VÝZNAM NENASYCENÝCH MASTNÝCH KYSELIN V ROZVOJI A CHEMOPROFYLAXI NÁDORŮ KOLOREKTA

THE IMPORTANCE OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS FOR COLON CANCER PROMOTION AND CHEMOPROPHYLAXIS

KOZUBÍK A., HOFMANOVÁ J.

BIOFYZIKÁLNÍ ÚSTAV AV ČR, BRNO

Souhrn: Lipidy a zejména PUFA, včetně jejich metabolitů, patří mezi významné epigeneticky působící faktory schopné ovlivnit rozvoj nádorů kolorekta. Je nesporné, že efekty jsou závislé nejen na typu PUFA (n-3, n-6), ale i na koncentraci těchto látek. Za hlavní mechanismy jejich působení lze považovat 1) přímé ovlivnění aktivity transkripčních faktorů regulujících expresi genů významných z hlediska cytokinetiky, 2) produkci biologicky aktivních metabolitů - eikosanoidů působících především na přenos signálů cytokinů a imunitní systém a 3) produkci reaktivních kyslíkových metabolitů vznikajících peroxidací lipidů. Je třeba mít na paměti, že důležitá je rovnováha jak v přísunu prekursorových PUFA tak i v produkci jednotlivých jejich metabolitů. Klinicky významný je fakt, že nežádoucím efektům PUFA je možné předcházet správným složením výživy nebo je lze farmakologicky modulovat např. pomocí NSAID nebo antioxidačně působících preparátů.

Klíčová slova: karcinogeneze - nádory tlustého střeva - fosfolipidy - eikosanoidy - nesteroidní antiflogistika - buněčná signalizace - cytokiny

Summary: Lipids and namely polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and their metabolites - eicosanoids - belong to the important epigenetic factors involved in promotion of colorectal malignances. It is evident that these effects depend both on types of PUFAs and their concentration. As the main mechanisms of their action, we can consider 1) direct influencing of transcription factor activity affecting the expression of genes involved in regulation of cytokinetics, 2) production of eicosanoids acting above all in the cytokine signal transduction and in the immune system, and 3) effects of reactive oxygen species generated during lipid peroxidation. It should be stressed that the balance between the availibility of precursor PUFAs and the production of their individual metabolites is also significant. Of particular importance from the clinical point of view is the possibility to precede undesirable effects of PUFAs by food composition and to modulate their effects using nonsteroidal antiinflammatory drugs and/or antioxidants.

Keywords: carcinogenesis - colon cancer - phospholipids - eicosanoids - nonsteroidal antiinflammatory drugs - signal transduction - cytokines

Úvod

Karcinogeneze je vícestupňový proces. Jednotlivé fáze jsou regulovány nezávisle v oddělených časových obdobích rozdílnými působky a mechanismy. Zatímco primárním zásahovým místem pro iniciaci je DNA, za primární místo pro působení epigenetických - negenotoxicky působících faktorů uplatňujících se v podpůrné - „promotion" fázi je považována plazmatická membrána. Jestliže stadium iniciace nemůžeme bezprostředně ovlivnit (zejména ve vztahu ke konkrétnímu jedinci vzhledem k výrazné stochastické povaze mutageneze), existují možnosti zasahovat do fáze podpůrné. Má tedy smysl zabývat se problematikou související s regulací a možnostmi ovlivnění tohoto stadia karcinogeneze. Z obecného hlediska existuje řada faktorů negenotoxické povahy, které mohou modulovat vznik nádorů. Jedná se prakticky o všechny faktory vnějšího prostředí, které mohou ovlivnit proces karcinogeneze v pozdější fázi rozvoje. Jde zejména o zásahy do cytokinetiky změnami

1) exprese anebo funkce molekul zapojených v přenosu signálů přímo regulujících proliferaci, diferenciaci a programovanou buněčnou smrt (apoptózu), včetně exprese protoonkogenů a nádorově-supresorových genů anebo
2) signálů, které tyto funkce ovlivňují do určité míry nepřímo, jako jsou inhibice mezibuněčných spojení („gap junctional intercellular communication" - GJIC), ovlivnění funkce enzymů reparujících DNA, metylace DNA apod.

Modulace cytokinetiky negenotoxicky působícími faktory

Výsledky řady prací naznačily, že indukce buněčné proliferace může hrát úlohu v procesu vzniku a rozvoje nádorů (20). Je známo, že většina zjištěných negenotoxicky působících faktorů způsobuje krátkodobé nebo chronické zvýšení buněčné proliferace ve tkáních, kde jsou posléze detekovány známky nádorového bujení. Je však třeba zdůraznit, že stimulace buněčné proliferace je jen stěží jediným mechanismem účinků negenotoxicky působící podpory zhoubného procesu. Ovlivnění intracelulárních regulačních mechanismů může vést také ke změnám v diferenciaci a apoptóze buněk. Trvalejší poruchy regulace kteréhokoli z těchto procesů mohou navodit nerovnovážný stav, v němž převažuje produkce buněk, a který tak ve svém důsledku může mít rozhodující význam v karcinogenezi.

Negenotoxicky působící faktory mohou stimulovat buněčnou proliferaci různým způsobem. Jedna z hypotéz předpokládá, že tyto látky působí na cílovou tkáň cytotoxicky a v důsledku poškození je indukována reparační buněčná proliferace jako mechanismus kompenzující orgánové a tkáňové poškození. Tento proces může být do značné míry ovlivněn působením endogenních, tkáňově specifických faktorů, jako jsou například epidermální růstový faktor (EGF), transformující růstový faktor beta 1 (TGF-β1), kachektin - nádor nekrotizující faktor alfa (TNFα), interleukiny aj. Chronické toxické působení může vést k chronické zánětlivé reakci, jejímž konečným

důsledkem může být zvýšená produkce endogenních mutagenů - reaktivních forem kyslíku a dusíku. I když některé uvedené mechanismy by mohly být důležité z hlediska vývoje karcinomů kolorekta, lze říci, že za jedny z hlavních faktorů schopných ovlivnit jejich rozvoj jsou považovány faktory nutriční (25). Jedná se především o obsah a kvalitu tuků v potravě, dále o zastoupení vlákniny a antioxidačně působících látek. Následující odstavce jsou proto věnovány poznaným i předpokládaným epigenetickým mechanismům účinků některých těchto faktorů, především působení nenasycených mastných kyselin a jejich metabolitů.

Význam vysoce nenasycených mastných kyselin

Experimentální výsledky získané v systémech in vitro přinesly poznatek „paradoxu působení mastných kyselin" ukazující, že nízké koncentrace vysoce nenasycených mastných kyselin („polyunsaturated fatty acids" - PUFA) mohou stimulovat a vysoké koncentrace naopak inhibovat růst buněk in vitro (6). Důležitým se ukázal také poměr PUFA tříd n-3 obsažených většinou v tucích mořských ryb a tříd n-6 obsažených převážně v rostlinných olejích. PUFA mohou působit prostřednictvím mezibuněčných spojení (GJIC), která slouží k udržování homeostázy ve tkáních a souvisí s regulací buněčné proliferace, diferenciace, metabolické kooperace atd. Inhibice GJIC je jedním z důležitých mechanismů negenotoxické složky karcinogeneze. PUFA, které inhibjí GJIC tak mohou přispívat k rozvoji nádorů (14). PUFA tvoří důležitou součást fosfolipidů buněčných membrán. Dostupnost PUFA je závislá na jejich endogenní syntéze a přísunu z vnějšího prostředí ve formě potravy. Tím může docházet ke změnám ve složení membrán buněk, která může být zcela nezávislá na genomu. Struktura membrány má podstatný vliv na funkci membránových proteinů, afinitu receptorů ke specifickým ligandům, uvolňování a působení cytokinů a efekty zprostředkované systémem druhých poslů. Tak mohou PUFA hrát důležitou úlohu v přenosu signálů z mimobuněčného prostoru přímo, tj. samy plnit funkci druhých poslů. Bylo prokázáno, že např. kyselina arachidonová (AA, 20:4, n-6) a její metabolity eikosanoidy (viz níže) modulují aktivitu klíčových signálních enzymů včetně proteinkinázy C, mitogeny-aktivovaných proteinkináz, tyrozinkináz nebo GTP-vázajících proteinů, které jsou primárně stimulovány růstovými faktory, hormony nebo mediátory zánětu (7). Tento systém druhých poslů aktivuje transkripční faktory a indukuje expresi genů rané odpovědi („early genes"), k nimž patří např. c-fos, c-jun, c-myc nebo Egr-1. Jejich exprese podmiňuje transkripci tzv. „delayed early genes" nebo „late genes", které dále řídí buněčnou proliferaci, diferenciaci a apoptózu. Dále bylo zjištěno, že PUFA mohou ovlivňovat transkripci specifických genů přímo tím, že kontrolují aktivitu specifických transkripčních faktorů (např. NFκB, PPAR apod.) (21, 34).

Esenciální PUFA tříd n-3 a n-6 však mohou ovlivňovat počátek i rozvoj onemocnění řadou jiných mechanismů. Mohou např. působit na produkci žlučových kyselin nebo přímo na mikroprostředí střevního lumenu. Přeměna PUFA na eikosanoidy nebo peroxidace lipidových produktů může dále ovlivňovat proliferaci, diferenciaci, apoptózu, chemotaxi a motilitu nádorových buněk (viz dále). Současný výzkum je proto zaměřen zejména na podrobnější poznání významu PUFA v přenosu signálů růstových regulátorů uskutečňovaného interakcemi s proteinkinázami, lipázami nebo G-proteiny (2). Na buněčné a molekulární úrovni je dnes hlavní pozornost věnována zejména a) změnám ve složení PUFA v membránových fosfolipidech, b) změnám v peroxidaci lipidů, c) modulaci uvolňování biologicky aktivních produktů, eikosanoidů a d) kontrole dějů v buněčném jádře, tj. interakcím s jadernými receptory a účinkům na transkripci genů (36). Poznání těchto molekulárně biologických mechanismů by mohlo přispět k lepšímu pochopení a nové interpretaci výsledků ze studií in vivo.

Zatímco studie na laboratorních zvířatech potvrzují podpůrné účinky celkového obsahu tuků v dietě na rozvoj nádorů, úloha samotných PUFA (zvláště tříd n-3 a n-6) se jeví jako poněkud kontroverzní. Někteří autoři uvádějí, že rostlinné oleje bohaté na kyselinu linolovou (LA, 18:2, n-6) podporují vznik experimentálně indukovaných nádorů tlustého střeva (17). Naopak bylo zjištěno, že příjem zvýšeného množství n-3 PUFA může inhibovat nádorový růst, snižovat tvorbu metastáz a kachexii u zvířat i u lidí a zvyšovat cytotoxické účinky některých terapeutik (33). Uvažuje se, že za pozorované efekty zodpovídají změny v peroxidaci lipidů nebo produkci prostaglandinů, ovlivnění produkce cytokinů, ale i další účinky zasahující přenos signálů, specifické transkripční faktory a expresi genů v buňce (8, 29). Zatímco účinky PUFA na rozvoj primárních nádorů jsou často studovány, existuje jen velmi málo údajů o jejich vlivu na tvorbu metastáz. Výsledky z poslední doby však naznačují, že nejen n-6, ale i n-3 PUFA by mohly v určitých případech podporovat vznik a rozvoj metastáz (11).

Analýza membránových mastných kyselin u nádorových buněk sliznice tlustého střeva provedená v klinických studiích ukázala významné změny ve spektru a koncentraci PUFA ve srovnání s normální mukózou. U nádorů je redukována reesterifikace volných PUFA, což má za následek zvýšenou periferní utilizaci PUFA z potravy. Pacienti s nádory v pokročilém stavu onemocnění trpí často vážnou imunodeficiencí a kachexií. Tento stav pak indukuje vážné poruchy homeostázy v organismu a komplikuje terapii. Růst nádoru má značný dopad na stav metabolismu a na využití složek potravy, které se účastní udržování strukturální integrity na buněčné úrovni. Tyto a další poznatky bývají v poslední době zohledňovány při přípravě nových typů parenterálních výživ pro pacienty s nádory (42). Účinky parenterálních lipidových emulzí na imunitní systém a růst nádorů jsou ale mnohdy rozporuplné. Použití triglyceridů obsahujících mastné kyseliny se středním řetězcem (MCT) se zdá být výhodnější ve srovnání s triglyceridy s dlouhými řetězci PUFA (LCT). MCT by mohly působit velmi příznivě proti supresi imunitních a fagocytárních funkcí u silně stresovaných pacientů (40). Uvádí se, že dlouhotrvající parenterální výživa obsahující LCT může zvyšovat produkci TNFa (4). Produkce tohoto cytokinu může být ovlivněna take dietetickým poměrem n-3 a n-6 PUFA, což má velký význam u kachektických pacientů (13).

Metabolismus kyseliny arachidonové a eikosanoidy

K nejdůležitějším PUFA třídy n-6 patří kyselina arachidonová (AA), která je uvolňována z membránových fosfolipidů po působení různých stimulů. Je prekurzorem vysoce aktivních lipidových mediátorů označovaných souhrnně jako eikosanoidy. Vznik prostaglandinů (PG) a tromboxanů je katalyzován prostaglandin H syntázou (PHS), která může fungovat jako peroxidáza nebo cyklooxygenáza (COX), a která existuje ve dvou izoformách PHS1 a PHS2 (jinak též COX1 a COX2). Vznik hydroxytetraenoikových kyselin (HETEs), lipoxinů a leukotrienů (LT) je katalyzován lipoxygenázami (LOX) a do tvorby epoxykyselin a diolů je zapojen monooxygenázový systém cytochromu P450. Z klinického hlediska je důležité, že produkce eikosanoidů může být efektivně modulována s využitím specifických inhibitorů jednotlivých drah přeměny AA mezi něž patří řada tzv. nesteroidních antiflogistik (NSAID), běžně klinicky využívaných léčiv.

Úloha eikosanoidů v karcinogenezi

Již od roku 1980 se objevuje řada publikací, které dokládají úlohu eikosanoidů v karcinogenezi (10, 15). Prozatím je však stále obtížné vyslovit obecněji platné závěry, zejména s ohledem na velmi rozdílné vlastnosti různých typů nádorů. Rozdílné jsou i účinky jednotlivých typů eikosanoidů. Tak např. při výzkumu úlohy PG se ukázalo, jak problematické může být srovnání výsledků získaných in vitro a in vivo. Účinky PG, stejně jako jiných eikosanoidů, mohou být totiž in vivo často

ovlivněny účinky jiných biologicky aktivních látek jako jsou hormony a cytokiny. I přes tato úskalí se zdá, že výzkum pokročil nejdále ve směru poznání úlohy PG.

Účinky prostaglandinů

Bylo prokázáno, že nádory tlustého střeva a z nich odvozené buněčné linie mají zvýšenou aktivitu COX2 a v důsledku toho produkují vyšší množství PG (30). Zvláště PG řady E a F mohou přímo nebo nepřímo (přes imunosupresivní účinky) stimulovat jejich růst. Je doloženo, že COX1 zprostředkovává převážně „fyziologické" funkce PG, kdežto funkce COX2 je primárně spojována s patologickými stavy jako je zánět. Bylo prokázáno, že u nádorů tlustého střeva a rekta dochází k selektivně zvýšené expresi COX2 a zvýšené produkci PG. Zvýšená exprese COX2 v normálním epitelu střeva mění fenotyp buněk tak, že se stávají rezistentními k apoptóze a dochází ke změnám v jejich adhezivních vlastnostech, což může mít význam při tvorbě metastáz. V několika studiích byly naopak doloženy protinádorové účinky PGE in vivo. Po vyšších dávkách však byl pozorován silný vedlejší účinek na hladké svalstvo provázený průjmy a hypotenzí (26).

Mnoho nádorů a nádorových buněčných linií produkuje PG za různých podmínek a vykazuje specifické biologické odpovědi ve vztahu k působení endogenních nebo exogenně aplikovaných PG. Z řady studií však vyplývá, že jak PG tak jejich inhibitory mohou významně ovlivňovat růst nádorů in vitro i in vivo a mohou rovněž ovlivňovat tvorbu metastáz (27). V těchto procesech se však zřetelně uplatňují jak kvantitativní tak kvalitativní hlediska. Ve vztahu k buněčné proliferaci byl už dříve, podobně jako u samotných PUFA, prokázán tzv. „prostaglandinový paradox": PG mohou působit stimulačně i inhibičně v závislosti na koncentraci. Nízké koncentrace podporují a vysoké (blízké horní hranici fyziologického rozpětí) naopak inhibují proliferaci nádorových buněk (6). PG mohou působit přímo nebo nepřímými mechanismy jako je např. potlačení imunologického dohledu. Syntéza PG je dále provázena vznikem volných kyslíkových radikálů, které mohou rovněž ovlivňovat proliferaci a další procesy (např. apoptózu).

Během posledních let se pozornost obrátila k jiným typům PG jako jsou PGA, PGD a PGJ (cyklopentanové PG). Bylo prokázáno, že tyto látky vykazují silné protinádorové účinky a byly objasněny strukturálně funkční vztahy tohoto působení, což umožnilo syntézu jejich účinných analogů. Ukázalo se, že PGA a PGJ mohou účinkovat intracelulárně obdobným způsobem jako steroidy a indukovat v netoxických koncentracích zástavu buněčného cyklu (9).

Účinky leukotrienů

Zatímco úloze produktů COX v karcinogenezi tlustého střeva byla věnována velká pozornost, méně je známo o úloze produktů LOX v tomto procesu. Existují však důkazy, že produkty LOX aktivit, zvláště jejich meziprodukty hydroperoxy- a hydroxykyseliny (HPETE a HETE) mohu být pro rozvoj nádoru neméně důležité jako PG. Např. v modelu karcinogeneze tlustého střeva u hlodavců byly hladiny 12- a 15- HETE v nádoru zvýšeny oproti normální mukóze. Sulindac, který měl v těchto experimentech protektivní účinky, hladinu těchto látek významně snižoval. Při studiu účinků řady PG a LTB4 na proliferaci buněčných linií z lidského adenokarcinomu tlustého střeva in vitro a růst kolonocytů myší in vivo byla pozorována časově a koncentračně závislá stimulace proliferace. Přitom nebyl pozorován žádný účinek těchto látek na poměrné zastoupení buněk v jednotlivých fázích buněčného cyklu a apoptózu (32). Produkty LOX mohou stimulovat buněčnou proliferaci buď přímo nebo jako meziprodukty mitogenních signálních drah růstových faktorů (jako je EGF). Na modelech myších nádorů bylo prokázáno, že inhibitory 5-LOX navozují apoptózu. To znamená, že produkty 5-LOX by mohly být zapojeny v signálních drahách růstových faktorů působících proti apoptóze. S využitím inhibitorů LOX byla dále prokázána úloha metabolitů LOX ve stimulačním účinku LA a AA na růst myšího adenokarcinomu tlustého střeva. Úloha 5-, 12- a 15- LOX byla sledována rovněž přímým podáváním těchto produktů. Ukázalo se, že důležitou úlohu hraje nerovnováha mezi produkty těchto drah (18). Jiné studie prokázaly, že kolonocyty a nádor infiltrující leukocyty produkují velké množství LTB4 a 12- a 15-HETE. LTB4 a 12(R)HETE, která je ale produktem dráhy katalyzované cytochromem P-450, jsou schopny zvyšovat proliferaci nádorových buněk tlustého střeva (HT29 a HCT-15) in vitro bez účinku na poměrné zastoupení buněk v jednotlivých fázích buněčného cyklu a apoptózu. Tyto a některé další studie z poslední doby tak obracejí pozornost i k významu produktů třetí dráhy přeměny AA katalyzované P450-monooxygenázou (3).

V poslední době bylo prokázáno, že schopnost nádorů produkovat 12(S)-HETE (metabolit 12-LOX) pozitivně koreluje s jejich metastatickým potenciálem. 12(S)-HETE je klíčovou vnitrobuněčnou signální molekulou, která aktivuje proteinkinázu C a zprostředkovává biologické funkce mnoha růstových faktorů a cytokinů. Exogenní a nádorem produkovaná 12(S)-HETE moduluje řadu vlastností nádorových buněk (jako je adhezivita, invazivita, motilita atd.) a ovlivňuje též endoteliální buňky. Tyto skutečnosti vedou k úvahám o cíleném využití tohoto metabolitu v léčebných protokolech (16).

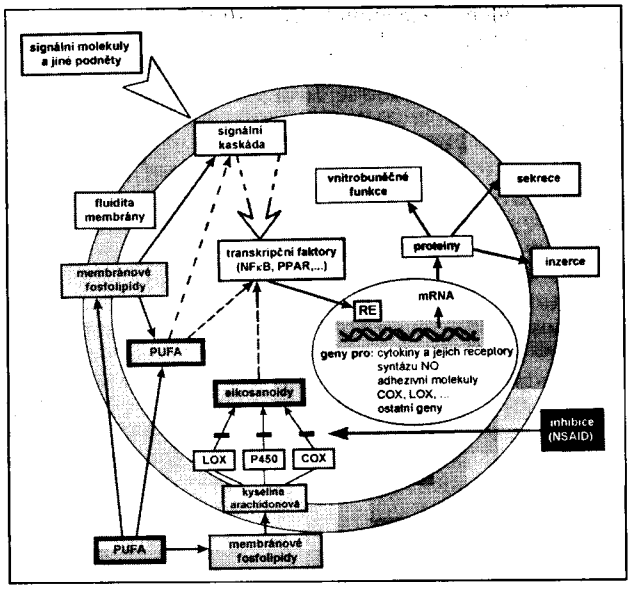
Metabolismus nenasycených mastných kyselin a působení cytokinů

Mnohé studie ukazují, že produkce i biologická funkce cytokinů může být regulována PUFA (tříd n-3 a n-6) a jejich metabolity (12). Je poměrně dobře doložena úloha fosfolipázy A_2, AA a jejích metabolitů v působení některých mitogenních růstových faktorů (např. EGF), které v součinnosti s ionty Ca^{2+} aktivují v první fázi příslušné kinázy. Tyto účinky jsou zprostředkovávány různými cestami přeměny AA a jsou závislé na typu buněk.

Méně je známo o úloze metabolismu AA v účincích faktorů, které mohou působit jako negativní regulátory růstu, např. cytokiny TGF-β1 a TNFα. Důvody věnovat zvláštní pozornost právě interakcím těchto cytokinů s PUFA a eikosanoidy v případě nádoru tlustého střeva jsou tyto: ve střevě dochází k produkci obou cytokinů, a to ze dvou zdrojů. Jednak je mohou podukovat střevní buňky samotné, jednak dochází k infiltraci střeva leukocyty, které jsou též významnými producenty TGF-β1 a TNFα. Střevní buňky aktivně metabolizují PUFA a jsou producenty eikosanoidů, přičemž u nádorových buněk je tvorba PG (ale též produktů LOX) zvýšena. Také leukocyty produkují významné množství eikosanoidů, které se při patologických stavech zvyšuje. Tím, že ve střevě působí PUFA z potravy a TGF-β1 a TNFα funkčně spolupůsobí, jsou dány předpoklady pro vzájemné interakce.

Během rozvoje nádorů se buňky stávají postupně rezistentními k účinkům endogenních inhibitorů růstu. Příkladem takového faktoru je právě TGF-β1, který hraje důležitou úlohu v kontrole růstu a diferenciace normální střevní mukózy. Bylo prokázáno, že během vývoje adenomu a adenokarcinomu kolorekta dochází ke snižování senzitivity buněk k TGF-β1, avšak přesné mechanismy tohoto jevu nejsou objasněny (38).

Cytokiny jako je TNFα, TGF-β1 a interleukiny IL-1 a IL-2 představují dále významné faktory, které se uplatňují v regulaci imunitního systému u pacientů s nádory. Na druhé straně však mohou prozánětlivě působící cytokiny TNFα a IL-1 produkované endogenně některými nádory působit jako faktory podporující nádorový růst a kachexii (41). Výsledky studií zabývajících se účinky PUFA obsažených v dietě na produkci a biologickou funkci cytokinů ukazují, že tuky bohaté na n-6 PUFA zvyšují cytokiny zprostředkované projevy zánětu, zatímco tuky bohaté na n-3 PUFA nebo mononenasycené mastné kyseliny třídy n-9 mají opačný účinek. Bylo též prokázáno, že prostaglandin E2 může inhibovat a leukotrieny mohou zvyšovat produkci TNFα a IL-1 (4).



Schematické znázornění předpokládaných účinků vysoce nenasycených mastných kyselin (PUFA) a eikosanoidů v buňce. COX - cyklooxygenázy, LOX - lipoxygenázy, NSAID - nesteroidní antiflogistika, P450 - cytochrom P450, PPAR - receptory pro faktory ovlivňující proliferaci peroxisomů („peroxisome proliferators"), RE - „responsive element" - odpovídající oblast na DNA.

TNFα hraje dále důležitou úlohu při smrti buněk. Po jeho navázání na příslušné receptory dochází k uvolňování kyslíkových radikálů, k aktivaci fosfolipázy A2, C a D, proteinkinázy C, sfingomyelinázy, vápníkových kanálů atd. Uvolňování AA po aktivaci fosfolipázy A2, ceramidu po aktivaci sfingomyelinázy a volných radikálů může modulovat přenos signálů vedoucích k buněčné smrti apoptózou (19).

Účinky nesteroidních antiflogistik na buněčnou kinetiku

Studie s využitím tzv. nesteroidních antiflogistik (NSAID) jako jsou aspirin, piroxicam, indometacin, ibuprofen, sulindac apod., které inhibují aktivitu COX nebo těch, které inhibují LOX jako jsou např. NDGA a esculetin, poskytují nové poznatky o „fyziologické" úloze jednotlivých typů eikosanoidů v mechanismech kontroly buněčného růstu. Tyto látky mohou rovněž inhibovat nebo stimulovat růst nádorových buněk (1). Existuje množství studií zvláště v oblasti výzkumu úlohy PG a účinku jejich inhibitorů - NSAID u nádorů tlustého střeva a žaludku. U hlodavců bylo prokázáno, že NSAID jako jsou piroxicam, aspirin, sulindac a indometacin inhibují tumorigenezi v tlustém střevě.Tyto látky mohou zabraňovat chemické karcinogenezi a inhibovat tvorbu nádorů, jestliže jsou aplikovány současně nebo dokonce několik týdnů po expozici karcinogenům (37). Z klinických studií vyplývá, že po aplikaci NSAID dochází k redukci polypů a adenomů u pacientů s familiární polypózou a ke snížené progresi adenokarcinomů u těchto pacientů (26). Důkazy o preventivních i léčebných účincích těchto látek přinášejí i další epidemiologické a klinické studie, které jasně demonstrují sníženou incidenci a také mortalitu na nádory kolorekta u uživatelů NSAID (28). Mechanismus, kterým NSAID působí v prevenci nádorů a způsobují regresi adenomů a adenokarcinomů kolorekta není však přesně znám. Ve složitě organizovaných biologických systémech existuje pravděpodobně více než jeden proces ovlivňovaný NSAID a mechanismy působení jednotlivých NSAID se proto mohou více či méně významně lišit. Přesto je možné efekty NSAID rozdělit na ty, které vedou přes inhibici produkce eikosanoidů a tímto způsobem zasahují do imunitního systému a cytokinetiky (včetně ovlivnění funkcí cytokinů) a na efekty na eikosanoidech nezávislé. Existují totiž zjištění prokazující protinádorové účinky NSAID i u populací buněk bez aktivního metabolismu eikosanoidů (39).

O možnostech ovlivnit funkce cytokinů pomocí NSAID svědčí mj. i naše vlastní studie in vitro. Prokázali jsme, že inhibitory biosyntézy eikosanoidů mohou významně potencovat antiproliferační účinky TGF-β1 u epiteliálních buněk (23) nebo diferenciaci (nikoli však proliferaci a apoptózu) lidských leukemických buněk (24). Je tedy zřejmé, že regulace těchto procesů je závislá na typu buněčné populace. Na modelové linii z lidského adenokarcinomu tlustého střeva HT29 jsme nejnověji prokázali, že tyto buňky jsou relativně rezistentní k působení TNFα a jeho účinky nejsou modulovány inhibicí metabolismu AA. TNFα však významně snižuje diferenciaci těchto buněk indukovanou butyrátem sodným - solí mastné kyseliny, která vzniká při fermentaci vlákniny ve střevě (22).

Další studie ukazují, že některá NSAID indukují apoptózu epiteliálních střevních buněk. To může být důležité s ohledem na nádory kolorekta, u kterých je apoptóza často inhibována (31). Indukce apoptózy však pravděpodobně nezávisí na aktivitě COX, protože takovéto účinky NSAID byly pozorovány i u buněk, které postrádají aktivitu COX izoenzymů. Zcela nedávné výzkumy ukazují, že pozorované účinky by mohly být způsobeny zvýšenou hladinou substrátu, tedy AA, po inhibici COX dráhy. AA pak stimuluje apoptotickou dráhu přes aktivaci produkce ceramidu - známého mediátoru apoptózy. NSAID (např. sulindac) jsou také schopny ovlivňovat regulaci buněčného cyklu změnami v expresi nádorově supresorových genů, cyklinů a cyklin-dependentních kináz (35).

Kromě toho existuje řada dalších funkcí u normálních i maligních buněk, které mohou být ovlivněny NSAID. Např. aspirin a salicylát, ale ne indometacin, inhibují aktivaci transkripčního faktoru NFκ-B, který je důležitý pro expresi řady genů uplatňujících se v zánětu, imunitě a buněčné adhezi. Zajímavé je to, že lidské geny pro 12-LOX nebo COX2 mají regulační oblast obsahující sekvence pro navázání NFκ-B. Lze předpokládat, že salicyláty mohou inhibicí NFκ-B ovlivňovat řadu buněčných enzymů a faktorů, např. snižovat transkripci COX2 (26). Z dalších účinků NSAID jsou uváděny: inhibice NADPH oxidázy, fosfolipázy C a 12-HPETE peroxidázy, přerušení inkorporace a inzerce AA do membrán, interference s transportem aniontů přes membránu a přerušení mitochondriální oxidativní fosforylace.

Klinické i experimentální důkazy antikarcinogenních účinků NSAID jsou dobře podložené. Otevřenou otázkou zůstává úloha různých forem COX v těchto účincích (5). Závěry o účincích PUFA, jejich metabolitů a inhibitorů jejich biosyntézy vyplývající z předchozích odstavců jsou schematicky shrnuty v obr. 1.

Poděkování: Podpořeno granty IGA MZ 4095-3 a GAČR 525/98/1266.

Literatura

1. Ara G. and Teicher B. A. Cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors in cancer therapy. Prostagl. Leukot. Ess. Fatty A. 1996, 54: 3-16.
2. Awad A. B., Ntanios F. Y., Fink C. S. and Horvath P. J. Effect of membrane lipid alteration on the growth, phospholipase C activity and G protein of HT-29 tumor cells. Prostagl. Leukot. Ess. Fatty A. 1996, 55: 293-302.
3. Bortuzzo C., Hanif R., Kashfi K., Staiano-Coico L., Shiff S. J. and Rigas B. The effect of leukotrienes B and selected HETEs on the proliferation of colon cancer cell. Biochim. Biophys. Acta 1996, 1300: 240-246.
4. Calder C. n-3 polyunsaturated fatty acids as pharmacologic agents: A fishy tale. Nutrition 1997, 13: 1002-1004.
5. Carter J. S. Recently reported inhibitors of cyclooxygenase-2. Exp. Opin. Ther. Patents 1997, 8: 21-29.
6. Cornwell D. G. and Morisaki N. Fatty acid paradoxes in the control of cell proliferation: Prostaglandins, lipid peroxides, and cooxidation reactions. In: Free Radicals in Biology VI, Ed. William A. Pryor, 1984, Academic Press. Inc., 95-133.
7. Di Marzo V. Arachidonic acid and eicosanoids as targets and effectors in second messenger interactions. Prostagl. Leukot. Ess. Fatty A. 1995, 53: 239-254.

8. Eynard A. R. Role of dietary polyunsatured fatty acids (PUFA) on tumorigenesis. Cancer J. 1996, 9: 142-144.
9. Fukushima M. Prostaglandin J2 - anti-tumor and anti-viral activities and the mechanisms involved. Eicosanoids 1990, 3: 189-199.
10. Fulton A. M. The role of eicosanoids in tumor metastasis. Prostagl. Leuk. Ess. Fatty A. 1988, 34: 229-237.
11. Griffini P., Fehres O., Klieverik L., Vogels I. M. C., Tigchelaar W., Smoreburg S. M. and VanNoorden C. J. F. Dietary Omega-3 polyunsaturated fatty acids promote colon carcinoma metastasis in rat liver. Cancer Res. 1998, 58: 3312-3319.
12. Grimble R. F. Nutritional modulation of cytokine biology. Nutrition 1998, 14: 634-640.
13. Hardardóttir I., Whelan J., Surette M. E., Broughton K. S., Lu G. P., Larsen E. C. and Kinsella J. E. The effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and cyclic AMP-elevating agents on tumor necrosis factor production by murine-resident nd thioglycollate-elicited peritoneal macrophages. J. Nutr. Biochem. 1993, 4: 534-542.
14. Hayashi T., Matesic D. F., Nomata K., Kang K. S., Chang C. C. and Trosko J. E. Stimulation of cell proliferation and inhibition of gap junctional intercellular communication by linoleic acid. Cancer Lett. 1997, 112: 103-111.
15. Honn K. V. and Marnett L. J. Prostaglandin, tromboxane and leukotriene biosynthesis: target for antitumor and antimetastatic agents. In: Novel Approaches to Cancer Chemotherapy, Ed. P.S. Sunkara, 1984, Academic Press (Orlando), 127-163.
16. Honn K. V., Tang D. G., Gao X., Butovich I. A., Liu B., Timar J. and Hagmann W. 12-lipoxygenases and 12(S)-HETE: role in cancer metastasis. Cancer and Metastasis Rev. 1994, 13: 365-396.
17. Hudson E. A., Beck S. A. and Tisdale M. J. Kinetics of the inhibition of tumour in mice by eicosapentaenoic acid-reversal by linoleic acid. Biochem. Pharmacol. 1993, 45: 2189-2194.
18. Hussey H. J. and Tisdale M. J. Inhibition of tumour growth by lipoxygenase inhibitors. Br. J. Cancer 1996, 74: 683-687.
19. Jäätelä M. Biologic activities and mechanisms of action of TNF-alpha/cachectin. Biology of Disease 1991, 64: 724-742.
20. Jones H. B., Eldridge S. R., Butterworth B. E. and Foster J. R. Measures of cell replication in risk/safety assessment of xenobiotic-induced, nongenotoxic carcinogenesis. Regulatory Toxicol. Pharmacol. 1996, 23: 117-127.
21. Jump D. B., Clarke S. D., Thelen A., Liimatta M., Ren B. and Badin M. Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. Prog. Lipid Res. 1996, 35: 227-241.
22. Kovaříková M., Hofmanová J., Kozubík A. and Zadák Z. TNFalfa modulation of butyrate-induced markers of differentiation in human colon adenocarcinoma cell line. Abstract Book of 9th Eur. Students Conference of the Charité, Humboldt Univ., Berlin 1998, 235.
23. Kozubík A., Hofmanová J. and Dušek L. Eicosanoid inhibitors enhance synergistically the effect of transforming growth factor beta 1 on CCL 64 cell proliferation. Eur. J. Pharmacol. 1996, 316: 349-357.
24. Kozubík A., Hofmanová J., Dušek L. and Musilová E. 5-Lipoxygenase inhibitors potentiate effects of TGF-β1 on the differentiation of human leukemia HL-60 cells. J. Leukoc. Biol. 1997, 62: 240-248.
25. Levin B. Nutrition and colorectal cancer. Cancer 1992, 70: 1723-1726.
26. Levy G. N. Prostaglandim H synthases, nonsteroidal antiinflammatory drugs, and colon cancer. FASEB J. 1997, 11: 234-247.
27. Lupulescu A. Prostaglandins, their inhibitors and cancer. Prostagl. Leukot. Ess. Fatty A. 1996, 54: 83-94.
28. Marnett L. J. Aspirin and the potential role of prostaglandins in colon cancer. Cancer Res. 1992, 52: 5575-5589.
29. Miles E. A. and Calder P. C. Modulation of immune function by dietary fatty acids. Proc. Nutrition Society 1998, 57: 277-292.
30. Parker J., Kaplon M. K., Alvarez C. J. and Krishnaswamy G. Prostaglandin H synthase expression is variable in human colorectal adenocarcinoma cell lines. Exp. Cell Res. 1997, 236: 321-329.
31. Payne C. M. Role of apoptosis in biology and pathology: Resistance to apoptosis in colon carcinogenesis. Ultrastruct. Pathol. 1995, 19: 221-248.
32. Qiao L., Kozoni V., Tsioulias G. J., Koutsos M. I., Hanif R., Shiff S. J. and Rigas B. Selected eicosanoids increase the proliferation rate of human colon carcinoma cell lines and mouse colonocytes in vivo. Biochim. Biophys. Acta 1995, 1258: 215-223.
33. Sakaguchi M., Rowley S., Kane N., Imray C., Davies A., Jones C., Newbold M., Keighley M. R. B., Baker P. and Neoptolemos J. P. Reduced tumour growth of the human colonic cancer cell lines COLO-320 and HT-29 in vivo by dietary n-3 lipids. Br. J. Cancer 1990, 62: 742-747.
34. Sellmayer A., Danesch U. and Weber P. C. Modulation of the expression of early genes by polyunsaturated fatty acids. Prostagl. Leukot. Ess. Fatty A. 1997, 57: 353-357.
35. Shiff S. J., Koutsos M. I., Qiao L. and Rigas B. Nonsteroidal antiinflammatory drugs inhibit the proliferation of colon adenocarcinoma cells: Effects on cell cycle and apoptosis. Exp. Cell Res. 1996, 222: 179-188.
36. Simopoulos A. P. The role of fatty acids in gene expression: Health implications. Ann. Nutr. Metab. 1996, 40: 303-311.
37. Tanaka Y., Tanaka T. and Ishitsuka H. Antitumor activity of indomethacin in mice bearing advanced colon 26 carcinoma compared with those with early transplants. Cancer Res. 1989, 49: 5935-5939.
38. Williams A. C., Hague A., Elder D. J. E. and Paraskeva C. In vitro models for studying colorectal carcinogenesis: cellular and molecular events including APC and Rb cleavage in the control of proliferation, differentiation and apoptosis. Biochim. Biophys. Acta 1996, 1288: F9-F19.
39. Williams C. S., Smalley W. and DuBois R. N. Aspirin use and potential mechanisms for colorectal cancer prevention. J. Clin. Invest. 1997, 100: 1325-1329.
40. Zadák Z. New substrates in parenteral and enteral nutrition. Riv. Ital. Nutr. Parenteral. Enteral. 1990, 8:85-91.
41. Zadák Z., Shenkin A., Bláha V., Sobotka L., Cerman J. and Solichová D. Metabolic response to glucose and insulin in weight-stable and weight-losing patients. Klin. Biochem. Metab. 1996, 4:125-130.
42. Zadák Z. and Červinková Z. PUFA n-3 lipid emulsion - A promising agent in ARDS treatment. Nutrition 1997, 13:232-233.

informace

Děkan Lékařské fakulty MU v Brně

vypisuje 2 stipendijní místa pro postgraduální studium v nově akreditovaném oboru

ONKOLOGIE

Požadované předpoklady:

VŠ lékařského nebo přírodovědného směru, zájem a schopnost samostatné vědecké práce.

Informace:

doc. MUDr. Z. Adam, CSc. – II. interní klinika-hematologická FN Bohunice.
Příhlášky na děkanátě LF MU Joštova 10, vědeckovýzkumné oddělení.