

Az öregedés mikroszkópos és molekuláris jelei a vastagbélben, valamint ezek lehetséges szerepe az időskori vastagbélrák kialakulásában

LEISZTER KATALIN DR.¹ ■ GALAMB ORSOLYA DR.^{1, 2} ■ SIPOS FERENC DR.¹
TÓTH KINGA DR.¹ ■ VALCZ GÁBOR¹ ■ PATAI V. ÁRPÁD DR.¹
MOLNÁR JEANNETTE DR.³ ■ MOLNÁR BÉLA DR.^{1, 2} ■ TULASSAY ZSOLT DR.^{1, 2}

¹Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, II. Belgyógyászati Klinika, Budapest

²Magyar Tudományos Akadémia, Molekuláris Medicina Kutatócsoport, Budapest

³Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet, Táplálkozás-élettani és Epidemiológiai Főosztály, Budapest

Az öregedés emésztőrendszeri hatásainak vizsgálata, molekuláris hátterének megismerése és bizonyos betegségek (mint például az idősek körében gyakrabban előforduló sporadikus vastagbélrák) kialakulásával való kapcsolatának feltérképezése új és ígéretes terület a molekuláris gasztroenterológiának. Ismert tény, hogy az emésztőrendszerben az öregedés során kialakuló molekuláris változások egy része (például a DNS-metiláció, a telomerrövidülés) a vastagbélrák bizonyos típusaiban is azonosítható. A sporadikus vastagbélrák epidemiológiai és molekuláris tulajdonságait ismerve továbbra is nyitott kérdés, hogy pontosan milyen molekuláris mechanizmusok, genetikai vagy génexpressziós szintű, illetve epigenetikai változások magyarázzák, hogy 45–50 éves kor felett a sporadikus vastagbélrákos megbetegedések száma ugrásszerűen megnő, és ezek vajon hogyan hozhatók összefüggésbe az öregedés mechanizmusával. Hosszú távon a megelőzés és a korszerű kezelés szempontjából is kiemelkedő jelentőségű lehet a megismert folyamatok célzott befolyásolása. Dolgozatunk az öregedés során a vastagbélben kialakuló mikroszkópos és molekuláris változásokat foglalja össze, és ezek lehetséges szerepét mutatja be az időskori sporadikus vastagbélrák kialakulásában.

Kulcsszavak: öregedés, molekuláris gasztroenterológia, vastagbélrák

Age-related microscopic and molecular changes of the human colon, and their role in the development of colorectal cancer in elderly people

The gastrointestinal effect of aging, the recognition of its molecular background and the mapping its connections with several diseases like sporadic colorectal cancer of elder people are a new and promising area of molecular gastroenterology. Nowadays, it is a well-known fact that some age-related molecular changes (e.g.: DNA methylation, telomere shortening) can be detected in several types of colorectal cancers. The known epidemiologic and molecular biologic features of sporadic colorectal cancer are not enough to explain the genetic, gene expression or epigenetic changes that may be involved in the increase of the disease over 45–50 age years. The connections of these alterations to the process of aging are also unclear. The understanding and custom-tailored modification of these mechanisms are of great clinical importance regarding of prevention and modern therapeutic strategies. In this review, we aimed to summarize the age-related microscopic and molecular changes of the human colon, as well as their role in the development of colorectal cancer of the elder people.

Keywords: aging, molecular gastroenterology, colorectal cancer

(Beérkezett: 2010. március 17., elfogadva: 2010. április 6.)

Rövidítések

ACF = (aberrant crypt focus) aberráns kriptafókusz; BRCA1 = breast cancer 1; CIMP = (CpG island methylator phenotype) CpG-sziget-metilátor fenotípus; CRC = (colorectal cancer) kolorektális rák; CSC = (cancer stem cell) daganatőssejt; DMH = dimetilhidrazin; DNMT1 = DNS (citozin-5-) -metiltransferáz-1; DNMT3A = DNS (citozin-5-) -metiltransferáz-3-alfa; DNMT3B = DNS (citozin-5-) -metiltransferáz-3-béta; EGF = (epidermal growth factor) epidermalis növekedési faktor; EGFR = EGF-receptor; ENS = (enteric nervous system) enterális idegrendszer; ER = ösztrogénreceptor; ERRP = EGF-receptor related protein; ESA = epitheliumspecifikus antigén; hMLH1 = MutL-homológ 1; HNPCC = hereditary non-polyposis colorectal cancer; IGF = (insulin-like growth factor) inzulinszerű növekedési faktor; IGF-IR: IGF-I receptor; IGFBP = (IGF binding protein) IGF-kötő fehérje; MMR = (mismatch repair) DNS-hibajavítás; MSI = mikroszatellit-instabilitás; MYOD = myogenic differentiation; N33/TUSC33 = tumor suppressor candidate 3; NOS = nitrogén-oxid-szintáz; P16/CDKN2A = ciklindependens kinázinhibitor-2A; PCNA = (proliferating cell nuclear antigen) proliferáló sejtmagantigén; TERC = (telomerase RNA component) telomeráz RNS-komponens; TERT = telomeráz reverz transzkriptáz; TGF- α : (transforming growth factor alpha) transzformáció-növekedési faktor- α ; TIF-1- α : transláció iniciációs faktor-1- α ; TUNEL: terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling

Az öregedés során a vastagbélben kialakuló molekuláris változások pontosan nem ismertek, az állatkísérletek és a humán tanulmányok eredményei időnként ellentmondóak. Egy 2007-ben közzétett amerikai tanulmányban a hasi szervek térfogatának és metabolikus aktivitásának változását tanulmányozták képkalkító vizsgálatok (CT, PET) segítségével gyermekekben és felnőttekben, különböző életkorban. A PET-vizsgálatok eredményei szerint a vastagbél metabolizmusa nem változik lényegesen (szignifikánsan) az öregedés során [1].

Szöveti és molekuláris szinten ugyanakkor számos változás alakul ki. *Baum és mtsai* által kutyákon végzett vizsgálat azt igazolta, hogy a tunica muscularis körkörös rétege egyre vastagabb az idő előrehaladtával, míg a hám, illetve a submucosa más rétegei és az öregedés között nem találtak erős kapcsolatot [2]. Más tanulmányok szerint a vastagbél falában a kollagénfibrillumok átmérője nő a harmadik trimeszterig, majd fokozatosan csökken az öregedés során, döntően a bal colonfélben, ami jelentősen befolyásolja a bél húzószilárdságát. Nő a kollagén-szálak sűrűsége is, keresztkötések alakulnak ki köztük, ami csökkenti a bélfal rugalmasságát. A rugalmasság, a tágulékonyság és a vastagbél belső átmérőjének csökkenése hozzájárulhat az idősekben gyakran előforduló diverticulumok kialakulásához [1]. Az enterális idegrendszerben (ENS) a submucosa és a plexus myentericus idegsejtjeinek száma egyaránt csökken, egyes humán tanulmányok és állatkísérletek eredményei szerint pedig a jelátvivő molekulák (neurotranszmitterek) termelésének csökkenése, a NOS-rendszer csökkent aktivitása, valamint az opioid jelfogók (receptorok) nagyobb sűrűsége is hozzájárulhat az átjutási idő (tranzitidő) megnyúlásához és így az idősek körében gyakran előforduló székrekedés kialakulásához [3]. A vastagbél beidegzésének változása az izomzat működésére is hatással van. Csecsemő- és fiatal gyermekkorban az összehúzódások nagyobb

amplitúdóval következnek be a vastagbélben, aktívabb a bélmozgás, mint idősebb gyermekekben. Idősebb egyedeken végzett állatkísérletek, illetve felnőtt humán tanulmányok eredményei a vastagbél-átjutási idő változásáról nem egybehangzóak [1].

Az emberi szervezetben a vastagbélhám négy-öt naponta megújul. A hámsejtek osztódásának és pusztulásának egyensúlya teszi lehetővé a kiegyensúlyozott hámregenerációt. Az egyensúly megbomlása kontrollálatlan sejtszaporodáshoz (vastagbélrák) vagy hibás regeneráció (fekély) kialakulásához vezethet. Sokáig azonban nem volt ismert az öregedés hatása a hámregenerációra, illetve a vastagbélrák kialakulására. *Mandir és mtsai* különböző időpontban feláldozott patkányok testsúlyát, emésztőrendszeri szerveinek méretét, valamint a bélhám mitotikus és apoptotikus aktivitását vizsgálták. A vastagbél tömege és hossza a kilencedik hétig gyorsan, majd ezt követően lassabban növekedett. A vastagbélhám a kripták osztódása és a sejtosztódás a harmadik héten volt a legaktívabb, majd folyamatosan csökkent a kilencedik hétig, ezt követően állandó szinten maradt. A sejtpusztulás (apoptózis) szintén a harmadik héten volt a legnagyobb mértékű, majd folyamatosan csökkent a 48. hétig. Eredményeik szerint tehát a hámregeneráció – a sejtosztódás és -pusztulás – a fiatal egyedekben volt a legintenzívebb, vizsgálatukból pedig arra következtetnek, hogy a hám fiatal korban végbemenő drámai változások az emésztőrendszer fejlődésével hozhatók összefüggésbe, míg a továbbiakban az öregedés nincs hatással a vastagbélhám megújulására [4].

Xiao munkacsoportjának eredményei ennek ellentmondanak. Patkányokon végzett kísérletükben idősebb (14, illetve 22 hónapos) egyedekben több osztódó sejtet (PCNA-pozitív) találtak a vastagbélhámában, mint a fiatalabbakban (4 hónapos), míg az apoptotikus, TUNEL pozitív sejtek száma a 22 hónapos egyedekben volt a legalacsonyabb. Az antiapoptotikus Bcl fehérje szintje a legidősebb állatokban volt a legmagasabb, míg a proapoptotikus Bak fehérje szintje folyamatosan csökkent a vastagbélhámában az idő előrehaladtával. Vizsgálatukból arra a következtetésre jutottak, hogy az öregedés fokozott sejtosztódással és csökkent sejtpusztulással társul a vastagbélhámában, ami magyarázatot adhatna az időskorban gyakrabban előforduló vastagbélrák kialakulására [5]. A tanulmányok eredményeiben tapasztalt ellentmondások háttérben a különböző magasságból történő mintavétel, a kísérleti állatok változó életkora, valamint az eltérő mintafeldolgozási, festési és kiértékelési módszerek állhatnak [6].

Az öregedés és a kolorektális rák keletkezésének lehetséges kapcsolódási pontjai

A karcinogenezis és az öregedés pontos molekuláris mechanizmusa nem ismert. A két folyamat között azonban számos kapcsolódási pont van, amely rávilágíthat arra, hogy milyen összefüggésben áll az öregedés a daganatok

kialakulásával. Gyakran mindkét folyamatban előfordul a sejtmagban lévő és a mitokondriális DNS károsodása, bizonyos genetikai és epigenetikai eltérések (promóter-hipermetiláció, telomerázaktivitás-csökkenés), az apoptózis vagy a DNS-hibajavítás megváltozása, a metabolizmusban és a neuroendokrin rendszer működésében kialakuló változások, valamint az immunrendszer „öregedése” [7, 8].

Az időskori vastagbélrák és a daganatossejtek

A vastagbélhámsejtek határt képeznek a belső milió és a külvilág között, valamint a tápanyagfelszívásban is szerepet játszanak. A felnőtt emberi szervezetben a vastagbélhám négy-öt naponta megújul, a regeneráció a kripták alján lévő őssejtek révén valósul meg. Az őssejtek a luminális felszín felé vándorolva különböző hámsejteké differenciálódnak, majd az elpusztult sejtek leöklődnek és a béltartalommal távoznak (proliferációs hierarchia). Ezek az őssejtek morfológiailag nem különíthetők el a többi hámsejttől, immunhisztokémiai jelölésekkel próbálják azonosítani őket.

Több munkacsoport vizsgálta az öregedés vastagbélhámra és az őssejtek viselkedésére gyakorolt hatását egerekben. Az őssejtek működésére részben a hám-pusztulás, részben a hámregeneráció mértékéből következtethetünk. Egészséges egyedekben az őssejtek környezetében található néhány apoptotikus sejtet, és ez nem változik az öregedés során. *Martin és mtsai* vizsgálatában kis dózisu gamma-besugárzást követően idősebb egerekben közel kétszer annyi pusztuló sejtet találtak hasonló helyzetben, mint fiatalabb egerekben. Vizsgálták továbbá a kripták túlélését is a besugárzást követően. Nagyobb dózisu besugárzás után idősebb egerekben sokkal gyorsabban csökkent a túlélő kripták száma, mint fiatalabb egyedekben. A besugárzást követően lehetőségük nyílt a hámregeneráció tanulmányozására is. Eredményeik szerint az idősebb egerekben sokkal lassabban regenerálódott a vastagbélhám az irradiációt követően [9].

Az utóbbi időben egyre több tanulmányban a hámre-detű daganatok kialakulását – így a kolorektális karcinómát (CRC) is – az állandó sejtmegújulásra képes őssejtekkel, a daganatossejtekkel (cancer stem cell – CSC) hozzák összefüggésbe (a daganat mint „őssejtbetegség” elmélet). A daganatossejtek képződésének pontos folyamata nem ismert. Egyes feltételezések szerint mutáció következtében alakulnak ki az egészséges őssejtekből.

Levi és mtsai patkányokban igazolta a daganatossejtszám-növekedést az öregedés során és karcinogén dimetilhidrazin- (DMH-) kezelést követően a vastagbélkriptákban. Az utóbbi két hatás összeadódott, vagyis a daganatsejtszám növekedése az idős és karcinogénnel kezelt állatokban volt a legnagyobb. Eredményeik szerint tehát a daganatkialakulás folyamatában a daganatossejtszám-növekedés igen korai lépés. A későbbiekben,

a vastagbélrákszűrésben is szerepet kaphatnak ezek a sejtek mint kórjelző markerek, hiszen az épek tűnő vastagbélhámiban jelen levő daganatossejtszám utalhat a vastagbélrák kialakulására, akár hosszú évekkkel a daganat megjelenése előtt [10].

Patel és mtsai vastagbélrákos mintákban három sejtfel-színi marker, a CD44, a CD166 és az ESA segítségével azonosítottak vastagbélrákossejteket. Mivel a daganatos megbetegedések, így a kolorektális adenóma és karcinóma idősök körében gyakrabban fordulnak elő, vizsgálatukban arra a kérdésre kerestek választ, hogy a daganatossejtek száma hogyan változik az életkor függvényében a szövettanilag ép hámiban és a daganatmeg-előző állapotokban. Idősebb egyénekben a CD44-, CD166- és ESA-kifejeződés (expresszió) nagyobb volt az ép hámiban, mint a fiatalabbakban, ami arra enged következtetni, hogy a daganatossejtek száma az életkor előrehaladtával növekszik. A fent említett jelzőmolekulák az adenomatosus mirigyekben is megtalálhatóak, így nagy valószínűséggel ezek az őssejtek szerepet játszanak a daganatok kialakulásában. További megfigye-lésük szerint a hámiban is jelen levő daganatossejtek száma pozitív összefüggést mutat a vastagbélpolipok számával, illetve az öregedés során a daganatossejtszám és az EGFR-expresszió párhuzamosan növekedik [11].

Genetikai instabilitás

Bizonyos belső és külső környezeti tényezők hatására (ultraibolya sugárzás, oxigén-szabadgyökök) szerv- és szövetszabályos módon mutációk halmozódnak fel a szervezetben [12]. A fiatalokkor jellemző, valamennyi szervben előforduló, hasonló mutációs profillal ellentétben, időskorban a mutációk felhalmozódásának mértékében az egyes szervek jelentősen különbözhetnek egymástól, illetve egyazon szervben belül a sejtek között is eltérés mutatkozik [13]. Az emlősszövetben a random mutációk genetikai hatásai sokkal jelentősebbek, mint azt korábban gondolták. Ezek a mutációk az átíródást (transzkripciót) ellenőrző folyamatokban jelentős változást okozhatnak, aminek következtében heterogén sejtpopuláció, illetve nagyszámú, az eredeti működését tekintve módosult, feladatát vesztett sejt jön létre [14]. Az idő előrehaladtával a sejtekben felhalmozódó genetikai változások hozzájárulhatnak a sejt öregedéséhez, pusztulásához, de akár a daganatsejtté való átalakulásához is.

Epigenetikai változások – A metiláció

Az életkor és a daganatok előfordulása (incidencia) között szoros kapcsolat van. Az időskori daganatok kialakulásában az epigenetikai tényezők is szerepet játszanak, amelyek a genetikai állomány, a DNS-bázissorrend megváltozása nélkül módosítják a gének működését. Ilyen epigenetikai változás például a tumorszuppresszor gének promóter régiójában bekövetkező fokozott metiláció (hipermetiláció). A metilációt az emlőssejtekben három

féle metiltranszferáz enzim végzi (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B), a metilcsoportot pedig az S-adenozin-metioninról hasítják le [15]. A metiláció a citozin puringyűrűjének ötödik szénatomján következik be, de csak abban az esetben, ha a citozint hozzá foszfodiészter kötéssel kapcsolódó guanin követi. Ez a dinukleotidpár (CpG) legnagyobb koncentrációban általában a gének 5' végén, a promóter régióban található, amelyet CpG-szigetnek nevezünk. A fiatal emberi szervezet DNS-ében a CpG-helyek közel 70%-a metilált, azonban a metiláció döntően ismétlődő szekvenciákat (például Alu-szekvencia), illetve a CpG-helyekben szegényebb szekvenciákat érint, míg a promóter régióban lévő CpG-szigetek többnyire nem metiláltak. A gének metilációs mintázata számos tényező hatására megváltozhat. Ezután több fehérje közreműködésével (metilált-DNS-kötő fehérje, hisztonok, deacetilázok stb.) tömör kromatinszerkezet alakul ki, ami nem engedi az átíró tényezők (transzkripció faktorok) bekötődését a gének promóter régiójába, ezzel megakadályozva a gének működését [16].

A CpG-helyek metilációjának két típusát különítjük el. Az életkorhoz kötött – angol elnevezéséből eredően A-típusú (age-related) – CpG-hipermetiláció az ép vastagbél-nyálkahártyában és a tumorban egyaránt megtalálható [16]. Az A-típusú CpG-hely-metiláció lineárisan növekszik az idő függvényében, bár ennek ütemében jelentős egyéni különbségek lehetnek [15]. *Issa és mtsai* az ösztrogénreceptor (ER) öregedéssel összefüggésbe

hozható metilációját igazolták a gén CpG-szigeteiben, ép vastagbél-nyálkahártyában. Ugyanakkor kisméretű adenómákban és vastagbélrákban az ER gén fokozott metilációját találták, ami arra enged következtetni, hogy az ER gén metilációhoz köthető inaktivációjának fontos szerepe lehet a karcinogenezis korai szakaszában [17]. Az A-típusú metilációt más szervekben (például gyomorban), illetve az emésztőrendszeren kívül más szervrendszerekben is igazolták [15] (1. táblázat).

Issa és mtsai colitis ulcerosában szenvedő betegek szövettanilag ép, diszplasztikus és daganatos vastagbél biopsziás mintáinak metilációs mintázatát vizsgálták, egészséges kontrollcsoporthoz viszonyítva. A diszplasztikus és a daganatos mintákban a kontrollokhoz képest fokozott metilációt találtak, három gén esetében (ER, MYOD, p16), pedig az ép hámban is fokozott CpG-sziget-metilációt igazoltak. Feltételezhető, hogy a krónikus gyulladás következtében felgyorsult sejtmegújulás összefüggésben áll a hipermetilációval, ilyen szempontból a colitis ulcerosát pedig úgy is tekinthetjük, mint a vastagbél-nyálkahártya hámsejtjeinek felgyorsult öregedését [18]. Hasonlóképpen fokozott A-típusú metiláció látható a gyomornyálkahártya hámsejtjeiben krónikus *Helicobacter pylori*-fertőzés esetén [15]. Mind a colitis ulcerosa a vastagbélben, mind a krónikus *Helicobacter pylori*-fertőzés a gyomorban hajlamosító tényező az emésztőrendszeri daganatok kialakulására, ezért a hipermetiláció kapcsolódási pont lehet az öregedés során

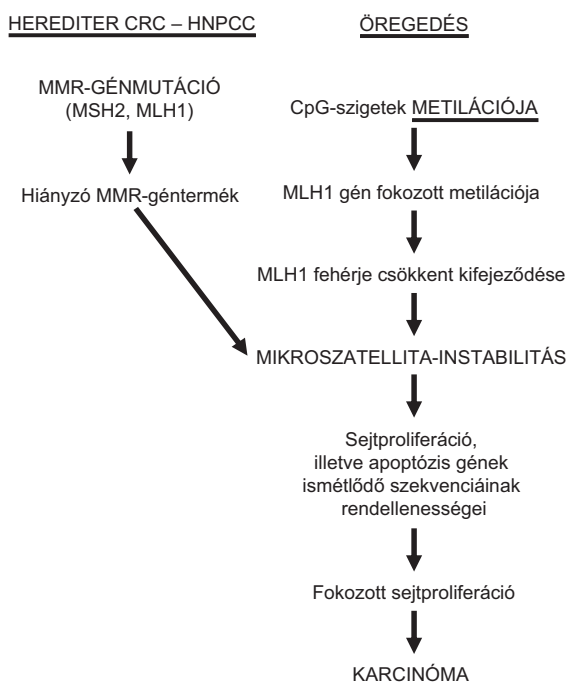
1. táblázat | Az A- és C-típusú metiláció által érintett gének az öregedés során ép szövetekben, valamint daganatokban (Módosított táblázat *Yuasa, T.*: DNA methylation in cancer and ageing. *Mech. Ageing Dev.*, 2002, 123, 1649–1654. alapján)

Gén	Kromoszómalokalizáció	Metiláció az ép szövetben	Metiláció a daganatban
A-típusú metiláció			
CSPG2	5q12-14	Vastagbél	Vastagbél
ER	6q25.1	Vastagbél	Vastagbél, tüdő, leukémia
MYOD1	11p15.4	Vastagbél	Vastagbél, tüdő
IGF2	11p15.5	Vastagbél	Vastagbél, leukémia
N33	8p22	Vastagbél	Vastagbél, prosztata
HIC1	17q13.3	Prosztata	Vastagbél, tüdő, prosztata
DBCCR1	9q32-33	Húgyhólyag	Húgyhólyag
C-típusú metiláció			
APC	5q21		Vastagbél, gyomor, nyelőcső
COX-2	1q25.2-25.3		Vastagbél
hMLH1	2q22		Vastagbél, gyomor, méh
DAPK	9q34.1		Vastagbél, fej-nyak stb.
WT1	11p13		Vastagbél, tüdő
TIMP3	22q12.1-13.2		Vastagbél, vese, tüdő, agy
p14 ^{ARF}	9p21		Vastagbél, gyomor, méh
MGMT	10q26		Vastagbél, tüdő, fej-nyak stb.
GSTP1	11q13		Vastagbél, tüdő, prosztata, máj
P16 ^{INK4a}	9p21		Vastagbél, gyomor stb.
P15 ^{INK4b}	9p21		Leukémia, lymphoma

megfigyelhető változások, az emésztőrendszeri gyulladós betegségek és a daganatok kialakulása között.

A metiláció másik típusa kizárólag daganatokban fordul elő, amelyet szintén angol elnevezéséből adódóan (cancer-related) C-típusú metilációnak nevezünk. A C-típusú metiláció döntően a tumorszuppresszor, illetve a DNS-hibajavító gének promóter régiójában lévő CpG-szigeteket érinti, bizonyos gének metilációja pedig daganatspecifikus. A hMLH1 gén promóter régiójának hipermetilációja például a vastagbélrákban, a gyomor és az endometrium daganataiban, míg a BRCA1 gén hipermetilációja a petefészek és az emlő daganataiban figyelhető meg [15]. A CpG-szigetek fokozott metilációja következtében kialakuló daganatokat CIMP típusú (CpG island methylator phenotype) daganatoknak nevezzük [16] (1. táblázat). A vastagbél-daganatok vizsgálata során gyakran megfigyelhető a mikroszatellita-instabilitás (MSI), mind a csírasejtet érintő mutáció következtében kialakuló örökletes körképekben (például HNPCC), mind a sporadikus vastagbélrák bizonyos eseteiben. Az MSI sporadikus vastagbélrák kialakulásában epigenetikai változásoknak, például a metilációnak is jelentősége lehet, ha a hibajavításban (mismatch repairben – MMR) szerepet játszó gének működése a promóter régió hipermetilációja következtében akadályozott. Az MMR gének hibás működése miatt a mikroszatelliták területén bekövetkező deléciónak, inszerciónak nem kerül kijavításra, ami az ismétlődő szakaszokon kóros szekvenciák fennmaradását, mikroszatellita-instabilitást, az érintett gének (például

sejtosztódásban, apoptózisban szerepet játszó gének) hibás működése révén pedig fokozott sejtosztódást, daganatkialakulást eredményezhet [7]. A fent említett hMLH1 gén terméke olyan fehérje, amely az MMR hibajavító fehérjekomplex felépüléséhez nélkülözhetetlen [16]. Akár csírasejt-mutáció következtében változik meg a fehérjét kódoló gén, akár epigenetikai változások, például promóter metiláció miatt csökken vagy szűnik meg a fehérje termelése, az MMR fehérjekomplex működése jelentősen károsodik, ami a daganat kialakulásának kedvez. A hMLH1 gén promóterének fokozott metilációja mind a szövettanilag ép vastagbélhamban, mind a vastagbélrákban összefügg az életkorral [7], de más gének, például az ER [17], az N33 és a MYOD gén [19] promóter régióiban is fokozódó metilációt találtak az öregedés során. Mivel a CpG-sziget-hipermetiláció a génműködést nagymértékben befolyásolja, az öregedéshez köthető metiláció jelentős szerepet játszhat az időskori vastagbélrák kialakulásában [7, 15]. *Arai és mtsai* 23 medulláris típusú és 12 pleiomorf vastagbél karcinómában vizsgálták a hMLH1 gén promóter régiójának metilációját, a génkifejeződést (expressziót), a fehérjetermelést és a mikroszatellita-instabilitást. Vizsgálatuk eredményei szerint az időskorban – különösen a nők körében – gyakrabban előforduló medulláris típusú karcinóma esetében lényegesen nagyobb volt a hMLH1 gén promóter metilációja és a mikroszatellita-instabilitás, és kisebb volt a gén kifejeződése, illetve az általa kódolt fehérje szöveti szintje [20] (1. ábra).



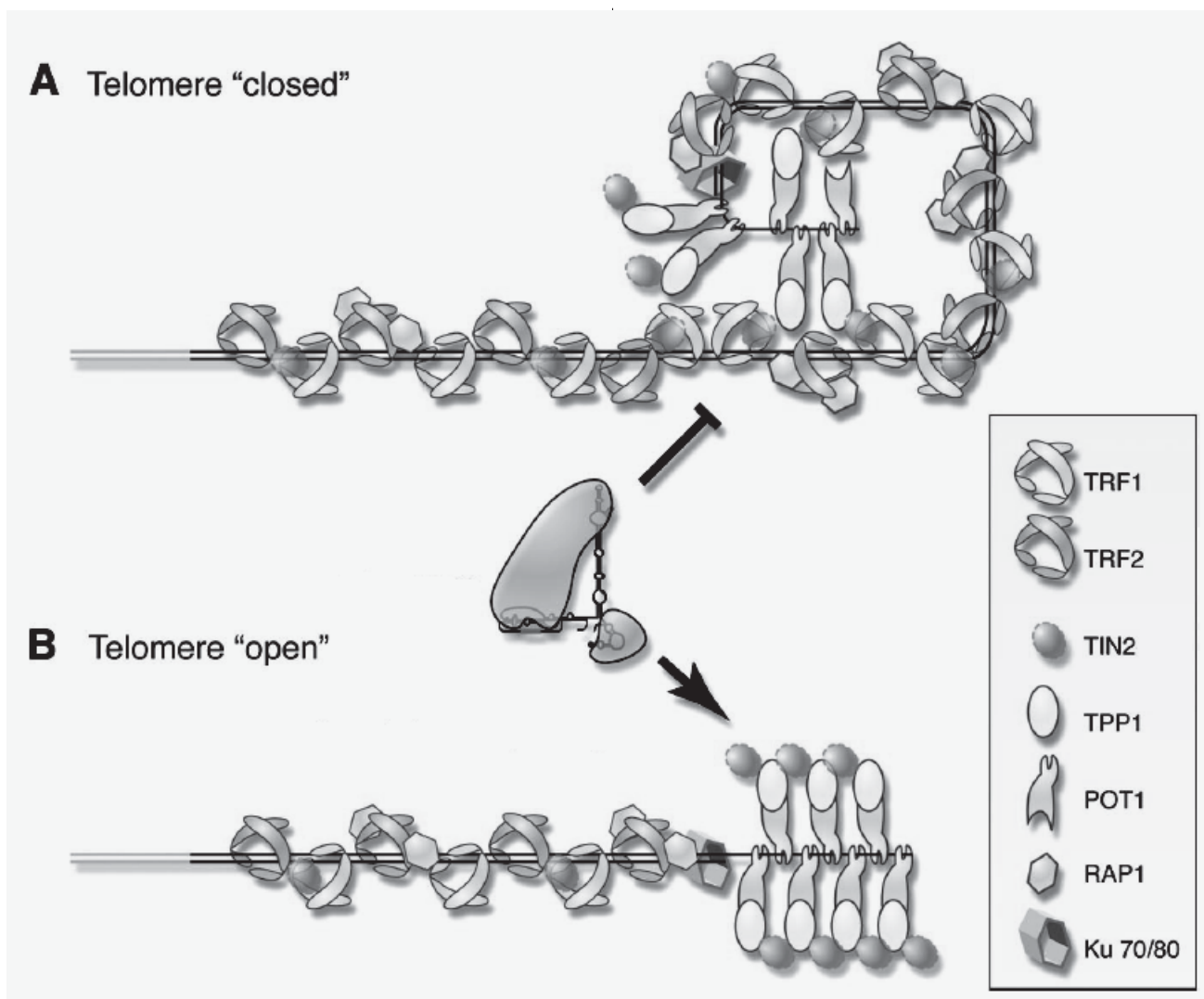
1. ábra

A hipermetiláció jelentősége az öregedés és az időskori emésztőrendszeri daganatok kialakulásában (Módosított ábra *Arai, T., Takubo, K.*: Clinicopathological and molecular characteristics of gastric and colorectal carcinomas in the elderly. *Pathol. Int.*, 2007, 57, 303–314. alapján)

Epigenetikai változások – A telomerrövidülés

A telomer a kromoszóma 3' végén található, ismétlődő DNS-szakaszokból (TTAGGG) épül fel, amely génterméket nem kódol, fő tevékenysége a kromoszóma állandóságának biztosítása. Az emberi szervezet sejtjeiben a telomer 0,5–15 kilobázis hosszúságú, hosszát alapvetően az egyén életkora, a minta szövettani típusa és a sejtek osztódási aktivitása határozza meg. A telomerhez, annak hosszától függően, számos fehérje kapcsolódhat, amely meghatározza a telomer szerkezetét („telomere open/telomere closed”). Ha a telomer elég hosszú, fehérjék bekötődését követően olyan szerkezetet vesz fel, ami a telomeráz (a telomer hosszát növelő enzim) kapcsolódását megakadályozza („telomere closed”). Ha a telomer rövid, akkor kevesebb fehérje tud kötődni, azok között kötés nem alakulhat ki, így a telomer a telomeráz enzim számára hozzáférhetővé válik („telomere open”) [21] (2. ábra).

A telomere minden egyes sejtosztódás során rövidül, ami a DNS-polimeráz enzim működéséből következik, ugyanis a lineáris DNS 5' végén lévő, a replikációhoz szükséges RNS primert nem fogja DNS-szekvencia felváltani („end replication problem” of DNA-polymerase) [22]. A telomerrövidülés nemcsak a sejtosztódás során következhet be, hanem a telomert bizonyos környezeti



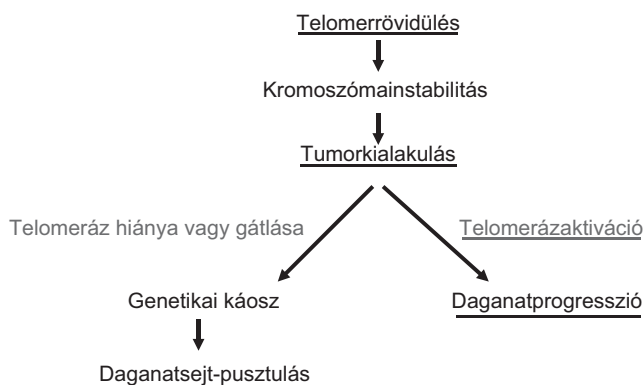
2. ábra | A telomer kétféle szerkezete. A: Zárt telomer (telomere „closed”). B: Nyitott telomer (telomere „open”) (Módosított ábra Aubert, G., Lansdorp, P. M.: Telomeres and aging. *Physiol Rev.*, 2008, 88, 557–579. alapján)

tényezők, például oxigén-szabadgyökök is rövidíthetik. Ha a kromoszómarövidülés telomere hiányában kódolószekvenciák következne be, akkor ez részben géntermékek hiányával, funkcióvesztéssel járhatna, részben lehetőséget adna a kromoszómák összekapcsolódására, genetikai instabilitás kialakulására, teljes genetikai káoszt okozva, amely a sejtek életképtelenségét, pusztulását idézné elő. A sejtekben a telomer hosszának fenntartását a telomeráz enzim biztosítja. A telomeráz enzimkomplexnek szerkezetileg három részét különítjük el. A TERC (telomerase RNA component) templátként szolgál a DNS-szintézishez, a TERT (telomerase reverse transcriptase) az RNS-ről történő DNS-átírásért felelős, a dyskerin pedig az RNS-hez kötődő, azt módosítani képes fehérje. Az elsőként felfedezett, telomerázhiánnyal járó genetikai betegség a dyskeratosis congenita volt, azóta a telomerázkomplex mindhárom összetevőjének számos mutációját leírták már [21].

Az emberi szervezet számos sejtjében a telomer hossza lényegesen csökken az idő függvényében. Ilyen sejtek

például a bélhámsejtek, a perifériás vér sejtjei, a lymphocyták, a vese hámsejtjei, az endothelsejtek, a hepatocyták, a tüdő hámsejtjei és az izomsejtek. A telomerrövidülést azonban nemcsak az öregedés során figyelték meg, hanem számos krónikus betegségben is, többek között gyulladásozós bélbetegségben a bélhámsejtekben. Egyes betegségekben a telomer rövidülésének mértéke szorosan összefügg a kórkép progressziójával (például májcirrhosis) [23]. Bizonyos daganatokban (vastagbél-, hasnyálmirigy-, máj-, agy-, prosztata-, tüdő-, emlő- és fejnyaki karcinómák, valamint a haemopoeticus rendszer malignomái) a telomer hossza a betegség kialakulására, illetve annak lefolyására enged következtetni [22].

A daganatok előfordulása (incidenciája) az idő előrehaladtával nő, a tumoros betegségek jelentős részét öregedéssel összefüggő betegségeknek is tekinthetjük. A rövidülő telomernek több szempontból is jelentősége lehet a daganatok kialakulásában. Mivel a telomerrövidülés következtében a sejtek idővel elpusztulnak, ezért a daganatsejtek életben maradásához nélkülözhetetlen a



3. ábra | A telomerrövidülés és a telomeráz enzim aktivációjának hatása a daganat kialakulására és fennmaradására (Módosított ábra Jiang, H., Ju, Z., Rudolph, K. L.: Telomere shortening and ageing. Z. Gerontol. Geriatr., 2007, 40, 314–324. alapján)

telomer megfelelő hosszának fenntartása. Egészséges felnőtt emberekben a telomeráz enzim csak a csírasejtekben, illetve bizonyos őssejtekben, progenitor sejtekben aktív. Ugyanakkor az aktivált lymphocytákban és bizonyos daganatos megbetegedésekben igazolható a telomeráz enzim reaktiválódása. Az aktív enzim a telomer hosszát folytonosan megnöveli, így biztosítva a tumoros sejtek „halhatatlanságát”. A daganatos sejtek jelentős részében azonban a fokozott telomeraktiváció ellenére sokkal rövidebb a telomer, mint a környező, egészséges szövetben. Erre a látszólagos ellentmondásra az adhat magyarázatot, hogy a telomerrövidülés a kromoszómainstabilitás révén az ép sejtek daganatsejtté történő átalakulását segíti elő, míg a rövid telomerszakasz stabilizálása a fokozott telomerázaktiváció révén nélkülözhetetlen a daganatos sejt életben maradásához [22] (3. ábra).

A génkifejeződés és bizonyos fehérjék szintézisének megváltozása a vastagbélben az öregedés során, valamint a kolorektális rák kialakulásában

Az öregedés során a szervezetben kialakuló változások molekuláris háttere pontosan nem ismert, bár számos elmélet látott már napvilágot. Az öregedési elméletek között napjainkban már helyet kap az életkorral változó génkifejeződés is. Az elmúlt tíz évben több állatkísérletben is microarray-vizsgálatok segítségével génkifejeződési szinten tanulmányozták az öregedés során kialakuló változásokat.

Az eddigi vizsgálatok eredményei is azt bizonyítják, hogy az emésztőrendszerben az idő előrehaladtával kialakuló változások szerv-, illetve szövetfajlagosak. Lee és mtsai által patkányokon végzett kísérletben a patkóbél és a vastagbél génkifejeződési mintázatának megváltozása eltérő volt. A vastagbélben ezek a változások döntően fokozott „génműködést” eredményeznek, ellentétben a vékonybéllel, és leginkább a sejt metabolizmusában szerepet játszó enzimeket és membrántranszportereket

érintik, ami szintén a fokozott sejtosztódásnak és az időskori vastagbélrák kialakulásának kedvez [24].

A kolorektális tumor kialakulásában számos gén pontmutációját leírták már. Lee munkacsoportja tanulmányozta a daganatok kialakulásához köthető gének („cancer-related genes”) kifejeződésének megváltozását nem daganatos, idősebb egyedekben is. Ezek közül több gén (c-K-ras, maspin, p21, CD44, citokróm P450 4F1, riboszomális fehérjéket kódoló gének, TIF-1- α , elongációs faktor-1- γ stb.) fokozottan fejeződött ki a vastagbélben a fiatalabb egyedekhez képest, míg a vékonybélben ugyanezen változások jelentős része nem igazolódott. A génkifejeződés megváltozásához feltételezhetően epigenetikai változások, például a metilációs mintázat megváltozása is hozzájárul [24, 25].

Számos korábbi tanulmány szerint az emésztőrendszer növekedésében, a bélmozgás, a tápanyagfelszívás és a hámsejtosztódás szabályozásában az IGF-rendszernek meghatározó szerepe van. A rendszer legfontosabb tagjai a vérben keringő és a vastagbélben termelődő IGF-I, a hámsejtek IGF-I jelfogója (IGF-IR) és a különböző típusú IGF-kötő fehérjék (IGFBP-3, IGFBP-4). Az azonban eddig nem volt ismert, hogy az öregedés vagy a kalóriabevitel csökkentése milyen hatású az IGF-rendszerre. Hallberg és mtsai különböző életkorú patkányok vastagbéljében vizsgálta az IGF-I, az IGF-IR, valamint az IGFBP-3 és IGFBP-4 mRNS-kifejeződésének változását, hagyományos táplálás és kalóriacsökkentés mellett. Mind az öregedés, mind a kalóriabevitel csökkentése mRNS-kifejeződési szinten is érzékelhető változást hoz létre az IGF-rendszerben, csökken az IGF-I- és IGF-IR-kifejeződés a vastagbélhámiban [26].

Az IGF-rendszeren kívül más növekedési faktor hatását is vizsgálták az emésztőrendszerben, az öregedéssel és a vastagbélrák kialakulásával kapcsolatban. A korábbi morfológiai vizsgálatokban fokozott sejtosztódást és csökkent sejtpusztulást írtak le a vastagbélhámiban az öregedés során, majd később arra is fény derült, hogy az EGFR-rendszer aktivitása fokozódik az emésztőrendszerben. Az EGFR-rendszer számos sejtműködésben fontos szerepet tölt be, beleértve a sejtosztódást és a daganat kialakulását is. A fokozott aktivitást részben a megnövekedett mennyiségű TGF- α előalakjának EGF-receptorhoz való kötődésével magyarázták. A másik lehetséges magyarázat az ERRP (EGF-receptor related protein) gátlóhatásának megváltozásában keresendő. Az ERRP 90%-os homológiát mutat az EGFR sejten kívüli ligandumkötő elemével, így hozzá kötődve gátolja az EGFR-rendszer működését. Ép vastagbélhámiban és gyomornyalkahártyában az ERRP fokozott termelését, míg invazív adenokarcinómákban az ERRP csökkent elválasztását írták le. Továbbá az ERRP cDNS-t vastagbélráksejtekbe juttatva csökkent a sejtek osztódása és gátolta az EGFR-jelátviteli utat. Mindez arra enged következtetni, hogy az egészséges hámiban a magas ERRP-szint révén az EGFR-rendszer gátolt. Schmelz és mtsai patkányokon végzett kísérletükben arra kerestek választ, hogy megváltozik-e az ERRP-termelés az öregedés so-

rán, ilyen értelemben hatással van-e a már korábban is leírt fokozott EGFR-aktivitásra és sejtosztódásra, valamint a vastagbélrák kialakulására időskorban. Eredményeik szerint az öregebb egyedekben az aktivált (tirozinfoszforilált) EGFR szintje 45% és 30%-kal magasabb volt a proximális és a distális vastagbélben, mint a fiatal állatokban, az EGFR-t gátló ERRP szintje pedig 25% és 30%-kal volt alacsonyabb. Karcinogén DMH adását követően az idősebb egyedekben közel kétszer annyi aberráns kriptafókusz (ACF) alakult ki, mint a fiatalabbakban, ami a kolorektális karcinogenezis egyik legelső, látható jele. Azt is megállapították továbbá, hogy DMH adását követően mindkét korcsoportban jelentősen csökkent az ERRP-termelés a vastagbélhámiban, és míg a fiatal egyedekben az EGFR-aktivitás kismértékben emelkedett, addig az öregebb patkányokban az EGFR-kifejeződés a lényegességi szintet meghaladóan (szignifikánsan) magasabb volt. Eredményeik szerint tehát az EGFR-rendszer fokozott működése és a csökkent ERRP-termelés az időskori vastagbélrák kialakulásában fontos szerepet tölthet be [27].

Következtetések

Az öregedésnek számos jele van az emésztőrendszerben, így a vastagbélben is. Ezek részben makroszkópos, részben szöveti, fehérje- és génkifejeződési szinten is láthatók. Ma már több munkacsoport által is bizonyított, hogy az időskori vastagbélrák kialakulásának és az öregedés molekuláris folyamatainak több kapcsolódási pontja van, ami választ adhat arra a kérdésre, hogy az idősebb korcsoportban miért fordul elő sokkal gyakrabban a sporadikus vastagbélrák. Az öregedésben szerepet játszó folyamatok befolyásolása olyan új, egyénre szabott kezelési eljárások kifejlesztéséhez vezethet, amelyek segítségével mind a daganatos, mind a krónikus gyulladásos folyamatok gyógyítása lehetővé válhat.

Irodalom

- [1] Meier, J. M., Alavi, A., Iruvuri, S. és mtsai: Assessment of age-related changes in abdominal organ structure and function with computed tomography and positron emission tomography. *Semin. Nucl. Med.*, 2007, 37, 154–172.
- [2] Baum, B., Meneses, F., Nolte, I. és mtsai: Age-related histomorphologic changes in the canine gastrointestinal tract: A histologic and immunohistologic study. *World. J. Gastroenterol.*, 2007, 13, 152–157.
- [3] Salles, N.: Basic mechanisms of the aging gastrointestinal tract. *Dig. Dis.*, 2007, 25, 112–117.
- [4] Mandir, N., FitzGerald, A. J., Goodlad R. A.: Differences in the effects of age on intestinal proliferation, crypt fission and apoptosis on the small intestine and the colon of the rat. *Int. J. Exp. Path.*, 2005, 86, 125–130.
- [5] Xiao, Z. Q., Moragoda, L., Jaszewski, R. és mtsai: Aging is associated with increased proliferation and decreased apoptosis in the colonic mucosa. *Mech. Ageing Dev.*, 2001, 122, 1849–1864.
- [6] Lee, H. M., Greeley, G. H. Jr., Englander, E. W.: Effects of aging on expression of genes involved in regulation of proliferation and apoptosis in the colonic epithelium. *Mech. Ageing Dev.*, 2000, 115, 139–155.
- [7] Arai, T., Takubo, K.: Clinicopathological and molecular characteristics of gastric and colorectal carcinomas in the elderly. *Pathol. Int.*, 2007, 57, 303–314.
- [8] Kitagawa, M., Utsuyama, M., Kurata, M. és mtsai: Cancer and aging: symposium of the 27th annual meeting of the Japanese society for biomedical gerontology, Tokyo. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2005, 54, 623–634.
- [9] Kirkwood, T. B. L.: Intrinsic ageing of gut epithelial stem cells. *Mech. Ageing Dev.*, 2004, 125, 911–915.
- [10] Levi, E., Misra, S., Du, J. és mtsai: Combination of aging and dimethylhydrazine treatment causes an increase in cancer-stem cell population of rat colonic crypt. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009, 385, 430–433.
- [11] Patel, B. B., Yu, Y., Du, J. és mtsai: Age-related increase in colorectal cancer stem cells in macroscopically normal mucosa of patients with adenomas: A risk factor for colon cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009, 378, 344–347.
- [12] Vigg, J., Busuttill, R. A., Babar, R. és mtsai: Aging and genome maintenance. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2005, 1055, 35–47.
- [13] Dollé, M. E., Snyder, W. K., Dunson, D. B. és mtsai: Mutational fingerprints of aging. *Nucleic Acids Res.*, 2002, 30, 545–549.
- [14] Vigg, J.: Impact of genome instability on transcription regulation of aging and senescence. *Mech. Ageing Dev.*, 2004, 125, 747–753.
- [15] Yuasa, Y.: DNA methylation in cancer and ageing. *Mech. Ageing Dev.*, 2002, 123, 1649–1654.
- [16] Szentirmay Z., Csuka O.: A vastagbélrák molekuláris patológiája. In: A vastagbélrák megelőzése és kezelése. Szerk.: Tulassay Zs. Springer Tudományos Kiadó, Budapest, 2004, 31–62.
- [17] Issa, J. P., Ottaviano, Y. L., Celano, P. és mtsai: Methylation of the oestrogen receptor CpG island links ageing and neoplasia in human colon. *Nat. Genet.*, 1994, 7, 536–540.
- [18] Issa, J. P., Ahuja, N., Toyota, M. és mtsai: Accelerated age-related CpG island methylation in ulcerative colitis. *Cancer Res.*, 2001, 61, 3573–3577.
- [19] Ahuja, N., Li, Q., Moban, A. L. és mtsai: Aging and DNA methylation in colorectal mucosa and cancer. *Cancer Res.*, 1998, 58, 5489–5494.
- [20] Arai, T., Esaki, Y., Sawabe, M. és mtsai: Hypermethylation of the hMLH1 promoter with absent hMLH1 expression in medullary-type poorly differentiated colorectal adenocarcinoma in the elderly. *Mod. Pathol.*, 2004, 17, 172–179.
- [21] Aubert, G., Lansdorp, P. M.: Telomeres and aging. *Physiol Rev.*, 2008, 88, 557–579.
- [22] Jiang, H., Ju, Z., Rudolph, K. L.: Telomere shortening and aging. *Z. Gerontol. Geriatr.*, 2007, 40, 314–324.
- [23] Wiemann, S. U., Satyanarayana, A., Tshuridu, M. és mtsai: Hepatocyte telomere shortening and senescence are general markers of human liver cirrhosis. *FASEB J.*, 2002, 16, 935–942.
- [24] Lee, H. M., Greeley, G. H. Jr., Englander, E. W.: Age-associated changes in gene expression patterns in the duodenum and colon of rats. *Mech. Ageing Dev.*, 2001, 122, 355–371.
- [25] Englander, E. W.: Gene expression changes reveal patterns of aging in the rat digestive tract. *Ageing Res. Rev.*, 2005, 4, 564–578.
- [26] Hallberg, L. M., Ikeno, Y., Englander, E. és mtsai: Effects of aging and caloric restriction on IGF-I, IGF-I receptor, IGFBP-3 and IGFBP-4 gene expression in the rat stomach and colon. *Regul. Pept.*, 2000, 89, 37–44.
- [27] Schmelz, E. M., Levi, E., Du, E. és mtsai: Age-related loss of EGF-receptor related protein (ERRP) in the aging colon is a potential risk factor for colon cancer. *Mech. Ageing Dev.*, 2004, 125, 917–922.

(Leiszter Katalin dr.,
Budapest, Szentkirályi u. 46., 1088
e-mail: leiszterkata@gmail.com)