duct obstruction. *J Pathol* 153:333-344, 1987.
8. Howie SE, Sommerfield AJ, Gray E, Harrison DJ: Peripheral T lymphocyte depletion by apoptosis after CD4 ligation in vivo. Selective loss of CD44- and "activating" memory T cells. *Clin Exp Immunol* 95:195-200, 1994.
9. Fraser A, McCarty N, Evan GI: Biochemistry of cell death. *Current Opinion in Neurobiology* 6:71-80, 1996.
10. Weil M, Jacobson M, Coles H, Davies T, Gardner R, Raff K, Raff M: Constitutive expression of the machinery for programmed cell death. *J Cell Biol* 128: 1173-1184, 1996.

11. Raff MC: Social controls on cell survival and cell death. *J Cell Biol* 128:1173-1184, 1996.
12. Askew DS, Ashmun RA, Simmons BC, Cleveland JL: Constitutive c-myc expression in an IL-3 dependent myeloid cell line suppresses cell cycle arrest and accelerates apoptosis. *Oncogene* 6:1915-1922, 1991.
13. Harrington EA, Bennett MR, Fanidi A, Evan GI: Cooperative interaction between c-myc and bcl-2 proto-oncogenes. *Nature* 359:554-555, 1992.
14. Williams GT, Smith CA, Spooner E, Dexter TM, Taylor DR: Haemopoietic colony stimulating factors promote cell survival by suppressing apoptosis. *Nature* 324:76-77, 1990.
15. Cleveland JL, Ihle JN: Contenders for FasL/TNF signalling. *Cell* 81:479-494, 1995.
16. Smith CA, Farrah T, Goodwin R: The TNF receptor superfamily of cellular and viral proteins: activation, costimulation and death. *Cell* 76:959-972, 1994.
17. Cerretti DP, Kozlosky CJ, Mosley B, Nelson N, Van Ness K, Grenstreet TA, et al: Molecular cloning of the interleukin-1 β converting enzyme. *Science* 256:97-99, 1992.
18. Eli P, Allen H, Banerjee S, Franklin J, Herzog L, Johnston C, et al: Mice deficient in IL-1 β -converting enzyme are defective in production of mature IL-1 β and resistant to endotoxic shock. *Cell* 80:401-411, 1995.
19. Yuan J, Shaham S, Ledoux S, Ellis HM, Horvitz HR: The *C.elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1 β -converting enzyme. *Cell* 75:641-652, 1993.
20. Alnemri ES, Livingstone DJ, Nickolson DW, Salvesen G, Thornberry NA, Wong WW, Yuan J: Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell* 87:171, 1996.
21. Martin SJ, Green DR: Protease activation during apoptosis: Death by a thousand cuts? *Cell* 82:349-352, 1995.
22. Yang E, Korsmeyer SJ: Molecular thanatopsis: a discourse on the bcl-2 family and cell death. *Blood* 88:386-401, 1996.
23. Chinnaiyan AM, Orth K, Orouke K, Duan HJ, Poirier GG, Dixit VM: Molecular ordering of the cell death pathway - Bcl-2 and Bcl-X_L function upstream of the CED-3-like apoptotic proteases. *J Biol Chem* 271:4573-4576, 1996.
24. Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Postems CE, Ding L, Lindsten T, Turka LA, Mao X, Nunez G, Thompson CB: Bcl-x, a bcl-2 related gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell* 74:597-608, 1993.
25. Farrow SN, Brown R: New member of the bcl-2 family and their protein partners. *Curr Opin Genet Dev* 6:45-49, 1996.
26. Oltvai Z, Milliman C, Korsmeyer S: Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 74: 609-619, 1993.
27. DeGregori J, Kowalik T, Nevins JR: Cellular targets for activation by the E2F1 transcription factor include DNA synthesis and G1/S-regulatory genes. *Mol Cell Biol* 15:4215-4524, 1995.
28. Eilers M, Schirm S, Bishop JM: The Myc protein activates transcription of the α -prothymosin gene. *EMBO J* 10:133-141, 1991.
29. Packham G, Cleveland JL: c-myc and apoptosis. *Biochim Biophys Acta* 1242: 11-28, 1995.
30. Evan GI, Wyllie AH, Gilbert CS, Littlewood TD, Land H, Brooks M, et al: Induction of apoptosis in fibroblasts by c-myc protein. *Cell* 69:119-128, 1992.
31. Green DR, Bissonnette RP, Cotter TG: Apoptosis and cancer. In: *Important Advances in Oncology*, De Vita VT, Hellman S and Rosenberg SA, eds, 1994, p. 37-52.
32. Fanidi A, Harrington EA, Evan GI: Cooperative interaction between c-myc and bcl-2 proto-oncogenes. *Nature* 359:554-556, 1992.
33. Canman CE, Gilmer TM, Coutts SB, Kastan MB: Growth factor modulation of p53-mediated growth arrest versus apoptosis. *Genes Dev* 9:600-611, 1995.
34. Nakopoulou L, Vourlakou CH, Zervas A, Tzonou A, Gakiopoulou H: The prevalence of bcl-2, p53 and Ki-67 immunoreactivity in transitional cell bladder carcinomas and their clinicopathologic correlates. *Hum Pathol* 29:146-154, 1998.
35. Gorczyca W, Bigman K, Mittelman A, Ahmed T, Gong J, Melamed MR, Darzynkiewicz Z: Induction of DNA strand breaks associated with apoptosis during treatment of leukemia. *Leukemia* 7:659, 1993.
36. McDonnell TJ, Troncoso P, Brisbay SM et al: Expression of the protooncogene bcl-2 in the prostate and its association with emergence of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res* 52:6940-6944, 1992.
37. Joensuu H, Pylkkanen I, Toikkanen S: Bcl-2 protein expression and long-term survival in breast cancer. *Am J Pathol* 145:1191-1198, 1994.
38. Pezzella F, Turley H, Kuzu I et al: Bcl-2 protooncogene in non-small-cell lung carcinoma. *N Engl J Med* 329:690-694, 1993.