

ASPECTE ACTUALE ÎN CARCINOGENEZA COLO-RECTALĂ. ROLUL APOPTOZEI*

V. Păunescu

Clinica Chirurgie, Spitalul Clinic de Urgență „Bagdasar-Arseni” București

ACTUAL ASPECTS IN COLO-RECTAL CARCINOGENESIS. APOPTOSIS ROLE (Abstract): Apoptosis, or programmed death of cells, is a physiologic process present in embryological development and in another biologic and pathologic processes. Apoptosis and mitosis together is a very important event of cycle cell, cycle in which p53 gene induces apoptosis, bcl-2 gene has antiapoptosis action, and c-myc gene both induces apoptosis and tumoral growth. In normal colorectal epithelium, with grown cell turnover, apoptosis inhibition is achieved with malignant transformed of them. The cells with cromosomal injuries or DNA mutations are eliminated through apoptosis. Morphological and biochemical modifications observed in deatched cells through apoptosis are mediated by caspasis family, constituted by proenzymes which through autocathalytic process generates active forms in process named „caspasis waterfall”. Caspasis activation are produced by extrinsec pathway, bounded to surface receptors and by intrinsec pathway, who suppose adulterate of mytochondrial membrane and releasing of proteins, cytochrome c and another factors. The biochemical characteristic of apoptosis is the break up of DNA. Colorectal tumors which apoptosis is grown have a longer evolution, are more little aggressive, are more sensitive to chemotherapy and have a good prognostic. Latest dates concerning to apoptosis role are used to development of new therapeutics in colorectal cancer.

KEY WORDS: COLORECTAL CANCER, CYCLE CELL, APOPTOSIS, PROGNOSTIC FACTORS

INTRODUCERE

Cancerul colorectal este unul dintre cele mai frecvente cancere, ocupând locul doi dintre neoplazii, fiind a patra cauză de deces. Organizația Mondială a Sănătății estimează la 945.000 cazuri noi anual, cu o mortalitate de 492.000 cazuri [5]. În Statele Unite se estimează că 6% din totalul americanilor dezvoltă cancer colorectal [4]. În carcinogeneza colorectală, ca urmare a alterărilor genetice, celulele epiteliale ale mucoasei își pierd stabilitatea genetică și apare predispoziția spre cancer, în special adenocarcinoame [13, 43]. Dintre numărul mare de gene ce produc mutații în cancer, probabil puține fenotipuri dezvoltă cancer, fiecare dintre ele producând un număr mare de schimbări genetice alternative [14,22,42]. Din cele 30.000 de gene umane, fiecare dintre ele având cel puțin două forme, există cel puțin 2^{30000} sau 10^{9031} combinații posibile ale genelor, ceea ce dovedește potențialul schimbărilor genetice în transformarea malignă [42]. Astăzi s-a dovedit relația dintre pierderea stabilității genetice și predispoziția spre cancer, care include: deficiențele de reparare a acidului dezoxiribonucleic (ADN), mutațiile, pierderea punctelor de control în ciclul celular și disfuncții ale funcționalității proteinei p53 [6,43]. Depășirea posibilităților de reparare a ADN de către celulă duce la declanșarea apoptozei [8,7,27].

APOPTOZA ȘI CICLUL CELULAR

Apoptoza, sau moartea programată a celulelor, este o formă distinctivă a decesului celulelor, care diferă de decesul produs prin necroză [19,10,24]. Apoptoza se întâlnește la toate tipurile de celule vegetale sau animale, uni- sau pluricelulare, până la nivelul mamiferelor superioare și al omului [16,23]. Apoptoza se întâlnește în condiții normale în turnoverul celulelor, în homeostazia țesuturilor, în embriogeneza – în care există programarea decesului celulelor –, în inducerea și menținerea toleranței imunitare, în dezvoltarea sistemului nervos și în atrofia țesuturilor dependente endocrin [1,17,15,11].

* Conferință prezentată la A IV-a Conferință Internațională de Chirurgie, Iași, 19-22 octombrie 2006

Apoptoza a fost demonstrată ca existând normal în tractul gastrointestinal, în care exista un turnover rapid al celulelor din mucoasă și cripte [23,42]. Deoarece în mucoasa intestinului gros nu există vase limfatice, riscul invaziv apare doar când tumora invadează musculara mucoasei și pătrunde în submucoasă, devenind cancer invaziv [45,32]. Epiteliul prezintă invaginații adânci în peretele colic, numite cripte. Celulele epiteliului colic provin din celulele stem localizate la baza criptelor și migrează la suprafața criptelor și sunt eliminate în lumen. Celulele stem se divid asimetric și sintetizează ADN, care, împreună cu aceste celule migrează către cripte. Celulele stem rămân în particular vulnerabile și dezvoltă mutații care pot evolua către clone maligne. Contracarea acestei posibilități de către celulele de la baza criptelor, presupuse celule stem, după ce a fost lezat ADN-ul cu mare înclinație către apoptoză [42]. Cunoașterea mecanismelor care declanșează apoptoza după leziunile ADN poate fi folosită ca un important mijloc de prevenție a cancerului [13,26,27,47]. Apoptoza, proces fiziologic și normal, împreună cu mitoza, este unul dintre evenimentele cele mai importante ale ciclului celular [1,40,23].

Ciclul celular are patru faze: G1, S, G2 și M. Faza S este legată de replicarea ADN, iar faza M de diviziunea celulară, mitoza. În perioada dintre faza M și faza S, numită faza G1, se sintetizează ARN, are loc biosinteza proteinelor și a factorului de creștere ce asigură creșterea masei celulare. Perioada dintre faza S și faza M, numită faza G2, este folosită pentru aranjarea componentelor celulare necesare înainte de mitoza [10,40,6]. Expunerea în faza G2 a celulelor cancerului colic la acțiunea oxidului nitric se soldează cu programarea decesului celulelor [18]. În reglarea ciclului celular intervin diverse gene care codifică proteinele respective. În acest proces, un rol important îl au genele p53, bcl-2 și c-myc [16,8,20].

GENETICA CANCERULUI COLORECTAL

Proteina p53 produsă de gena p53 detectează alterările ADN și, împreună cu alte proteine reglatoare, induce oprirea celulei în faza G1 a ciclului celular. Dacă repararea ADN nu este posibilă, celula virează spre apoptoză [41]. Activarea p53 se face de către alterarea sau modificarea structurii ADN-ului celular [20,32,42]. În cancerul colorectal se disting două tipuri de instabilități genetice: instabilitatea cromozomială (chromosomal instability pathway – CIP) și instabilitatea datorită schimbării nucleotidelor de bază ale ADN (microsatellite instability pathway – MIS). Instabilitatea cromozomială se caracterizează prin anomalii de tip genetic, crearea de mutații în genele care controlează diviziunea celulelor, diferențierea și apoptoza. Ca o cauză importantă a instabilității cromozomiale în cancerul colorectal a fost identificată CDC4. Aproximativ 60-80% dintre cancerurile colorectale sunt datorate instabilității cromozomiale. Instabilitatea cromozomială rezultă din mutația specifică a genelor care controlează mitoza. Instabilitatea cromozomială se întâlnește în cancerul sporadic colorectal și este necunoscut carcinogenezei în polipoza adenomatoasă familială (familial adenomatous polyposis – FAP). Una din etapele inițiale ale dezvoltării adenomului și transformarea pe calea instabilității cromozomiale către cancerul colorectal este inactivarea APC (adenomatous polyposis coli). În secvențele moleculare mai intervin și alte gene supresoare tumorale, ca: DCC, DPC4/Smad4, p53, nm32, dar și oncogene: k-ras, c-myc, c-neu, c-erb-2, c-src [13,42,43]. Această cale este predominantă în cancerul colonului drept și cancerul rectal [13,42]. În cea de a doua formă de instabilitate, nepotrivirea (mismatch) nucleotidelor de bază ale ADN se întâlnește în 15% din cancerul colorectal sporadic, în care mutația se referă la repararea unor gene, cum este hMLH1 (human mut-L homologue) [13,42,43].

În cancerul colorectal nonpolipozic ereditar (hereditary nonpolyposis colorectal cancer – HNPCC) mutațiile se referă la genele hMLH1, hMSH2, hMSH6, pPMS1 și pPMS2 [42]. Alături de genele oncogene și supresoare tumorale în nepotrivirea nucleotidelor de bază ale ADN sunt implicate ulterior și genele supresoare tumorale TGFBR11 (transforming growth

factor B receptor 11), IGF2R (insulin-like growth factor 2 receptor) și gena pro-apoptotică BAX. Tumorile care se dezvoltă pe aceasta linie au gena „sălbatică” APC și gena p53 și se întâlnesc mai ales în cancerul de colon drept [13,42]. Alterarea sau modificarea ADN celular activează p53 care acționează prin mai multe moduri: fie că recrutează proteine de reparare a lanțurilor ADN rupte și a nepotrării de inserție, fie, însăși proteina p53 reglează, reinseră rupturile ADN-ului, fie induce enzime de reparare a ADN care sunt dependente de p53. Rolul genei p53 este mult mai complex influențând funcționarea genelor familiei bcl-2, dar și aceste gene influențează activitatea p53. Astfel, bcl-x poate inhiba apoptoza moderată de p53 [6,37,23]. În cancerul colorectal s-a semnalat frecvent inactivarea genei p53 alături de mutațiile altor gene, ca mutațiile genei k-ras. Mutația k-ras apare înaintea formării adenomului, în timp ce mutația p 53 apare în timpul transformării adenomului în carcinom [13,45]. Experimental s-a arătat că dacă în celulele de cancer de colon deficitar în gena p53 se transferă această genă, se induce rapid apoptoza. Deci, apoptoza are rolul de a suprima transformarea malignă prin eliminarea celulelor cu leziuni genice. Apoptoza realizată prin intermediul proteinei p53 inhibă carcinogeneza, mai ales în stadiile inițiale, scăzând potențialul neoplazic al celulelor. Deci, gena p53 este pro-apoptotică și antitumorală. Inhibiția apoptozei în epitelul normal se soldează cu transformarea malignă a acestuia. Activarea p53 crește sensibilitatea celulelor din cancerul colorectal la adriamicină și radioterapie [34,42,43]. Studiul proteinei p53, alături de proteinele p21 și p27 poate fi utilizat în prognosticul cancerului colorectal [34], alături de criteriile stadiului clinic UICC [38].

Genele bcl-2 inhibă apoptoza. Ele au fost localizate, mai ales, la nivelul criptelor epitelului colonului [6,37]. Aceste gene se găsesc în mitocondrie, în membrana nucleară și în reticulul endoplasmatic. Cercetările au arătat că există numeroase gene în această familie, care mai include: bcl-xs, bcl-xl, bcl-ws, bax, bak, B11 și bcd. Unele dintre gene inhibă apoptoza, ca bcl-2 și bcl-xl, iar altele promovează apoptoza, ca bax, bcl-xs, bak [17,37,47,3]. Principala acțiune a bcl-2 este blocarea apoptozei și favorizarea proliferării maligne, deci este o oncogenă, contribuind, împreună cu alte gene, la dezvoltarea tumorii [16]. Blocând apoptoza, bcl-2 contribuie la supraviețuirea celulelor care au acumulat mutații incompatibile cu dezvoltarea normală și care nu mai pot fi eliminate prin apoptoză. Mai mult, bcl-2 și bcl-xl imprimă rezistență la agenții chimioterapici care distrug celulele tumorale. Bcl-2 și bcl-xl împiedică eliberarea factorului inductor al apoptozei (AIF, apoptosis inducing factor) și a citocromului c din mitocondrie, care au rol în apoptoză. Activitatea antiapoptotică a bcl-2 și bcl-xl este suprimată de către bax și bcl-xs. Prin creșterea nivelului genei bax de către gena p53 se induce apoptoza în celulele tumorale [37,42], gena p53 având rol de supresor al genei bcl-2. În adenocarcinomul colorectal, nivelul genei bcl-2 este crescut, mai ales în fazele de debut. Creșterea expresiei bcl-2 în tumoră se asociază cu un prognostic prost și cu o evoluție agresivă, comparativ cu tumorile colorectale carora le lipsește această genă [16,17], ceea ce dovedește importanța apoptozei în procesele tumorale. În adenocarcinomul de colon slab diferențiat se întâlnește un nivel crescut de bcl-xl.

Genele c-myc și proteinele codificate de acestea, c-myc, n-myc și l-myc, induc apoptoza, dar și creșterea tumorală. Genele c-myc promovează proliferarea celulară continuă, fără ca celulele să mai poată răspunde la stimulii care de obicei inhibă proliferarea. Prin inducerea proliferării continue există riscul transformării maligne prin creșterea mutațiilor produse în ciclul celular [46]. Apoptoza indusă de genele c-myc este inhibată de genele bcl-2, iar max este antagonistă acțiunii c-myc [29].

Cercetările ultimilor ani au demonstrat ca decesul celulelor se produce cel mai frecvent, dar nu întotdeauna, prin proces fiziologic, prin apoptoză și că din alterarea apoptozei rezultă variate dezordini maligne. Apoptoza poate fi inițiată sau poate fi exacerbată în jurul zonelor de necroză, unde există ischemie moderată [23]. Apoptoza poate fi indusă de către factorul necrozant al tumorii (TNF) secretat de macrofagele infiltratului tumoral sau se

datorează atacului limfocitelor T citotoxice asupra celulelor neoplazice [24,15,11]. În celulele tumorale, activarea unor gene oncogene poate duce la creșterea apoptozei. Modificările morfologice și biochimice observate în celulele decedate prin procesul de apoptoză sunt mediate de către familia cistein-aspartazelor sau a caspazelor (cysteine protease cleaving an aspartic acid residue). Această familie de 14 caspaze este constituită din proenzime care, prin proces proteolitic, generează forme active. Proenzimele caspazelor pot fi activate de către AIF (apoptosis inducing factor), care se eliberează din mitocondrie prin permeabilizarea membranei acesteia. Semnalul apoptotic transmis prin activarea caspazelor poate fi dereglat de către supresorii apoptozei, cum este proteina IAP (inhibitor of apoptosis). Caspazele sunt cele mai importante molecule care induc apoptoza. Cele mai importante caspaze implicate în apoptoză includ caspaza 2 (ICE-1, interleukine-1-beta- converting enzyme), caspaza 3, caspaza 7, caspaza 8 și caspaza 10. Familia caspazelor se împarte în două mari subfamilii: caspazele 1, 4 și 5 intervin în maturarea citokinelor, a interleukinei 1-B și a interleukinei 18 și au funcție proinflamatorie. Alți membri ai acestei familii au acțiune apoptotică, fie ca inițiază, cum sunt caspazele 2, 8, 9 și 10, fie ca o executază, cum sunt caspazele 3, 6 și 7. În timpul apoptozei, caspazele 3, 6 și 7 clivează proteinele localizate în membrană, nucleu și în citoplasmă. Caspaza 9 este capabilă de activitate autocatalitică și acționează asupra caspazelor efectoare 3 și 7. Caspazele efectoare sunt responsabile de modificările morfologice ale apoptozei, cum este condensarea cromatinei, scindarea citoplasmei și a nucleului în vezicule învelite în membrana intactă, degradarea ADN. Procaspaza 9, legată de APAF-1 (apoptotic protease activating factor 1), formează cu citocromul c un complex proteic, numit apoptosom [42]. Procaspaza 9 se activează prin clivaj autocatalitic și activează caspaza 3 și declanșează „cascada caspazelor” [40,42]. Activarea caspazelor se face pe două căi: calea extrinsecă și calea intrinsecă.

Calea extrinsecă este legată de existența receptorilor celulari de suprafață, receptorii tanatogeni (death receptors), cum sunt: CD95, TNF și TRAIL-TNF (TNF related apoptosis inducing ligand; ligand inductor al apoptozei legat de TNF). CD95 sau Fas sau APO-1 este un receptor proteic și aparține receptorilor TNF. CD95 se leagă de ligandul său specific, CD95-Ligand (FasL). Cuplarea CD95 cu CD95-L transmite semnalul pentru apoptoză. Factorul de necroză tumorală (TNF) distruge celulele tumorale prin efect citotoxic [15]. Pe membrana celulară se află receptorii pentru citokinele TNF. Alterarea expresiei Fas sau FasL este confirmată în diverse cancere și este importantă în cancerul colorectal [25,32,42]. Când receptorul Fas nu se cuplează cu ligandul Fas-L, apoptoza este indusă de genele DCC (deleted in colorectal cancer), dar blochează apoptoza când moleculele Natrin-1 sunt cuplate [27]. Genele DCC sunt un supresor tumoral, iar dacă apar mutații în aceste gene, se dezvoltă cancerul colorectal. Genele DCC codifică și receptorul pentru molecula Natrin-1 [27]. Existența FasL induce creșterea apoptozei la nivelul limfocitelor citotoxice în infiltratul din jurul tumorii colice. Receptorul CD95 (Fas) și membrii familiei proapoptotice bcl-2 participă la acțiunea lactoferinei, glicoproteină legată de fier și contribuie la supresia efectelor dezvoltării tumorii de colon [12].

Calea intrinsecă presupune alterarea membranei plasmatică, eliberarea proteinelor mitocondriale, a citocromului c și a factorului ce induce apoptoza (AIF – apoptosis inducing factor) [1,6,42]. În stadiile inițiale ale apoptozei au loc schimburi între suprafața celulei și plasmă. Prin alterarea plasmăi, fosfatidil-serina iese la suprafața celulei. Citocromul c (Apof-2) acționează asupra factorului ce activează proteazele apoptotice (Apof-1) și induce activarea caspazei 9 (Apof-3), care inițiază cascada caspazelor. Permeabilizarea membranei mitocondriale eliberează citocromul c, permeabilizare reglată de către caspazele apoptotice bax, bak și boc și de către caspazele antiapoptotice bcl-2, bcl-x, bcl-w, mcl-1 și A1. Calea extrinsecă și intrinsecă se amplifică reciproc [1,40,6,42]. Activarea caspazelor poate induce apoptoza pe căi independente de p53 [41]. Disfuncțiile mitocondriale pot induce apoptoza

celulelor cancerului colorectal prin activarea caspazei 8, cunoscută și sub numele de FLICE, MACH sau Mach 5 [47]. Caracteristica biochimică a apoptozei este fragmentarea ADN-ului, eveniment ireversibil care are loc înaintea permeabilizării membranei (fragmentare prelitică a ADN). Fragmentarea ADN rezultă din activarea endogenă a ionilor de calciu și de magneziu, care este dependentă de endonucleaza nucleară. Această enzimă clivează ADN-ul între situsurile unităților nucleosomale (linker DNA) generând fragmente mono- și oligonucleosomale ale ADN [1,40,42].

Apoptoza este unul dintre cele două mecanisme prin care decedează celulele: necroza și apoptoza. Necroza sau moartea accidentală a celulelor are loc după expunerea la acțiunea agenților fizici sau chimici și din care rezultă ruptura membranei celulare cu eliberarea conținutului citoplasmatic în lichidul extracelular. Rezultatul necrozei celulare produce leziuni tisulare extinse, în urma cărora rezultă răspunsul inflamator [19,24,40].

Apoptoza, spre deosebire de necroză, reprezintă modul prin care celulele mor în condiții fiziologice, normale și prin care celulele participă activ la eliminarea lor („celular suicide”). Decesul celulelor prin apoptoză are caracteristici morfologice și biochimice [19,10,17,24,11]. Caracteristicile morfologice includ agregarea cromatinei, condensarea nucleului și a citoplasmei și scindarea în vezicule a citoplasmei și a nucleului, vezicule învelite în membrana intactă, numite „corpi apoptotici” („apoptotic bodies”) care conțin ribozomi, mitocondrii intacte morfologic și material nuclear. Corpii apoptotici sunt recunoscuți și fagocitați rapid de către macrofage sau de către celulele epiteliale adiacente. Prin acest mecanism eficient care distruge celulele apoptotice nu există răspuns inflamator. Din punct de vedere biochimic, procesul apoptozei presupune activarea și intervenția enzimelor, cu consum de energie, proces dependent de ATP, cu fragmentarea ADN. Apoptoza generează decesul unei singure celule, deci este un deces individual, indus de stimuli fiziologici, iar celula decedată este fragmentată de către celulele adiacente sau de către macrofage, fără răspuns inflamator. Celulele sistemului imun, celulele citotoxice T (CTL), celulele ucigașe naturale (NK) și celulele ucigașe activate de către limfokine (LAK) pot recunoaște și distruge celulele decedate prin necroză sau apoptoză. Posibilitatea evidențierii modificărilor morfologice apoptotice au arătat că apoptoza este direct proporțională cu gradul de diferențiere histologică a tumorii. Studiile au evidențiat că celulele cu modificări apoptotice apar lângă zonele de necroză ale tumorii, acolo unde există ischemie [23,32,42].

Numărul celulelor apoptotice raportate la un număr de 100 celule tumorale nonapoptotice constituie indicele apoptotic [23]. Cancerul colorectal cu un indice apoptotic mare se asociază cu un prognostic mai bun în subgrupele cu expresia bcl-2, iar un indice apoptotic mic indică o mai mare malignitate. Apoptoza este redusă în tumorile cu un grad de diferențiere scăzut. La pacienții cu cancer colorectal și cu indice apoptotic scăzut, supraviețuirea la cinci ani se reduce la jumătate față de cei la care indicele apoptotic este mare. Modificarea raportului dintre proliferarea epitelială și apoptoză în mucoasa colonului se însoțește de un risc crescut de malignizare. În cancerul colonului, expresia crescută a CD44 comparativ cu mucoasa normală favorizează transformarea malignă prin rezistența la apoptoză. Concomitent sunt înregistrate alterări ale caspazei 9, caspazei 3, a bcl-x1, bak, ceea ce dovedește că rezistența la apoptoză se efectuează pe cale mitocondrială. Celulele cu leziuni cromozomiale sau mutații ale ADN-ului sunt eliminate prin apoptoză. Astfel, p53 detectează leziunile ADN-ului și inițiază repararea sau apoptoza, dacă nu are loc corectarea defecțiunii. Deci, apoptoza poate suprima transformarea malignă prin eliminarea celulelor cu leziuni în genom. S-a dovedit că inhibarea apoptozei în epitelul colorectal se soldează cu transformarea malignă a acestuia. Deci, apoptoza previne dezvoltarea anomaliilor genetice care se asociază cu dezvoltarea celulelor neoplazice și progresia cancerului [37,18,26]. Progresia cancerului presupune atât mitoză, cât și producerea de celule, dar și scăderea numărului și decesul celulelor [1,26]. Tumorile în care apoptoza este crescută au o evoluție lungă și sunt mai puțin

agresive. Agresiunea cancerului se asociază cu metastazarea, ca rezultat al proliferării celulelor tumorale. În metastazarea tumorii primare, celulele tumorale trebuie să supraviețuiască în circulație, să adere la vase, să extravazeze, să penetreze țesutul și să formeze noi vase și să se dezvolte [45,14]. Apoptoza este mai puțin frecventă în tumorile colorectale cu metastaze limfatice sau cu invazie venoasă [6,23]. Activarea proteinkinazei G (PKG) inhibă creșterea și migrația celulelor și induce apoptoza în cancerul de colon la om [7]. Dacă în celulele tumorale cu deficit în p53, asociate cu o frecvență crescută a cancerelor colorectale, se transferă această genă, crește apoptoza și tumora regresează. Absența proteinei p53 produsă de gena p53 face ca celulele tumorale în neoplasmul colorectal să devină rezistente la chimioterapie și radioterapie. Tumorile în care apoptoza are loc sunt mai sensibile la chimioterapie și au un prognostic mai bun [18,42,43]. Prezența p53 în celulele carcinomului colic le face mai sensibile la adriamicină și radioterapie și mai puțin sensibile la 5-fluorouracil. În răspunsul la 5-fluorouracil, p53 răspunde mai bine la defectele ARN, decât la defectele ADN [42]. Administrarea preoperatorie de 5'-deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR) induce apoptoza în cancerul colorectal [39]. Medicamentele antiinflamatorii nesteroidice (NSAID – non-steroidal anti-inflammatory drugs) inhibă carcinogeneza colorectală prin inducerea apoptozei în celulele tumorale colorectale [28,9]. Medicamentele antiinflamatorii nesteroidice previn creșterea polipilor colici înainte de malignizare. Folosirea unui anti-inflamator nesteroid, sulindac sulfide, care este un inhibitor al COX-2, inhibă creșterea celulelor tumorii colorectale prin inducția apoptozei și prin inhibarea proliferării, reducând sinteza de ADN [36,47]. O descoperire a ultimilor 15 ani în biologia cancerului colorectal se referă la rolul ciclooxigenazelor, COX-1 și COX-2 [36,2,21,33]. Inhibitorii COX-2, prin reducerea creșterii tumorii, induc apoptoza, blochează activarea sistemului plasminogen și inhibă semnificativ metastazele hepatice [30]. Focarele aberante din cripte mucoase colice, care sub acțiunea acidului deoxicolic devin adenoame cu rol în carcinogeneza colică inițială pot fi protejate de transformarea malignă sub acțiunea glutathion-S-transferaza P1-1 [31]. Expresia proteinelor antiapoptotice bcl-2 sau bcl-xl, prezente în aproape jumătate din cancere, poate fi antagonizată prin receptorii agoniști, precum cel retinoid și vitamina D. Recentele descoperiri referitoare la rolul apoptozei sunt folosite pentru dezvoltarea de noi terapii, mai ales referitoare la ciclooxigenaze, receptorii tanatogeni, membrii familiei bcl-2 și proteinele inhibitoare ale apoptozei.

CONCLUZII

Apoptoza, sau moartea programată a celulelor, este un proces fiziologic prezent în dezvoltarea embriologică și în diverse procese biologice și patologice. Împreună cu mitoză este unul din evenimentele cele mai importante ale ciclului celular, ciclul în care gena p53 induce apoptoza, gena bcl-2 are acțiune antiapoptotică, iar gena c-myc induce apoptoza, dar și creșterea tumorală. În epiteliul colorectal normal, cu un turnover celular crescut, inhibiția apoptozei se soldează cu transformarea malignă a acestuia. Celulele cu leziuni cromozomiale sau mutații de ADN sunt eliminate prin apoptoză. Modificările morfologice și biochimice observate în celulele decedate prin apoptoză sunt mediate de către familia caspazelor, constituită din proenzime care prin proces autolitic generează forme active în procesul numit „cascada caspazelor”. Activarea caspazelor se produce pe cale extrinsecă, legată de receptorii de suprafață, și, pe cale intrinsecă ce presupune alterarea membranei mitocondriale și eliberarea proteinelor, a citocromului c și a altor factori. Caracteristica biochimică a apoptozei este fragmentarea ADN. Tumorile colorectale în care apoptoza este crescută au o evoluție mai lungă, sunt mai puțin agresive, sunt mai sensibile la chimioterapie și au un prognostic mai bun. Datele recente referitoare la rolul apoptozei sunt folosite pentru dezvoltarea de noi terapii în cancerul colorectal.

BIBLIOGRAFIE

1. Alberts B, Bray D, Lewis J. *Molecular Biology of the Cell*. 3-rd edition; New York, London: Garland Pub. Inc. 1994.
2. Bottone FGJ, Martinez JM, Alston-Mills B, Eling TE. Gene modulation by COX-1 and COX-2 specific inhibitors in human colorectal carcinoma cancer cells. *Carcinogenesis*. 2004; 25(3): 349-357.
3. Brown R. The BCL-2 family of proteins. *Brit Med Bull*. 1996; 53(3): 466-477.
4. Cancer Statistics, 2004. *CA Cancer J Clin*. 2004; 54: 8-29
5. Stewards BW, Kleihues P. Colorectal cancer. In: World Cancer Report. Lyon; IARC Press; 2003. p. 198-202.
6. Dănăilă L, Alecu M, Coman G. *Apoptoza. Moartea celulară programată*, Ediția a II-a; București: Editura Academiei Române. 2000.
7. Deguchi A, Thompson WJ, Weinstein IB. Activation of protein kinase G is sufficient to induce apoptosis and inhibit cell migration in colon cancer cells? *Cancer Res*. 2004; 64(11): 3966-3973.
8. Dexter TM, Raff MC, Wyllie AH. *The role of apoptosis in development, tissue homeostasis and malignancy*. London: Chapman and Hall. 1995.
9. Din F.V, Dunlop MG, Stark LA. Evidence of colorectal cancer cell specificity of aspirin effects on NKKappa B signalling and apoptosis. *Br J Cancer*. 2004; 91(2): 381-388.
10. Duval E, Wyllie AH. Death and the cell. *Immunology today*. 1985; 7(4): 115-119.
11. Ekert PG, Lvaux DL. Apoptosis and the immune system. *Brit Med Bull*. 1997; 53(3): 591-603.
12. Fujita K, Matsuda F, Sekine K, Ilgo M, Tsuda H. Lactoferrin modifies apoptosis-related gene expression in the colon of the azoxymetan-treated rat. *Cancer Lett*. 2004; 213(1): 21-29.
13. Gervaz PA, Wexner SD. Surgery for colorectal cancer: beyond and frontiers. *Schweiz Med Wochenschr*. 2000; 130(46): 1754-1759.
14. Hermanek P. Pathology of colorectal cancer. In: Bleiberg H, Rougier P, Wilke HJ, editors. *Management of colorectal cancer*. London: Martin Dunitz. 1998. p. 35-54.
15. Hickman JA, Boy EC. Apoptosis and cytoxin. *Brit Med Bull*. 1996; 32(3): 623-643.
16. Hockenbery D. Bcl-2 in cancer, development and apoptosis. *J Cell Sci*. 1994; 18(1): 51-55.
17. Hockenbery D. Defining apoptosis. *Am J Pathol*. 1995. 146(1): 16-19.
18. Jarry A, Charrier L, Bon-Hanna C, Devilder MC, Crussaire V, Denis MG, Vallette G, Laboisie CL. Position in cell cycle control the sensitivity of colon cancer cell to nitric oxide – dependent programmed cell death. *Cancer Res*. 2004; 64(12): 4227-4234.
19. Kehrr JFR. Shrinkage necrosis: a distinct mode of cellular death. *J Pathol*. 1971; 107(1): 217-219.
20. Kobayashi M, Watanabe H, Ajioka I, Yoshida M, Hitoma J, Asakura H. Correlation of p53 protein expression with apoptotic incidence in colorectal neoplasia. *Virchows Arch*. 1995; 427(1): 27-32.
21. Koehne CH, Dubois RN. COX-2 inhibition and colorectal cancer. *Semin. Oncol*. 2004; 31(2 suppl 7): 12-21.
22. Kountouras J, Boura P, Lygidakis NJ. New concepts of molecular biology for colon carcinogenesis. *Hepato-Gastroenterology*. 2000; 47(35): 1291-1297.
23. Langlois NEI, Eremin O, Heys SD. Apoptosis and prognosis in cancer: rationale and relevance. *Roy Coll Surg Edinb*. 2000; 45(4): 211-219.
24. Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis and necrosis. *Am J Pathol*. 1995; 146(1): 3-15.
25. Martin CA, Panja A. Cytokine regulation of human intestinal primary epithelial cell susceptibility to Fas-mediated apoptosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2002; 282(1): G92-G104.
26. Masse D, Ebsstein F, Bougras G, Harb J, Meflah K, Gregoire M. Increased expression of inducible HSP70 in apoptotic cells is correlated with their efficacy for antitumor vaccine therapy. *Int J Cancer*. 2004; 111(4): 575-583.
27. Mazelin L, Bernet A, Bonod-Bidand C, Pays L, Arnaud S, Gespach C, Bredesen DE, Scozaec JY, Mehien P. Natrin-1 controls colorectal tumorigenesis by regulating apoptosis? *Nature*. 2004; 431(7004): 80-84.
28. Nath N, Kashfi K, Chen J, Rigas B. Nitric oxide-donating aspirin inhibits (beta)-catenin / T cell factor (TCF) signaling in SW480 colon cancer cells by disrupting the nuclear (beta)-catenin-TCF association. *Process Nat Acad Sci*. 2003; 100(22): 12584-12589.
29. Nesbit CE, Fan S, Zhang H, Prochownik EV. Distinct apoptotic response imported by c-myc and max. *Blood*. 1998; 180(6): 2413-2418.
30. Nishikawa M, Stapleton PP, Freeman TA, Ganghan JP, Matsuda T, Daly JM. NS-398 inhibits tumor growths and liver metastasis of colon cancer through induction of apoptosis and suppression of plasminogen activation system in a mouse model. *J Am Coll Surg*. 2004; 199(3): 428-435.
31. Nobuoka A, Takayama T, Miyanski K, Sato T, Takanashi K, Hayashi T, Kukitsu T, Sato Y, Takahashi M, Okamoto T, Matsumaga T, Kato J, Oda M, Azuma T, Niitsu I. Glutathione-S-transferase PI-1 protects

- aberrant crypt foci from apoptosis induced by deoxycholic acid? *Gastroenterology*. 2004; 127(2): 428-443.
32. Ogawa S, Nagao M, Kanehiro H, Hisanaga M, Ko S, Ikeda N, Nakajima I. The breakdown of apoptotic mechanism in the development and progression of colorectal carcinoma. *Anticancer Res*. 2004; 24(3a): 1569-1579.
 33. Palloza P, Serini S, Maggiano N, Tringali G, Navara P, Ranelletti FO, Calviello G. (Beta)-carotene down regulates the steady-state and heregulin-(alpha)-induced COX-2 pathways in colon cancer cells. *J Nutr*. 2005; 135(1): 129-136.
 34. Prall F, Ostwald C, Nizze H, Barten M. Expression profiling of colorectal carcinomas using tissue microarrays: cell cycle regulatory proteins p21, p27 and p53 as immunohistochemical prognostic markers in univariate and multivariate analysis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2004; 12(2): 111-121.
 35. Rice PL, Washington M, Schleman S, Beard KS, Driggers LJ, Ahnen DJ. Sulindac sulfide inhibits epidermal growth factor – induced phosphorylation of extracellular- regulated kinase and Bad in human colon cancer cells. *Cancer Res*. 2003; 63(3): 616-620.
 36. Richter M, Weiss M, Weinberger I, Fuerstenberger G, Mariam B. Growth inhibition and induction of apoptosis in colorectal tumor cells by cyclooxygenase inhibitors. *Carcinogenesis*. 2001; 22(1): 17-25.
 37. Sincope FA, Ruan SB, Cleary RR, Ustephens LC, Lee JJ, Levin B. Bcl-2 and p53 oncoprotein expression during colorectal tumorigenesis. *Cancer Res*. 1995; 55(6): 237-241.
 38. Sobin IH, Wittekind C. *UICC: TNM clasification of malignant tumors*, 6-th ed., John Wiley and sons, London, 2002.
 39. Tomita N, Fukunaga M, Okamura S, Ohzato H, Takatsuka Y, Shirane M, Yasuno H, Mori K, Fujii M, Matsuura N. The induction of apoptosis in colorectal cancers by prospective administration of 5'-deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR) and its prediction from gene expression profile analysis using DNA microarray. *J Clin Oncol*. 2004; 22(14s): 3710.
 40. Trauth BC, Keesy J. *Guide to cell proliferation and apoptosis methods*. Mannheim: Boehringer. 1998.
 41. Wang T, Chen F, Chen Z, Wu YF, Xu XL, Zheng S, Hu X. Honokial induces apoptosis through p53 – independent pathway in human colorectal cell line RKO. *World J Gastroenterol*. 2004; 10(15): 2205-2208.
 42. Watson AJM. Apoptosis and colorectal cancer. *Gut*. 2004; 53(11): 1701-1709.
 43. Weitz J, Koch M, Debus J, Hoehler T, Galle PR, Buechler MW. Colorectal cancer. *Lancet*. 2005; 365(1): 153-165.
 44. Whang T, Fields JZ, Ehrlich SM, Boman B. The chemopreventive agent sulindac attenuates expression of the antiapoptotic protein survivin in colorectal carcinoma cells. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004; 308(2): 434-437.
 45. Williams AC, Hague A, Manning AM, van der Strappen JWJ, Paraskeva C. In vitro models of human colorectal cancer. *Cancer Surveys*. 1993; 16(1): 15-29.
 46. Wilson AJ, Velcich A, Arango D, Kurland AR, Shenoy SM, Pezo RC, Levsky JM, Singer RH, Augenlicht LH. Novel detection and differential utilization of a c-myc transcriptional block in colon cancer chemoprevention. *Cancer Res*. 2002; 62(1): 6006-6010.
 47. Zhang S, Ong CN, Shen HM. Involvement of proapoptotic Bcl-2 family members in parthenolide – induced mitochondrial dysfunction and apoptosis. *Cancer Lett*. 2004; 211(2): 175-188.