

MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE V ONKOLOGII PROSTATY ANEK KUDY VEDE CESTA

MUDr. Roman Staněk

SSN Opava; urologické oddělení

V současnosti dochází k ohromnému rozvoji genových metod. S rozvojem výzkumu narůstá objem znalostí využitelných v diagnostice a terapii. Jednou z nejprobádanějších oblastí v uroonkologii je karcinom prostaty, u něhož se genovými metodami dospělo již do oblasti tvorby farmaceutických přípravků. Zatím je plánované jejich využití hlavně v oblasti hormonálně rezistentního karcinomu prostaty (HR-CaP). V nejbližších letech lze očekávat i další rozvoj genové terapie a není vyloučeno, že se již naše generace bude běžně s těmito postupy setkávat. Proto podávám orientační přehled jejich současných možností.

Klíčová slova: apoptóza, karcinom prostaty, terapie, bcl-2, endotelin.

MOLECULAR BIOLOGY IN PROSTATIC ONCOLOGY AND OR WHERE IS THE WAY

Today genetic methods are in the grand development. The volume of the knowledges is growing with development of the research from diagnostic methods to therapy. One of the best known area of uroonkology is carcinoma of the prostate. Genetics methods should play important role at pharmacology of the prostate carcinoma. For the present time genetic phramacology utility is plan for hormonal resistant carcinoma of the prostate (HR-CaP). We can expect additional development of gen therapy and it could be at the time of current urologists. Therefore I submit review of current possibilies of gen therapy of prostate carcinoma.

Key words: apoptosis, carcinoma of the prostate, therapy, bcl-2, endothelin.

S rozvojem biotechnologií se v současnosti rozvíjejí i možnosti genetiky a molekulární biologie. Jsme již schopni odhalovat některé procesy nejen na buněčné úrovni, ale také na úrovni molekulární a někdy i submolekulární. V onkologii sehraává významnou úlohu odhalení lidského genomu, a dále odhalení principu vzniku a rozvoje nádorových onemocnění. V minulosti byl jako princip aktivity nádorového onemocnění považován zrychlený agresivní růst maligních buněčných klonů. Nyní je zřejmé, že nádorový růst je daleko složitější. Princip iniciace, promoce a následného růstu zůstává zachován. Prosadil se však názor, že za nekontrolovaný růst může naopak narušení a tím zpomalení řízeného zániku buněk – tzv. porucha apoptózy.

Naši snahou je zastihnout nádor v počátečním stadiu, nejlépe ještě před klinickou manifestací, a dále pak stanovit jeho vlastnosti a agresivitu onemocnění a pak zajistit adekvátní terapii. Dnes se již neobejdeme bez diagnostiky na úrovni geneticky determinovaných dějů a na úrovni subcelulárních procesů. Současně s poznáváním těchto dějů se samozřejmě nabízí otázka možnosti ovlivnění a tím započítí léčby v oblasti molekulární biologie a genetiky. Asi nejdále ve výzkumu jsou probádány tyto možnosti v oblasti karcinomu prostaty. Je to jednak neochabujícím zájmem o toto onemocnění ze strany uroonkologů, kontroverzností tohoto onemocnění a také určitou podobností s dalšími hormonálně dependentními nádory jako jsou karcinom prsu a ovária, u kterých samozřejmě molekulárně biologický výzkum již dosáhl podobných výsledků a některé z nich lze aplikovat i na karcinom prostaty.

Karcinom prostaty je nejčastěji se vyskytujícím maligním onemocněním u mužů. Jeho etiologie je stále neznámá, nicméně na subcelulární úrovni již známe některé faktory, ovlivňující jeho vznik a progresi. Zatím nevíme, jestli tyto procesy probíhají jako kauzální, či jsou spíše autokrinní či parakrinní povahy, nicméně snaha o zásah do jejich průběhu může vést ke konečnému úspěchu.

V rámci výzkumu a při diagnostice se dnes velmi rychle rozvíjejí genetické postupy. Již standardní jsou metody hodnocení ztráty heterozygoty a fluroescenční hybridizace. Nejmodernější technikou je srovnávací genová hybridizace (CGH – comparative genomic hybridization). Za použití všech těchto metodik se zatím nepodařilo stanovit jednotlivé určité geny, odpovědné za vznik, progresi a rezistenci vůči protinádorové terapii. Podařilo se však těmito metodami lokalizovat místa (lokusy) chromozomů, na kterých dochází k nejčastějším změnám, ať již ve smyslu amplifikace (zmnožení), delece (chybění) nebo translokace (přemístění), spojeným s výskytem agresivních, hormonálně independentních karcinomů prostaty. Nejčastěji uváděnými jsou chromozomy 8, 18, 7, 13, a X.

Na nich se nacházejí geny ovlivňující buněčný cyklus, ať již stimulaci nebo supresi. Základní přehled podává tabulka 1.

K jednotlivým faktorům využitelným v terapii karcinomu prostaty:

Bcl 2

Od doby, kdy byly popsány mechanismy buněčné regulace na červu *Caenorhabditis elegans* (1), se znalosti o regulaci apoptózy rychle rozvíjejí. Významnou roli v její regulaci sehraává skupina p53 (p63, p73) regulovaná geny TP53 (TP63, TP73), dále pak skupina proteinů Bcl (Bcl-2, Bcl-X_L, Bax, Bad). Tyto regulační děje se odehrávají na endonukleární i endocytoplazmatické úrovni. Skupina proteinů p53 patří do tumor supresorových proteinů, které aktivují apoptózu.

Tabulka 1. Přehled cílových míst využitelných v terapii či diagnostice karcinomu prostaty

Protein/gen	Chromozom	Úloha	Využití
Bcl-2	18q	supresor gen, protein	terapie
endotelin 1		vazokonstrikční faktor	terapie
HIF-1/HRE		promoční faktory	terapie
PSE/PSA		promoční faktory	terapie

Naopak Bcl-2 a Bcl-X_L působí inhibičně vůči p53, tedy apoptózu blokuje. Bcl-2 je pak sám negativně regulován proteinem Bax, kdy při vytvoření dimeru Bcl-2/Bax je inhibována aktivita Bcl-2. V systému apoptózy Bcl-2 chrání cytochrom C před uvolněním z mitochondrií současně má antiapoptotický efekt. Zjednodušeně popisuje postavení Bcl-2 v regulaci apoptózy schéma 1.

Zvýšené hladiny bcl-2 registrujeme u agresivních hormonálně rezistentních nádorů prostaty. Bruckheimer (2) prokázal inhibiční efekt Bcl-2 na kombinovaný stimulující účinek TGF-beta a DHT pro apoptózu (resp. indukci kaspázy 1). Zřetelně je prokázán brzdný efekt vůči apoptotickému procesu, ve shodě nálezem zvýšených hladin Bcl-2 u 30–60 % hormonálně rezistentních agresivních nádorů prostaty s vysokým Gleasonovým skorem (3).

Ovlivnění apoptózy prostřednictvím Bcl-2 se zdá jedním z nejpropracovanějších postupů. Používají se oligonukleotidy s přímým antagonistickým efektem na transkripci Bcl-2. Existují již randomizované studie s léčivem Oblimersen (4) podávaným společně s cytostatiky. Prokazují zvýšenou účinnost chemoterapie tímto oligonukleotidem blokujícím prvních šest kodonů mRNA pro Bcl-2 (5). Tyto studie jsou provedeny především u hemoblastóz, ale existují, zatím sice nerandomizované, i u karcinomu prostaty poměrně nadějně výsledky. Dále probíhá III. fáze výzkumu s oligonukleotidem Genasense v indikacích maligního melanomu a myeloidní leukémie s možným využitím i u karcinomu prostaty a nemalobuněčného karcinomu plic (6).

Endotelin

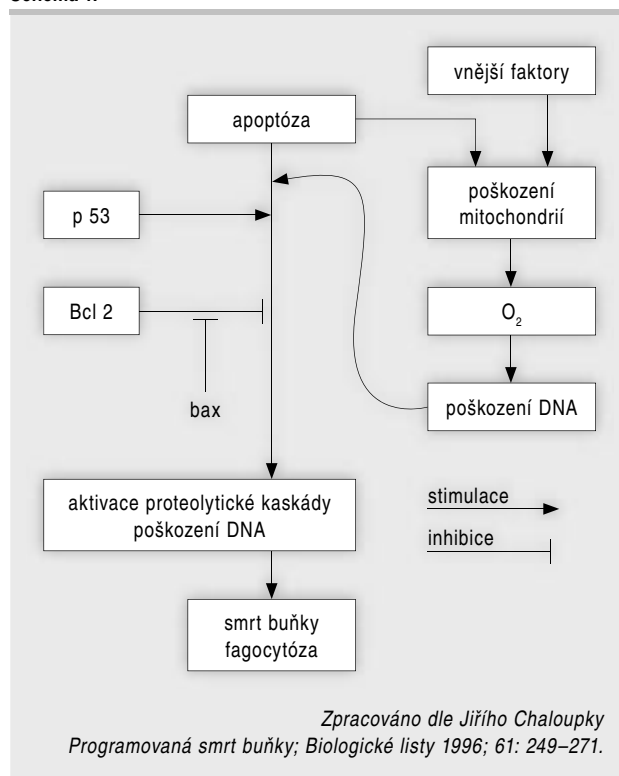
Jde o komplex peptidů vasokonstriční povahy. Tyto peptidy hrají významnou úlohu při progresi nádoru a společně s PDGF (platelet derived growth factor), IGF (insulin like growth factor) a FGF (fibroblast growth factor) ovlivňují jeho růst. Společně s VEGF (vascular endothelial growth factor) hrají úlohu v neovaskularizaci nádoru a metastáz a současně se podílí i na osteoblastické remodelaci kostí (7). V současnosti již probíhají III fáze randomizovaných studií s antagonistou endotelinu ET-1 (Atrasentan Abbott) metastazujícího karcinomu prostaty (8).

Další možností genové terapie na bázi molekulární biologie je použití virových vektorů k ovlivnění genetické informace. Jako vhodné se jeví využití adenovirů. Snahou je zajistit zacílení těchto virů pouze na nádorové buňky, tak aby zdravé somatické buňky nebyly postiženy. Toho se dosahuje bloádou genů E1B při současném umístění virů poblíž E1A

Literatura

1. Chaloupka J. Programovaná smrt buňky. Biologické listy 1996; 61: 249–271;
2. Bruckheimer EM, Kyprianou N. bcl-2 antagonizes the combined apoptotic affect of TGF-beta and dihydrotestosteron in prostate cancer cells: Prostate 2002; Oct 1; 53 (2): 133–142.
3. Wang HG, Reed JC. Mechanism of bcl-2 protein function: Histo Histochem. 1998; 13: 521–530.
4. Klasa RJ, Gillen AM, Klem RE, Frankel SR. Oblimersen Bcl-2 antisense: facilitating apoptosis in anticancer treatment: Antisense Nucleic Acid Drug Dev 2002; Jun 12 (3): 193–213.
5. Oltsersdorf T, Fritz LC. The bcl-2 family: target of the regulation of apoptosis: Annual Rep Med Chem 1998; 33: 253–262.
6. Banerjee D. Genasense: Curr Opin Investig Drugs 2001; Apr 2 (4): 574–580.

Schéma 1.



lokusu promotorů specifických pro nádorové buňky. Tím se replikace virů dostává pod kontrolu specifických působků pro dané nádorové buňky, u karcinomu prostaty pod vliv promotoru pro PSA nebo kalikreinu 2. Tyto geny mají kontrolní funkci při spuštění exprese jiných genů.

V praxi se tato hypotéza ověřuje na buněčných kulturách s využitím komplexů PSA/PSE (prostate specific antigen/prostate specific enhancer) na 5' nebo 3' konci genové sekvenze (9). Adenovirus s regulačním efektem na EA1 je inkorporován do jmenované oblasti, čímž je jeho replikace zajištěna kontrolou replikace PSA. Když buňka PSA nevytváří, není replikován ani samotný virus. Podobně je tomu v případě HIF-1alfa (hypoxia inducible factor), o kterém referuje Zhong (10). Jedná se o heterodimer ovlivňující transkripci genů při hypoxii. Mnoho genů obsahuje v promoční oblasti tzv. HRE (hypoxia responsive elements), do jejichž skupiny HIF-1alfa patří. Spojením ovlivnění HRE a promoční oblasti PSA/PSE u karcinomu prostaty za použití adenovirů je slibnou budoucností pro specifickou genovou terapii

7. Kopetz ES, Nelson JB, Carducci JA. Endothelin 1 as a target for therapeutic intervention in prostate cancer: Invest New Drug 2002; May 20 (2): 173–182.
8. Norman P. Atrasentan Abbott: Curr Opin Investig Drug 2002; Aug 3 (8): 1240–1248.
9. Rodriguez R, et al. Prostate attenuated replication competent adenovirus (ARCA) CN706: a selective cytotoxic for prostate specific antigen positive cancer cells: Cancer Res 1997; Jul 1, 57 (13): 2559–2563.
10. Zhong H, et al. Modulation of hypoxia inducible factor 1alpha expression by the epidermal growth factor/phosphatidylinositol 3kinase/PTEN/AKT/FRAP pathway in human cancer cells: implications for tumor angiogenesis and therapeutics: Cancer Res 2000; Mar 15, 60 (6): 1541–1545.