ALTERNATOR
Misliti znanost.

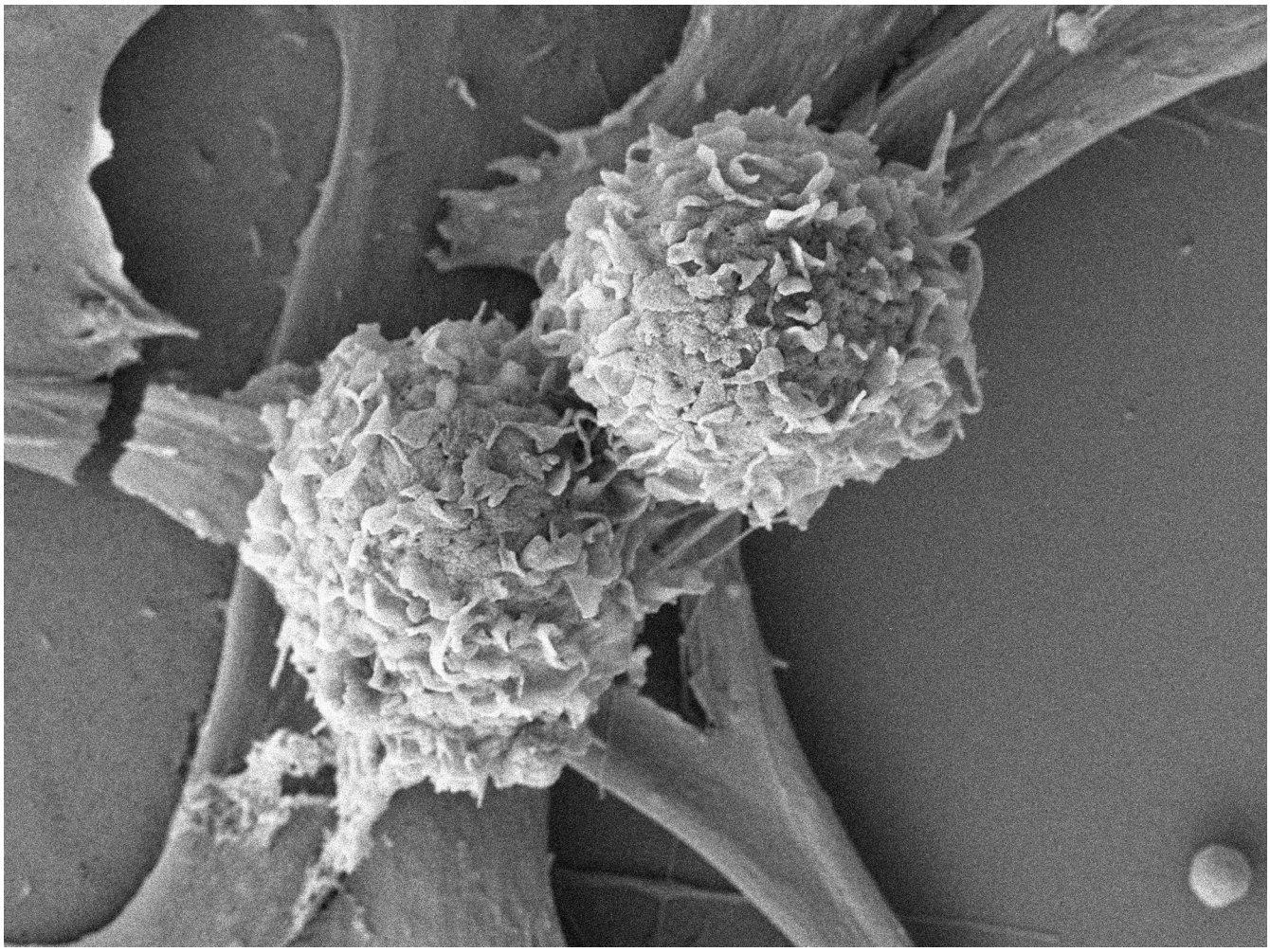
Rak: kralj svojega okolja

10. 10. 2022

Number: 29/2022

Authors:

- Anamarija Habič
- Metka Novak
- Barbara Breznik



Rakave celice pod elektronskim mikroskopom

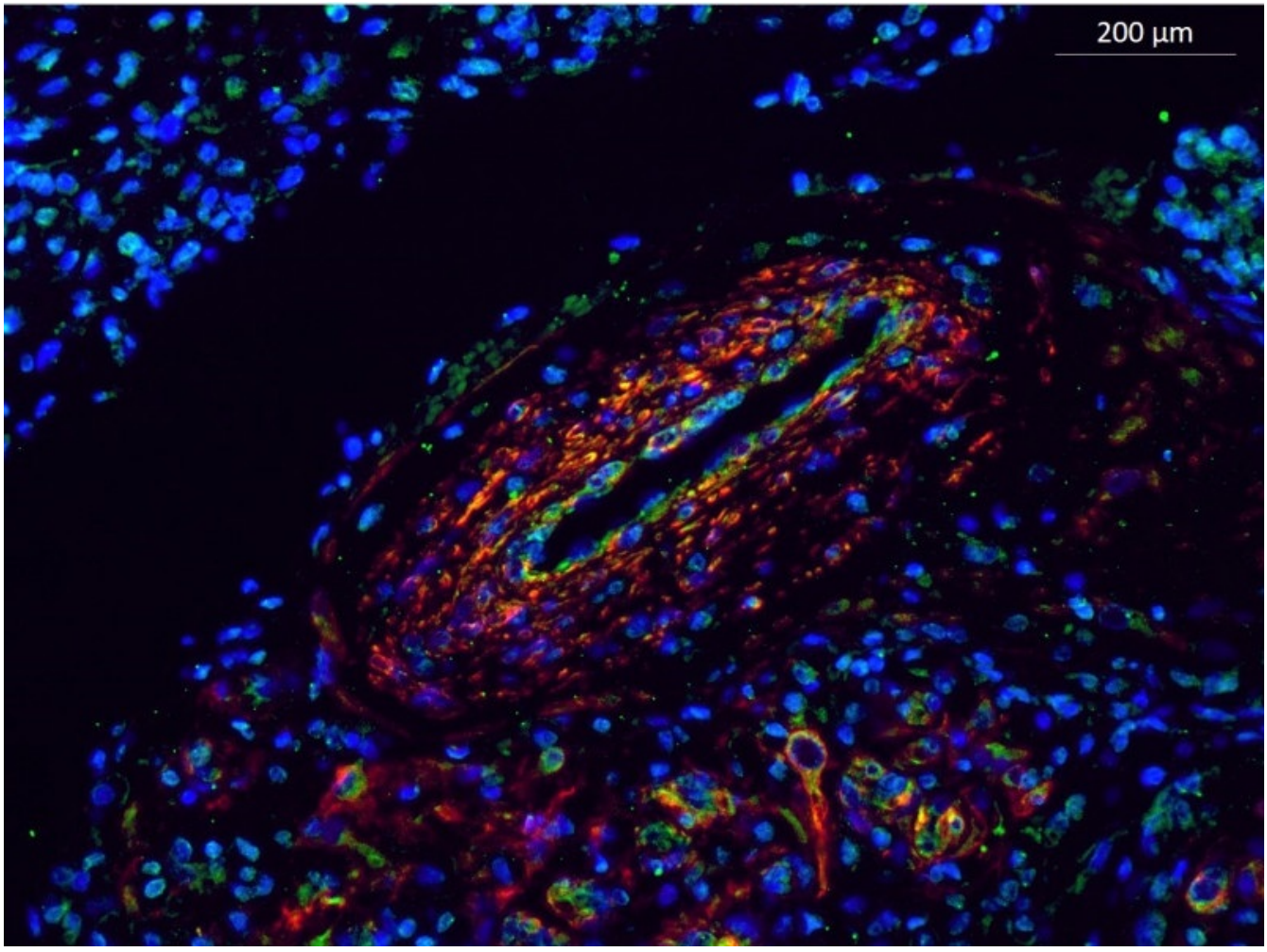
Rak (p)ostaja eden najbolj perečih zdravstvenih problemov modernega sveta. Na lestvici najpogostejših vzrokov smrti (https://ourworldindata.org/causes-of-death%20) se nahaja na drugem mestu, takoj za srčno-žilnimi obolenji. Vsako leto zaradi raka na svetu umre okoli 10 milijonov ljudi, narašča pa tudi število novih primerov. V Evropski uniji (https://ecis.jrc.ec.europa.eu/) je leta 2020 za rakom zbolelo 2,7 milijona ljudi, življenje pa izgubilo 1,3 milijona ljudi. Kako je mogoče, da kljub tako visokim številkam in dolgoletnim prizadevanjem raziskovalcev še vedno ne poznamo univerzalnega zdravila za raka? Ga sploh kdaj bomo?

Preden odgovorimo na to vprašanje, razložimo, kaj rak sploh je. Rak je zelo kompleksna bolezen, ki pravzaprav ni ena sama. S tem izrazom označujemo vsa obolenja, pri katerih pride do nenadzorovanega deljenja celic. Spremenjene celice prodirajo v okoliško tkivo, lahko pa se razširijo tudi v oddaljene organe. Rak lahko izbruhne praktično kjerkoli v telesu. Natančnih vzrokov za nastop bolezni v večini primerov ne poznamo, vemo pa, da pomembno vlogo igrajo genetske spremembe (mutacije), ki se sčasoma nakopičijo v zdravih celicah in spremenijo njihove lastnosti. K pojavu določenih vrst raka lahko prispevajo tudi zunanji dejavniki (https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)01438-6) – npr. kajenje, prekomerno uživanje alkohola, prekomerna telesna teža in onesnaženo okolje.

Možganski tumor glioblastom – nepremagljivi sovražnik

Nekatere vrste rakov (npr. rak prostate in rak dojke) lahko danes precej uspešno zdravimo. Mnogih pa žal še vedno ne razumemo dovolj dobro, da bi lahko proti njim učinkovito ukrepali. Eden od teh je tudi glioblastom (https://doi.org/10.1016/j.wneu.2018.04.022) – najpogostejši tumor, ki nastane v možganih. Standardno zdravljenje glioblastoma vključuje kirurško odstranitev tumorja, kemoterapijo in obsevanje. Ta pristop podaljša življenje bolnikov za nekaj mesecev, a tumorja ne uniči v celoti, zato se čez čas ponovno razraste in postane še agresivnejši. Bolniki v povprečju preživijo 15–17 mesecev po začetni diagnozi. Zakaj je glioblastom neozdravljiv?

Eden glavnih razlogov za neuspešno zdravljenje glioblastoma je njegova invazivnost. Posamezne rakave celice se iz tumorske mase spretno prebijajo v okoliško možganovino in kirurgom preprečujejo, da bi lahko v celoti odstranili tumor. Med rakavimi celicami obstaja tudi posebna podskupina celic, t. i. glioblastomske matične celice, ki se nahajajo v nišah (https://doi.org/10.1369/0022155415581689) ob tumorskem ožilju in so še posebno odporne na terapijo. To predstavlja velik problem, saj se po zdravljenju te celice ponovno aktivirajo, se začnejo množiti in diferencirati in tako povzročijo ponovno rast tumorja. Tretji razlog za neučinkovitost standardne terapije pa je izjemna heterogenost glioblastoma. Tumorji in njihove lastnosti (mutacije v rakavih celicah, invazivnost, delež nerakavih celic) se zelo razlikujejo med posameznimi bolniki, visoka raznovrstnost celic pa je opazna tudi znotraj tumorja posameznega bolnika. Univerzalni pristop zdravljenja je preveč enoličen, da bi deloval proti vsem različicam rakavih celic – ki jih povrh vsega v določenih primerih dodatno ščitijo in spodbujajo še nerakave celice v mikrookolju tumorja.



Prečni prerez niše glioblastomskih matičnih celic ob žili. Na rezini tumorskega tkiva bolnika smo obarvali jedra celic (modra barva), alfa aktin gladkih mišic, ki označuje steno žile (rdeča barva), in beljakovino CD133, ki označuje glioblastomske matične celice (zelena barva).

Mikrookolje tumorjev – zaveznik ali izdajalec?

Pravimo, da ima rak svoje okolje – mikrookolje (https://doi.org/10.3390/medicina56010015) , ki obdaja rakave celice. Tumor in njegovo mikrookolje lahko primerjamo s semenom in prstjo. Tako kot seme, ki lahko vzklije in se razvija le v ustrezno vlažni in rodovitni prsti, tudi rakave celice preživijo in se množijo le, če so razmere v njihovem okolju ustrezne.

Sodobne raziskovalne metode nam omogočajo, da si glioblastom in njegovo mikrookolje ogledamo zares podrobno – na ravni posameznih celic. Tehnologije sekvenciranja RNA in DNA na ravni posameznih celic so pokazale, da je tumorska masa kompleksen ekosistem (https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.06.024) , sestavljen iz različnih vrst celic. Rakave celice v

tumorju ne predstavljajo homogene populacije, temveč se nahajajo v dinamičnem spektru različnih stanj, katerih razmerja se lahko spreminjajo v času in kot odgovor na terapijo. Poleg rakavih pa so v tumorju prisotne tudi druge vrste celic. V glioblastomskem tkivu najdemo astrocite, nevrone in mezenhimske matične celice, po zastopanosti pa najbolj prednjačijo imunske celice, ki lahko predstavljajo celo do 40 % celotne tumorske mase.

Imunske celice v mikrookolju tumorja lahko razdelimo v dve skupini: 1) imunske celice, ki so prisotne tudi v zdravih možganih (celice mikroglije), in 2) imunske celice, ki se v možgane infiltrirajo iz krvnega obtoka (monociti in makrofagi, limfociti T, limfociti B in naravne celice ubijalke). Celice mikroglije (https://doi.org/10.1038/s41583-018-0057-5) v možgane vstopijo že v zgodnji fazi embrionalnega razvoja in prispevajo k njihovemu normalnemu razvoju. V odraslem tkivu pomagajo pri vzdrževanju ravnovesnega stanja in se nemudoma odzovejo na morebitne spremembe v lokalnem mikrookolju, ki se pojavijo ob poškodbah in boleznih. Imunskih celic iz periferne krvi v nasprotju z mikroglijo v zdravih možganih ne najdemo. Njihov vstop preprečuje krvno-možganska pregrada (https://doi.org/10.1038/s41568-019-0205-x) – selektivno prepustna meja, ki učinkovito ščiti možgane pred vdorom povzročiteljev bolezni, toksinov in drugih škodljivih snovi, ki se lahko znajdejo v krvi. Tumor v možganih s svojim invazivnim širjenjem delno poruši integriteto te pregrade, zato lahko krvne imunske celice vstopijo v mikrookolje tumorja.

Človeški imunski sistem je v osnovi zasnovan tako, da nas ne brani le pred zunanjimi okužbami, temveč prepozna in odstranjuje tudi okvarjene celice lastnega organizma – npr. rakave celice. Več kot očitno je, da v primeru glioblastoma imunske celice te vloge ne opravljajo učinkovito. Na podlagi signalov, ki jih izloča tumor, sicer uspejo zaznati, da se v možganih dogaja nekaj nenavadnega, in patruljirajo do tumorja – vendar pa jih ta v svojem mikrookolju na različne načine ohromi in prepreči njihovo citotoksično delovanje. Nadvlada jih lahko celo do te mere, da začnejo delovati v prid tumorja. Primer takšnih celic so supresorske celice mieloidnega izvora (https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00737) – podskupina imunskih celic, ki se namnoži kot odgovor na signale iz tumorja in neposredno zavira proti-tumorsko citotoksičnost drugih vrst imunskih celic, npr. limfocitov T in naravnih celic ubijalk.

(Tele)komunikacija v mikrookolju tumorjev

Celice (rakave in nerakave) se v tumorju sporazumevajo (https://doi.org/10.3390/cancers12051232) na različne načine. Prva možnost so neposredni stiki med ligandi in receptorji na površini celic. Z izražanjem specifičnih ligandov se lahko rakave celice npr. neposredno ubranijo pred napadom limfocitov T ali naravnih celic ubijalk. Najbolj znan inhibitorni ligand na površini rakavih celic je molekula PD-L1, ki je v zadnjem času tudi pomembna tarča v imunoterapiji (https://doi.org/10.3390/cells10020265) .

Poleg neposrednih stikov pa se rakave celice poslužujejo tudi komunikacije na daljavo. Izločajo topne molekule, ki se lokalno širijo v mikrookolju tumorjev in usmerjajo stanje in aktivnost okoliških celic. Komunikacija poteka tudi v obratni smeri: rakave celice se odzivajo na molekule, ki jih izloča okolica. Ena najpomembnejših skupin topnih molekul v mikrookolju tumorjev so citokini – glavni mediatorji imunskega sistema, ki jih delimo na interlevkine, interferone, rastne faktorje in kemokine. Te majhne beljakovinske molekule se vežejo na specifične receptorje na površini tarčnih celic in s tem aktivirajo signalne poti v celicah. Značilno je, da lahko isti citokin v različnih tarčnih celicah izzove različne učinke.

Prisotnost rakavih celic spremeni lokalne koncentracije citokinov, kar v mikrookolje tumorjev privabi dodatne imunske celice. Citokinski odziv se s tem še okrepi – vendar pa je končni učinek pogosto nasproten od želenega: rakave celice namreč molekule, ki jih izločajo imunske celice, izkoristijo sebi v prid. Takšen primer je npr. citokin CCL5 (https://doi.org/10.3390/ijms21124199) , ki smo ga preučevali tudi v našem laboratoriju. CCL5 neposredno spodbuja pomnoževanje rakavih celic, poleg tega pa v tumorsko mikrookolje privablja dodatne celice, ki delujejo protivnetno in ustvarjajo še ugodnejše pogoje za nadaljnjo rast tumorja.

CCL5 in CCR5 v glioblastomu

Da bi raziskali vlogo CCL5 in njegovega receptorja CCR5 v glioblastomu, smo v okviru naše raziskave (https://doi.org/10.3390/ijms21124199) najprej preučili njuno izražanje. Preverili smo, ali sta prisotna v tumorskih tkivih bolnikov in v celičnih linijah, ki jih v laboratoriju vzgojimo iz tumorskih tkiv in jih uporabljamo za poskuse. Uporabili smo kombinacijo označenih protiteles, ki se specifično vežejo na izbrani tarči CCL5 in CCR5 in omogočijo, da ju zaznamo pod mikroskopom. CCL5 in CCR5 smo zaznali tako na rezinah tumorskih tkiv kot tudi v izbranih celičnih linijah. Količina preučevanih proteinov se je precej razlikovala med posameznimi bolniki, kar je v skladu z že omenjenim dejstvom, da je glioblastom izjemno heterogen. S hkratnim barvanjem CCL5 in specifičnih označevalcev izbranih tipov nerakavih celic smo na rezinah tumorskih tkiv bolnikov potrdili, da se CCL5 ne izraža le v rakavih celicah, ampak tudi v drugih celicah v mikrookolju tumorja – imunskih celicah (makrofagih) in mezenhimskih matičnih celicah.

V nadaljevanju raziskave smo ugotovili, da CCL5 pospešuje invazijo glioblastomskih rakavih celic. Poskus smo izvedli tako, da smo rakave celice nacepili na zgornji del porozne membrane, prekrite s plastjo zunajceličnega matriksa – želatinastega omrežja iz bioloških makromolekul (beljakovin in glikozaminoglikanov). Spodnji del membrane smo potopili v medij za gojenje celic, ki smo mu dodali protein CCL5. Ta je deloval kot vaba, ki je spodbudila rakave celice, da so prodrle skozi matriks in se skozi pore membrane prebile na drugo stran membrane, kjer smo jih lahko s štetjem kvantificirali. Podoben učinek kot dodatek topnega CCL5 je imelo na invazijo tudi gojenje rakavih celic v prisotnosti mezenhimskih matičnih celic, ki same po sebi izločajo CCL5.

Tovrstni rezultati usmerjajo razvoj novih pristopov zdravljenja, ki se ne osredotočajo le na rakave celice, temveč tudi na njihovo komunikacijo s svojo okolico. V naši raziskavi smo npr. preučili vpliv maraviroka – male molekule, ki deluje kot antagonist receptorja CCR5. Veže se na receptor CCR5 in tako prepreči, da bi se nanj vezal in ga aktiviral ligand CCL5. Maravirok je uspešno zaviral invazijo rakavih celic, zato bi ga v kombinaciji z drugimi pristopi morda lahko preizkusili v kliničnih študijah za zdravljenje bolnikov z glioblastomom.

Šah – mat?

Za konec ponovno poudarimo, da je rak izjemno iznajdljiv, manipulativen in prilagodljiv notranji sovražnik. Da bomo v celoti razumeli njegove zvijače in kompleksno komunikacijo v tumorskem mikrookolju, bo potrebnih še veliko raziskav. Kljub temu upamo, da bomo z novimi naprednimi metodami razvozlali prefinjeno taktiko napredovanja bolezni in uspeli najti ustrezno kombinacijo potez, da raka stisnemo v kot in mu zadamo »mat«.



Siva pentlja, mednarodni simbol boja proti rakom možganov. Svetovni dan možganskih rakov obeležujemo 8. junija, svetovni dan raziskav raka pa 24. septembra.

https://www.alternator.science/en/long/rak-kralj-svojega-okolja/