

Ląstelės vėžinės transformacijos molekuliniai mechanizmai ir jų ypatumai CNS gliomose

D. Skiriutė*
V. Deltuva**
A. Tamašauskas**
A. Matukevičius**
D. Šilkūnas***
P. Grigaitė*
K. Skauminas*

**Biomedicinių tyrimų instituto
Neuromokslų laboratorija*

***Biomedicinių tyrimų instituto
Neuromokslų laboratorija,
Kauno medicinos universiteto
klinikų Neurochirurgijos klinika*

****Kauno medicinos universiteto
klinikų Neurochirurgijos klinika*

Santrauka. Straipsnyje apžvelgiami ląstelės proliferaciją, diferenciaciją, apoptozę ir angiogenezę reguliuojančių veiksnių pakitimai navikinėse ląstelėse ir jų ypatumai CNS gliomose. Aptariamas ląstelės dalijimasi skatinančių onkogenų koduojamų ciklinų, tarpląstelių mitogenų, augimo veiksnių ir jų receptorių (EGFR, PDGFR ir kt.), antiapoptozinio (*Bcl-2*, *Bcl-x* ir kt.) ir proapoptozinio signalo genų (*Bax*, *Bad* ir kt.) reguliavimas, diferenciacijos signalus blokuojančio *c-myc* onkogeno veikla. Taip pat aptariama angiogenezės skatintojų (VEGF ir kt.) ir reguliatorių (PI3K, Ras) įtaka navikinei transformacijai bei CNS gliomų vystymuisi. Literatūros analizė rodo, kad galvos smegenų navikai formuojasi dėl daugelio reguliacinių kelių sutrikimų ląstelėje. Tarpusavyje susijusių ląstelės ciklo reguliacijos, diferenciacijos stimulų, apoptozės ir angiogenezės veiksnių pakitimai yra pagrindinės navikų genetinio nestabilumo ir heterogeniškumo priežastys. Kartu su vėžinėje ląstelėje nustatomais pažeidimais apžvalgoje glaustai pateikiami kai kurie galimi navikų terapijos sprendimai.

Raktažodžiai: onkogenai, naviko supresoriai, apoptozė, angiogenezė, gliomos.

Neurologijos seminarai 2006; 10(29): 133–138

ĮVADAS

Nustatyta, kad naviko vystymasis progresuoja, kaupiantis genetiniams ir epigenetiniams pakitimams ląstelėje. Šie pakitimai apima daugybinius onkogeninius mechanizmus, kurie, veikdami kartu, apsprendžia vėžinės ląstelės fenotipą. Dažniausiai šio fenotipo ląstelėse nustatomi pokyčiai yra tokie: ląstelės ciklo ir diferenciacijos sutrikimai, sumažinta apoptozės indukcija, angiogenezės indukcija, neribotas replikacinis aktyvumas, ląstelių judrumo pasikeitimai, invazinis augimas bei metastazavimas [1, 2]. Daugybinių genų, kontroliuojančių ląstelės dalijimasi, apoptozę, angiogenezę, pažeidimai bei epigenetiniai pokyčiai yra pagrindinė vėžinių ląstelių genetinio nestabilumo (greito mutacijų kaupimo) priežastis [3]. Žmogaus genome šiuo

metu nustatyta apie 290 vėžio genų, kurių pažeidimai lemia onkogenezę [4].

Ankstyvose navikinės transformacijos stadijose dažniausiai nustatomi ląstelės dalijimosi ciklo pažeidimai ir atsparumas apoptozei, lemiantys navikinių ir sveikų ląstelių balansą audinyje. Navikui progresuojant, aktyvinamas angiogenezės procesas, ląstelių judrumo pasikeitimai ir metastazavimas. Vėžio genų (onkogenai ir naviko slopikliai), atsakingų už ląstelės ciklo, apoptozės ir angiogenezės procesus, pažeidimai navikuose nustatomi dažnai [1, 3, 5]. Genetinių pakitimų seka ir jų rinkinys navike priklauso nuo vėžinės ląstelės genomo ir įgimtų genetinių defektų. Todėl navikuose nustatomi genetiniai pažeidimai skiriasi. Tai lemia ir skirtingų terapijos priemonių taikymą. Pastarojo dešimtmečio intensyvūs vėžio biologijos tyrimai turėjo įtakos reikšmingai pažangai kai kurių navikų terapijoje (krūties, plaučių, prostatos). Tačiau dauguma priemonių, efektyviai taikytų šiems navikams gydyti, pasirodė visiškai netinkamos CNS navikų terapijai. Manoma, jog tai lemia šių navikų fenotipinis ir genotipinis heterogeniškumas [2]. Todėl straipsnyje atkreipiamas dėmesys į CNS navikuose nustatomus genetinius pažeidimus ir jų kliniškas išraiškas.

Adresas:

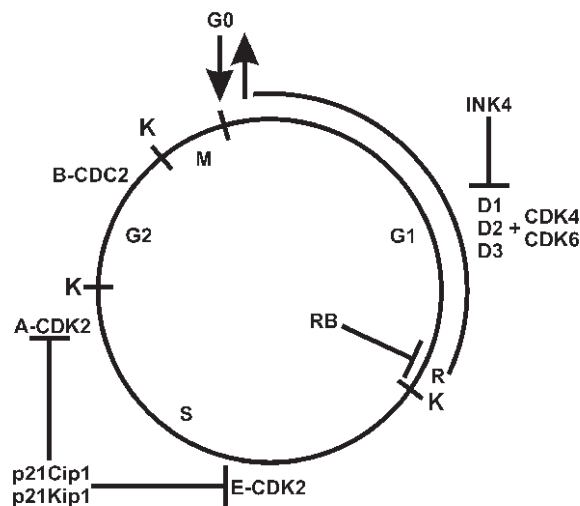
*D. Skiriutė
Biomedicinių tyrimų institutas, Neuromokslų laboratorija
Eivenių g. 2, LT-50161 Kaunas
Tel. (8 37) 79 54 82, faks. (8 37) 33 17 67,
el. paštas: d.skiriute@gmf.vdu.lt*

LĄSTELĖS CIKLO REGULIAVIMO SUTRIKIMAI

Ląstelė ciklo metu auga, replikuoja genomą ir pasidalija į dvi naujas ląsteles. Prieš dalijimąsi praeina kelios fazės: G1 fazė, kurioje vyksta pasiruošimas DNR sintezei; S fazė – DNR sintezė; G2 fazėje pasiruošama mitozei ir mitozės – M fazė. Naujos ląstelės gali pradėti mitozinį ciklą iš naujo arba pereiti į G₀ – laikinos ramybės stadiją ar diferenciaciją. Dalijimąsi reguliuojantiems signalams ląstelė jautriausia G1 ir G2 ciklo fazėse. Ląstelės, gavusios augimą skatinančius signalus, G1 fazėje ima ruošti chromosomų replikacijai (S fazei). Ląstelei pereinant iš G1 į S fazę bei tarp kitų ciklo fazių yra ląstelės ciklo reguliavimo kontroliniai taškai (K), kuriuose pagal gaunamus signalus ciklas tęsiasi arba stabdomas (1 pav.). Normaliose ląstelėse, gavus signalą, ciklas stabdomas, kol visi sutrikimai (replikacijos klaidos, DNR pažeidimai ir pan.) ištaisomi. Vėžinėse ląstelėse ciklo kontrolinių taškų reguliacija paprastai yra sutrikusi, todėl ląstelės nuolat yra cikle, nepriklausomai nuo mitogeninių signalų ir DNR pažeidimų. Tokiu būdu neištaisyti pažeidimai ląstelėje kaupiasi, jai dalijantis, mutacijas kaupiančių ląstelių skaičius didėja, morfologiškai stebimas naviko progresavimas.

Tam, kad pradėtų ciklą, ląstelė turi gauti dalijimąsi skatinančius signalus [6, 7]. Tokie signalai yra mitogeniniai augimo veiksniai (PDGF – trombocitams būdingas augimo veiksnys, EGF – epiderminio augimo veiksnys, FGF – fibroblastų augimo veiksnys ir kt.), tarpląstelinio užpildo komponentai ir adhezijos (prisitvirtinimo) molekulės [1]. Mitybinėse terpėse kultivuojant normalių ląstelių kultūras be šių signalinių komponentų ląstelės nesidalija. Tuo tarpu navikinės ląstelės nėra tokios jautrios augimo veiksnių trūkumui, nes manoma, kad pačios geba generuoti joms reikalingus augimo signalus arba skatinti aplink esančias sveikas kaimynines ląsteles išskirti reikiamus mitogeninių molekulių kiekius [1]. Padidėjusi augimo veiksnių (pvz., PDGF) raiška nustatoma daugelyje navikų: krūties vėžio atveju [8], galvos smegenų navikuose (glioblastomose, oligodendrogliomose) ir pan. [9–11]. Mažo piktybiškumo galvos smegenų gliomose nustatomi *PDGF* onkogeno raiškos pakitimai, kartu su *tp53* geno mutacija, alelių praradimais 1p ir 19q chromosomų dalyse, yra siejami su lėtu naviko augimu ir ilgesniu pacientų išgyvenamumu [12].

Augimo veiksniai ląstelėje yra neatsiejami nuo jų receptorių. Ląstelės paviršiaus receptoriai atlieka augimo signalo nešiklio į ląstelės vidų vaidmenį. Tokios molekulės yra PDGFR (trombocitų kilmės augimo veiksnio receptoriai), EGFR (epiderminio augimo veiksnio receptoriai) ir kt. [1]. Augimo veiksnio prisijungimas prie receptoriaus dalies, kuri yra ląstelės išorėje, aktyvina jo viduląstelinį katalizinį domeną. Prie aktyvinto domeno jau gali prisijungti viduląstelinės signalo pernešimo molekulės, tokios kaip guanozino trifosfazę aktyvinantis Ras baltymas, fosfatidilinozitol-3-kinazė (PI3) ir pan. Šių molekulių fosforilinimas sukelia dalijimąsi skatinančių signalų kaskadą



1 pav. Normalaus fenotipo ląstelės dalijimosi ciklo reguliavimo principinė schema.

K – ląstelės ciklo kontroliniai taškai. Veikiant mitogeniniams signalams, ląstelė pereina iš ramybės būsenos G₀ į dalijimosi fazę G1. Pagrindiniai G1-S-G2 fazių reguliatoriai yra ciklinų (D, E, A, B) ir cdk 2, 4, 6 kompleksai. Cdk inhibitoriai (*INK* ir *CIP* genai), jungdamiesi prie cdk, veikia kaip ląstelės ciklo slopintojai. Perėjimą G1/S kontroliniame taške R reguliuoja *Rb* genas.

ląstelėje [13]. Signalų perdavimo receptorių hiperekspresija ar receptoriaus struktūriniai pakitimai, nepriklausomai nuo ligando kiekio, ląstelėje generuoja augimą skatinantį signalą. EGF/EGFR, TGF- (transformuojančiojo augimo veiksnys) ir kitų augimo veiksnių bei jų receptorių genų pakitimai (aktyvinančios taškinės mutacijos, delecijos, translokacijos, amplifikacijos) autokrininiu ar parakrininiu būdu ląstelę nuolat skatina dalytis [13–16]. Augimo veiksnių ir jų receptorių pakitimai lemia intensyvių navikų augimą, gebėjimą išvengti apoptozės, didelį invazyvumą ir judrumą [13]. Glioblastomose stebimas EGF, TGF- augimo veiksnių raiškos padidėjimas. Gliomų ir kitų navikų ląstelių membranose EGFR tankumas yra padidėjęs apie 20 kartų, lyginant su normaliomis ląstelėmis [13]. Galvos smegenų navikuose *PDGFR* ir *EGFR* pažeidimai kartu nenustatomi: *PDGFR* raiška stebima daugelyje gliomų, tuo tarpu EGFR stebimas tik glioblastomose [17, 18]. Manoma, kad *EGFR* pažeidimai lemia didelio piktybiškumo laipsnio astroцитomų progresiją iki glioblastomų, kuriose šio geno amplifikacija nustatoma net 30–50% atvejų. Tikėtina, jog dėl tokio aukšto pažeidimų dažnio glioblastomose navikui būdingos savybės (intensyvi neovaskuliarizacija, aukštas proliferacijos indeksas, atsparumas apoptozei, invazyvumas) taip pat priklauso nuo EGFR [17, 19]. Apie 40% glioblastomų su EGFR amplifikacija nustatoma aktyvuotos geno formos del2-7EGFR (kitaip dar vadinamo EGFR, EGFRvIII) raiška. Dėl 2–7 egzono delecijos geno sekoje EGFR baltyme trūksta ekstraląstelinio ligando prisijungimo domeno dalies, ir tai lemia nuo ligando nepriklausomą pastovų receptoriaus aktyvumą ląstelėje [13]. Manoma, jog toks aktyvus EGFR, keisdamas antiapopto-

zinio onkogeno Bcl-X_L raišką ir slopindamas terapinių preparatų skatinamą apoptozę, apsprendžia CNS ir kitų navikų atsparumą chemoterapiniams preparatams (pvz., cisplatinai) [19].

Kaip augimą skatinantys signalai veikia ir ląstelės ciklo onkogenai. Citoplazmos baltymų – ciklinų ir nuo ciklinų priklausomų kinazių (cdk) kompleksai yra vieni pagrindinių ląstelės ciklo reguliavimo mechanizmų (1 pav.). Ciklinus aktyvina augimo veiksniai ir kiti mitogenai. Cdk reguliuojamos fosforiliniu, ciklinų ir CKI – cdk inhibitorių (p21, p27, p57, p16INK4a, p15INK4B ir kt.) kiekiu ląstelėje. Komplekse su ciklinais cdk tampa aktyvios ir fosforiliniu lemia daugelio kitų ląstelės ciklą reguliuojančių baltymų veiklą (p53, pRb, E2F ir kt.). Svarbiausias ciklinų/cdk kompleksų reguliuojamas baltymas ląstelėje yra retinoblastomos (pRb), veikiantis ląstelės ciklo kontroliuotame taške (K) G1/S perėjime. Aktyvintas ciklinų/cdk kompleksas fosforiliniu slopina naviko supresorių pRb. Hiperfosforilintas pRb neblokuoja transkripcijos veiksnio E2F, reguliuojančio G1/S perėjimui reikalingų genų raiškos (pvz., ciklino E), todėl ciklas stabdomas G1 fazėje [2, 7, 15, 20, 21]. Inaktyvius kinazes, ląstelė pereina į ramybės Go būseną, į diferenciacijos fazę arba senėjimą. Dažnai navikuose nustatoma ciklino D geno amplifikacija (genas amplifikuotas 10–100 kartų didelio piktybiškumo laipsnio astrocitomose) lemia ciklinų kiekio padidėjimą ląstelėje. Tada ciklinai aktyvina kinazes, ir ląstelė skatinama dalytis [17]. Galimas ląstelės navikinės transformacijos kelias yra ir pačių kinazių (cdk2,4,6 – anaplastinėse astrocitomose, tik cdk4 – oligodendrogliomose, cdk4,6 – melanomose) hiperekspresija (dėl mutacijų, amplifikacijos ar translokacijos) [2, 5]. DNR mikrogardelių metodu ištyrus 114 ląstelės ciklo genų skirtingo piktybiškumo laipsnio CNS gliomose, nustatyta, jog kinazės sudaro didžiausią pakitusios ekspresijos transkriptų dalį (64%) jau ankstyvoje piktybiškumo laipsnio stadijose [22].

Ląstelės augimą kontroliuoja ne tik augimo skatintojai, bet ir sekretuojami augimo slopikliai. Navikinės ląstelės yra atsparios augimą slopinantiems signalams (ekstraląstelinio TGF- veiksnio, DNR replikacijos pabaigos, mitotinės plokštelės formavimosi sutrikimo signalai ir pan.) [1]. Tokie tarpląsteliniai ir viduląsteliniai signalai normaliose ląstelėse reguliuoja pomitotinį perėjimą į ramybės (Go) fazę ar diferenciaciją. Taip palaikoma audinio homeostazė. Dauguma augimą stabdančių signalų yra perduodami jau minėtu pRb keliu [20]. Pažeidus Rb signalo perdavimo kelio komponentus (ciklinas D/Cdk4/p15INK4b/pRb), ląstelės įgyja atsparumą augimą slopinantiems signalams [17, 23, 24]. Rb kelias gali būti pažeistas pačiais įvairiausiais būdais: cdk inhibitorių koduojančio geno *p15INK4b* raiškos praradimu dėl promotoriaus hipermetilavimo ar dėl geno delecijos (glioblastomose 33–68%); *CDK4* geno mutacija, trukdanti prisijungti INK4 (inhibitor of cyclin dependent kinase Cdk4) baltymui prie CDK ar pažeidimais *Rb* gene (30% aukšto laipsnio astrocitomų) [2, 15–17, 25]. Ląstelei tokie pakitimai padeda išvengti ciklo stabdymo kritiniuose dalijimosi taškuose (G1/S) (1 pav.).

Dažnai ląstelės ciklo stabdymo mechanizmu gali būti diferenciacijos signalų aktyvinimas. Branduolio onkobaltymai Myc (protoonkogenas homologiškas myelocitomatozės virusui) ir antagonistiniai Mad (Max dimerizacijos baltymas) šeimos baltymai, būdami transkripcijos veiksniais, dalyvauja ląstelių diferenciacijoje. Balansas tarp šių baltymų, transkripcijos veiksmų, kiekio ląstelėse nulemia augimo ar diferenciacijos procesus [26]. Navikinės ląstelės dėl *c-myc* protoonkogeno (kontroliuojančio kitus ląstelės ciklo genus) hiperekspresijos tampa neįvairios diferenciacijos signalams. Iki galo nėra aišku, tačiau manoma, jog mitogeninių stimulų aktyvuotas Myc ląstelės dalijimąsi reguliuoja, skatindamas ciklinų kompleksų susidarymą ar slopindamas CKI (pvz., p21, p27) [27]. C-Myc onkobaltymo ar *c-myc* onkogeno hiperekspresija yra vienas dažniausiai nustatomų pažeidimų įvairiuose navikuose ir koreliuoja su dideliu piktybiškumo laipsniu. Tuo tarpu gliomose *Myc* geno amplifikacija yra reta. Manoma, jog navikinei transformacijai įvykti glijos ląstelėse pakanka Rb signalo kelio pažeidimų, ir papildoma aktyvacija *Myc* onkogeno nereikalinga [17].

Kol kas dar nėra išaiškinti visi augimo ir diferenciacijos signalų komponentai bei jų tarpusavio ryšiai, kurie svarbūs ląstelės navikinėje transformacijoje. Tokių signalų perdavimo kelių yra ne vienas. Čia aptarti tik dažniausiai nustatomų kelių pažeidimai. Navikui inicijuoti vienu atveju gali pakakti vieno kurio komponento pažeidimo, tuo tarpu kiti navikai vystosi sutrikus keliems signalams (pvz., EGFR amplifikacija ir p15 delecija). Suprantama, jog ir terapijos taikiniai tokiais atvejais yra skirtingi (p53, Rb, EGFR ar kt.).

APOPTOZĖS SUTRIKIMAI

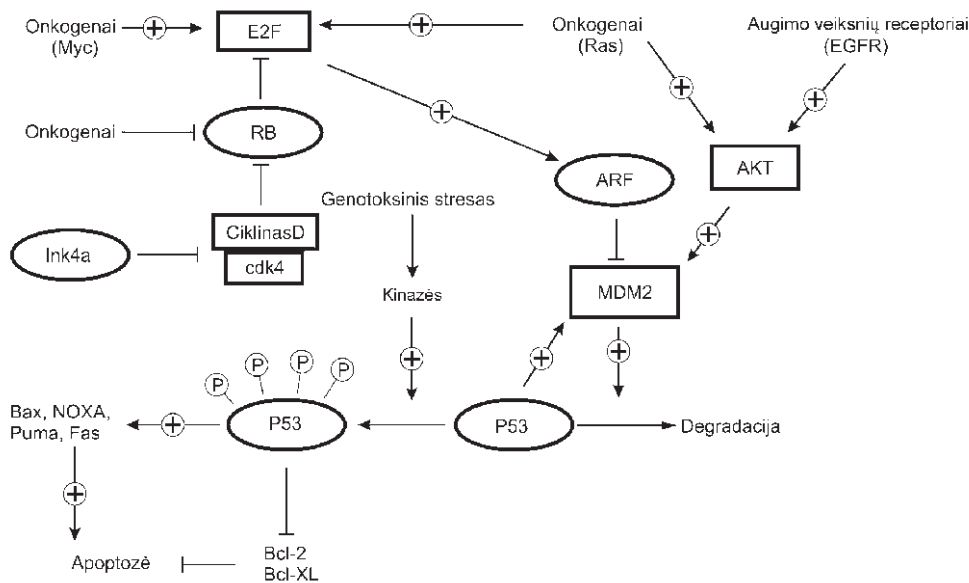
Navikinių ląstelių skaičiaus didėjimą apsprendžia ne tik dalijimosi intensyvumas, bet ir ląstelių žūties – apoptozės intensyvumas. Atsinaujinant ląstelių populiacijai, apoptozė vaidina priešingą mitozei vaidmenį: pašalina ląsteles, kurios yra neberekalingos ar genetiškai pakenktos. Sumažėjus apoptozei, susidaro ląstelių sankaupos, nes padidėja jų išgyvenamumas, todėl vystosi įvairūs navikai [14, 28–30].

Pastaraisiais metais išaiškinta, jog ląstelės proliferaciją kontroliuojančių molekulių (EGF/EGFR, PDGF/PDGFR, VEGF, PI3K, integrinai ir kt.) pakitimai gali keisti ląstelių jautrumą ir apoptozės signalams. Manoma, jog tolesniame piktybėjimo procese dalyvauja tik tos onkogenozės metu transformuotos ląstelės, kuriose kartu su ląstelės ciklo onkogenų mutacijomis pasireiškia ir apoptozės signalinių kelių defektai, leidžiantys tokioms ląstelėms išvengti žūties [31].

Ląstelė apoptozės gali išvengti keliais būdais: inaktyvinant proapoptozinius genus (*Bax*, *Bad*, *Bid*, *Bim* ir kt.), veikiančius kaip naviko slopikliai ir skatinančius apoptozę, bei aktyvinant Bcl-2 (B-ląstelių limfomos) šeimos antiapoptozinius genus, kurie veikia kaip onkogenai (*Bcl-2*,

Bcl-X_L, *Bcl-W* ir kt.), t. y. slopina apoptozę [1, 28, 32]. Esminis šioje reguliacijoje yra *p53* apoptozės veiksnys, kurio inaktyvacija, manoma, lemia daugiau nei 50% žmogaus navikų išsivystymo [1, 33]. *p53* indukuojama apoptozė yra atsakas į branduolio DNR pažeidimus ar hipoksiją. *p53* baltymas gali indukuoti apoptozę, didindamas proapoptozinio baltymo Bax kiekį ląstelėje [31, 34] (2 pav.). Padidėjęs Bax (*Bcl2*-asocijuotas X baltymas) kiekis savo ruožtu didina mitochondrinio apoptozės baltymo citochromo c atpalaidavimą. Taip gali prisdėti mitochondrijomis aktyvinama apoptozė, ir pažeista ląstelė gali būti sunaikinama [28]. Tyrimai su transgeninėmis pelėmis parodė, jog *Rb* geno inaktyvacija pelių galvos smegenų choroidiniame rezginyje sukelia lėtą galvos smegenų naviko augimą, tuo tarpu papildomai inaktyvavus *p53* geną, navikas, susilpnėjęs apoptozei, progresuoja labai greitai [35, 35]. Daugelyje navikų antiapoptoziniai signalai slopinami PI3K/Akt/PKB keliu (PI3K – fosfatidilinozitolio-3-kinazė; Akt/PKB – proteino kinazė B). Šis kelias aktyvinamas tarpląstelinių augimo veiksnių (pvz., IGF-1/2 – insulino tipo augimo veiksnys), viduląstelinių signalų (*Ras*, *myc* onkogenų aktyvacijos) ar naviko supresoriaus *PTEN* (fosfatazės ir tensino homologas) praradimo. Taip pat nustatytas ląstelės žūties receptorių (skatinančių apoptozę), tokių kaip Fas (navikų nekrozės veiksnio (NNF) baltymų šeimos receptorių), signalo slopinimo mechanizmas plaučių, gaubtinės žarnos karcinomose. Navikinės ląstelės gamina nepernešančius signalo Fas receptorių analogus, kurie prisijungia dalį žūties signalo molekulių (Fas ligandų) ir taip, nukreipdami proapoptozinį signalą nuo veiklių Fas receptorių, stabdo apoptozę [36].

Navikų terapijos vienas iš tikslų yra sukelti vėžinių ląstelių apoptozę. Kai kurių navikų, tarp jų galvos smegenų gliomų, atsparumas taikomai terapijai siejamas su apoptozės sutrikimais. Tyrimai rodo, jog apoptozės signalo perdavimo kelių yra ne vienas. Jie ląstelėje dubliuojasi, o navikuose gali būti pažeisti skirtingi apoptozės keliai bei jų komponentai. Todėl vėžio terapijoje galima panaudoti paralelius, veikiančius apoptozinius kelius ar jų komponentus ir atstatyti ląstelių žūties mechanizmą.



2 pav. Apoptozės indukcija ląstelėje p53 keliu.

Genotoksinis stresas, mitogenų sukelta onkogenų *myc* ir *ras* aktyvacija sukelia *p53* fosforilinimą kinazėmis. Tokiu būdu stabilizuotas *p53* veikia kaip proapoptozinių genų (*Bax*, *Nova*, *Puma*, *Fas*) transkripcijos veiksnys ir sukelia apoptozę. Tuo pačiu slopinama antiapoptozinių genų (*Bcl-2*, *Bcl-XL*) transkripcija. *p53* kiekis ląstelėje kontroliuojamas p14ARF ir MDM2 baltymų (MDM2 – daugybinis dvigubas mažas baltymas). Naviko slopintojai (INK4a, p14ARF, Rb) veikia *p53* reguliuojantį baltymą MDM2. Modifikuotas MDM2 negali prisijungti prie *p53*, todėl *p53* lieka veiklus ir gali sukelti apoptozę.

ANGIOGENEZĖS AKTYVACIJA

Normalioms ląstelėms transformuojantis į navikines, jos įgyja angiogeninį fenotipą. Angiogeneze yra procesas, kurio metu iš esančių kraujagyslių susiformuoja naujos. Kurį laiką angiogeneze buvo siejama tik su proangiogeninio veiksnio VEGF (kraujagyslių endotelio augimo ir pralaidumo veiksnys) aktyvumu navikinėse ląstelėse (glioblastomose jo aktyvumas padidėja ~50 kartų) [37]. Tačiau šiuo metu jau yra aišku, jog šis procesas ląstelėje reguliuojamas daugelio proangiogeninių ir antiangiogeninių molekulių balanso, t. y. vyksta proangiogeninių veiksmių ir jų receptorių aktyvinimas ir antiangiogeninių veiksmių slopinimas. Navikinės ląstelės sintezuoja daugelį kraujagyslių susidarymą skatinančių augimo veiksnių, tokių kaip VEGF, bFGF (fibroblastų augimo veiksnys), TGF- β , PDGF ir kt. Jie veikia prisijungdami prie transmembraniinių tirozino kinazės receptorių endotelinėse ląstelėse ir tarpląsteliniame užpilde [1, 7, 38]. Dėl hipoksijos padidėjusi viduląstelinė HIF-1 (hipoksijos indukuojamo veiksnio) koncentracija aktyvina VEGF sekreciją ir jo receptoriaus (VEGFR) ekspresiją. Tokiu būdu aktyvinamos epitelinės ląstelės ir pradedama angiogeneze [39]. Sumažėjęs hipoksijai, sumažėjęs HIF-1 kiekis slopina VEGF transkripciją, ir angiogeneze stabdoma. Angiogenezės metu susidariusios kraujagyslės dažnai yra struktūriškai ir funkciškai nekokybiškos (susuksios, neorganizuotos į smulkesnius kapiliarus, nesandarios, hemoraginės), todėl ląstelių aprūpinimas deguonimi ir maisto medžiagomis

išlieka chaotiškas. Taip susidariusios naujos kraujagyslės proangiogeninių veiksnių aktyvumą ne mažina, o toliau skatina.

Angiogenezę gali indukuoti antiangiogeninių veiksnių (endostatino, angiostatino, trombospondino (TSP-1) ir kt.) raiškos slopinimas. Tyrimai su Li-Fraumeni sindromo pacientų fibroblastų ląstelių kultūra *in vitro* parodė, jog kai kurių navikų ląstelėse p53 veikia kaip trombospondino reguliatorius – p53 pažeidimai ar raiškos slopinimas mažina trombospondino kiekį, ir tokiu būdu angiogenezę aktyvina [40].

Be augimo veiksnių, angiogenežėje svarbios ir jų aktyvinamos viduląstelinės signalo perdavimo molekulės (pvz., PI3K) bei naviko supresorių praradimai ląstelės genome. PI3K/Akt/PTEN ir Ras signalo perdavimo kelių komponentai dalyvauja angiogenezės veiksnio VEGF, HIF-1 ir trombospondino pusiausvyros reguliacijoje. Šis kelias aktyvinamas PI3K amplifikacijos, Akt kinazės hiperekspresijos, PDGFR, EGFR, VEGFR, IGF, FGF, Ras aktyvumu ir PTEN praradimu [38]. Piktybinės gliomos, kuriose nustatomas PI3K/Akt kelio aktyvumo padidėjimas, pasižymi aukštu invazyvumu. Dėl slopiklio PTEN, susijusio su naviko augimu ir invazyvumu, mutacijų PI3K/Akt signalo kelias sutrinka 30–44% didelio piktybiškumo laipsnio gliomų [17]. Ląstelių adheziją, migraciją ir dalijimąsi reguliuojančio *Ras* onkogeno aktyvinančios mutacijos pasireiškia apie 30% navikų (dažniausiai kepenų karcinomose), tuo tarpu galvos smegenų navikuose šio geno pažeidimai reti, nors geno raiškos padidėjimas stebimas labai dažnai [13].

Dar vienas svarbus, tačiau mažai ištirtas veiksnys, dalyvaujantis kraujagyslių formavimesi, yra angiopoetinas. Angiopoetinas ir jo receptoriai stipriai išreikšti astrocitomose bei glioblastomose, kuriose koreliuoja su piktybiškumo laipsniu [41].

Navikinėms ląstelėms būdingos tirozino kinazės receptorių bei protoonkogenų mutacijos, kurios skatina angiogeninių stimulų (VEGF) raišką. Dėl to atsiranda ląstelės su padidėjusiu proliferaciniu aktyvumu, mutatoriniu fenotipu bei padidėjusiu judrumo savybėmis, o tai reiškia ir padidėjusį invazinį augimą. Ląstelė su tokiais pakitimais pati įgyja savybę gaminti ir sekretuoti daugelį angiogenezės aktyvatorių, pvz., VEGF [42, 43].

Taikant antiangiogeninę navikų terapiją pastebėta, jog navikinių ląstelių atsakas į ją labai skirtingas. Manoma, jog tai priklauso nuo angiogenezės veiksnių, kurie gali skirtis, atsižvelgiant į naviko tipą, jo dydį ir piktybiškumo laipsnį. Pavyzdžiui, vienuose navikuose angiogenezę palaiko VEGF, kituose – FGF veiksnio raiška [44].

Kol kas nėra nustatyta mechanizmo, paaiškinančio angiogenezės reguliatorių tarpusavio balansą navike. Nežinoma ir visų biologinių antiangiogenezės ir augimo veiksnių slopinimo kelių, todėl labai sunku numatyti kompleksinės terapijos (antiangiogeninių preparatų ir radioterapijos) bendrą efektą. Šiuo metu daugiausia pastangų dedama kuriant PI3K/Akt signalo perdavimo kelią veikiančius preparatus (pvz., preparato Wortmanin'o, slopinančio PI3K aktyvumą ir aktyvinančio apoptozę, tyrimai) [38].

APIBENDRINIMAS

Šioje apžvalgoje trumpai aptarėme keletą esminių navikinei transformacijai būdingų ląstelės pakitimų ir jų ypatumus CNS gliomose. Literatūros analizė rodo, kad galvos smegenų navikuose nustatomi visi aptarti ląstelių piktybėjimo keliai. Bendrai onkogenezei būdinga tai, kad pakitimai ląstelėse, jų skaičius ir seka labai skiriasi – tai priklauso nuo navikų tipų ir potipių. Kai kuriuose navikuose tam tikrų genų pažeidimai gali atsirasti pradiniam onkogenezės etape, kituose – augliui progresuojant. Todėl šių veiksnių nulemtos biologinės savybės gali pasireikšti skirtingu naviko vystymosi metu. Naviko vystymuisi reikalingų pažeidimų skaičius taip pat skiriasi. Vienuose navikuose vieno kurio nors veiksnio pažeidimo pakanka iš karto keletui morfologinių pokyčių ląstelėje sukelti (pvz., dėl p53 geno pažeidimų gali suaktyvėti angiogenezę, atsirasti atsparumas apoptozei, ląstelės ciklo aktyvacija bei genetinis nestabilumas). Tokių ląstelių virtimo navikinėmis kelias labai sutrumpėja. Kituose navikuose simultaniai kelių reguliavimo veiksnių genetiniai ar epigenetiniai pažeidimai padidina naviko proliferacijos savybes ir agresyvumą (pvz., p16(INK4a), p53 ir p27 naviko slopiklių aktyvumo praradimas). Pastarieji veiksniai savo ruožtu padeda įgyti kitas progresavimui reikalingas savybes. Tai lemia navikų biologinių heterogeniškumą ir apsunkina efektyvių terapijų taikinių pasirinkimą.

Gauta:
2006 07 01

Printa spaudai:
2006 07 20

Literatūra

- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57–70.
- Newton HB. Molecular neuro-oncology and development of targeted therapeutic strategies for brain tumors. Part 5: apoptosis and cell cycle. *Expert Rev Anticancer Ther* 2005; 5(2): 355–78.
- Gray JW, Collins C. Genome changes and gene expression in human solid tumors. *Carcinogenesis* 2000; 21(3): 443–52.
- Futreal PA, Coin L, Marshall M, et al. A census of human cancer genes. *Nature Reviews Cancer* 2004; 4(3): 177–83.
- Malumbres M, Carnero A. Cell cycle deregulation: a common motif in cancer. *Prog Cell Cycle Res* 2003; 5: 5–18.
- Kopnin BP. Targets of oncogenes and tumor suppressors: key for understanding basic mechanisms of carcinogenesis. *Biochemistry (Moscow)* 2005; 65(1): 2–28.
- Sherr CJ, Roberts JM. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 1999; 13(12): 1501–12.
- Carvalho I, Milanezi F, Martins A, et al. Overexpression of platelet-derived growth factor receptor a in breast cancer is associated with tumour progression. *Breast Cancer Res* 2005; 7(5): R788–95.
- Shih AH, Holland EC. Platelet-derived growth factor (PDGF) and glial tumorigenesis. *Cancer Lett* 2006; 232(2): 139–47.
- Collins VP. Brain tumours: classification and genes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2004; 75: 2–11.

11. Pietras K, Sjöblom T, Rubin K, et al. PDGF receptors as cancer drug targets. *Cancer cell* 2003; 3(5): 439–43.
12. Ma D, Nutt CL, Shanesaz P, et al. Autocrine platelet-derived growth factor-dependent gene expression in glioblastoma cells is mediated largely by activation of the transcription factor sterol regulatory element binding protein and is associated with altered genotype and patient survival in human brain tumors. *Cancer Res* 2005; 65: 5523–34.
13. Newton HB. Molecular neuro-oncology and development of targeted therapeutic strategies for brain tumors. Part 1: growth factor and Ras signaling pathway. *Expert Rev Anticancer Ther* 2003; 3(5): 595–614.
14. Gričiūtė L, Adomaitienė D. Kancerogenezė ir vėžio biologija (Cancerogenesis and cancer biology). Vilnius, 1998.
15. Sherr CJ. The pezcoller lecture: cancer cell cycles revisited. *Cancer Res* 2000; 60: 3689–95.
16. Walworth NC. Cell-cycle checkpoint kinases: checking in on the cell cycle. *Curr Opin Cell Biol* 2000; 12: 697–704.
17. Maher EA, Furnari FB, Bachoo RM, et al. Malignant glioma: genetics and biology of a grave matter. *Genes Dev* 2001; 15(11): 1311–33.
18. Merlo A. Genes and pathways driving glioblastomas in humans and murine disease models. *Neurosurgery Review* 2003; 26: 145–58.
19. Nagane M, Coufal F, Lin H, et al. A common mutant epidermal growth factor receptor confers enhanced tumorigenicity on human glioblastoma cells by increasing proliferation and reducing apoptosis. *Cancer Res* 1996; 56(21): 5079–86.
20. Hahn WC, Weinberg RA. Modelling the molecular circuitry of cancer. *Nature Rev Cancer* 2002; 2(5): 331–41.
21. Wassmann K, Benezra R. Mitotic checkpoints: from yeast to cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11(1): 83–90.
22. Pillai AA, Bhattacharya RN, Radhakrishnan VV, Banerjee M. Molecular signatures of cell cycle transcripts in the pathogenesis of Glial tumors. *J Carcinog* 2004; 3(1): 11.
23. Louis DN, Cavenee WK. Molecular biology of central nervous system tumors. In: DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. Principles and Practice of Oncology. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997.
24. Ruas M, Peters G. The p16INK4a/CDKN2A tumor suppressor and its relatives. *BBA* 1998; 1378: F115–77.
25. Garrett MD. Cell cycle control and cancer. *Curr Sci* 2001; 81(5): 515–22.
26. Iritani BM, Delrow J, Grandori C, et al. Modulation of T-lymphocyte development, growth and cell size by the Myc antagonist and transcriptional repressor Mad1. *EMBO J* 2002; 21(18): 4820–30.
27. Ponzilli R, Katz S, Barsyte-Lovejoy D, Penn L. Cancer therapeutics: Targeting the dark side of Myc. *EJC* 2005; 41(16): 2485–501.
28. Lesauskaitė V, Ivanovienė L. Programuota ląstelių mirtis: molekuliniai mechanizmai ir jų nustatymo metodai (Programmed cell death: molecular mechanisms and detection). *Medicina* 2002; 38(9): 869–75.
29. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 2000; 407: 770–6.
30. Mackiewicz Z, Stepaniuk M, Mackevičius ZJ, Rimkevičius A. Apoptozė ir senėjimas (Apoptosis and senescence). *Gerontologija* 2001; 2(3): 170–5.
31. Vousden KH, Lu X. Live or let die: the cell's response to p53. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(8): 594–604.
32. Kroemer G. The pro-oncogene Bcl-2 and its role in regulating apoptosis. *Nat Med* 1997; 3: 614–20.
33. Mayo LD, Donner DB. The PTEN, Mdm2, p53 tumor suppressor-oncoprotein network. *TIBS* 2002; 27(9): 462–7.
34. Ginsberg D. E2F1 pathways to apoptosis. *FEBS Lett* 2002; 529(1): 122–5.
35. Symonds H, Krall L, Remington L, et al. p53-dependent apoptosis suppresses tumor growth and progression in vivo. *Cell* 1994; 78(4): 703–11.
36. Pitti RM, Marsters SA, Lawrence DA, et al. Genomic amplification of a decoy receptor for Fas ligand in lung and colon cancer. *Nature* 1998; 396(6712): 699–703.
37. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology* 2005; 69(3): 4–10.
38. Newton HB. Molecular neuro-oncology and development of targeted therapeutic strategies for brain tumors. Part 2: PI3/Akt/PTEN, mTOR, SHH/PTCH and angiogenesis. *Expert Rev Anticancer Ther* 2004; 4(1): 105–28.
39. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. Molecular biology of the cell. 4th. New York: Garland publishing, 2002.
40. Volpert OV, Dameron KM, Bouck N. Sequential development of an angiogenic phenotype by human fibroblasts progressing to tumorigenicity. *Oncogene* 1997; 14(12): 1495–502.
41. Ding H, Roncari L, Wu X, et al. Expression and hypoxic regulation of angiopoietins in human astrocytomas. *Neuro-oncology* 2001; 3(1): 1–10.
42. Arbiser JL, Moses MA, Fernandez CA, et al. Oncogenic H-ras stimulates tumor angiogenesis by two distinct pathways. *PNAS* 1997; 94: 861–6.
43. Evan GI, Vousden KH. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 2001; 411(6835): 342–8.
44. Nelson NJ. Angiogenesis research is on fast forward. *JNCI* 1999; 91(10): 820–2.

D. Skiriutė, V. Deltuva, A. Tamašauskas, A. Matukevičius, D. Šilkūnas, P. Grigaitė, K. Skauminas

MOLECULAR MECHANISMS OF TUMORIGENIC TRANSFORMATION IN A CELL WITH A SPECIAL EMPHASIS ON CNS GLIOMAS

Summary

The alterations in factors regulating proliferation, differentiation, apoptosis and angiogenesis in cancer cells with special emphasis on CNS gliomas will be reviewed. We are discussing oncogenes which are important in a cell proliferation including cyclins, extracellular mitogens, growth factors as well as their associated receptors (EGFR, PDGFR, etc.). The role of antiapoptotic (*Bcl-2*, *Bcl-x*, etc.) and proapoptotic (*Bax*, *Bad*, etc.) signal inducers and differentiation signal inhibitors like *Myc* gene family oncogenes are reviewed. We also discuss the influence of stimulators (VEGF, etc.) and regulators (PI3K, Ras) of angiogenesis on cancerous transformation as well as on glioma development. Literature review shows that brain tumors result from simultaneous dysfunction of a variety of regulatory pathways in a cell. The alterations in genes targeting inter-related pathways of a cell cycle, differentiation and apoptosis are known to be the main causes of genetic instability and highly complex phenotype development in tumors. Short review on cancer therapy approaches in the transformed cells is given in this paper too.

Keywords: oncogenes, tumor suppressors, apoptosis, angiogenesis, gliomas.