

Artykuł na zaproszenie • Invited article**Biologia molekularna chorób nowotworowych
– oczekiwania, możliwości, granice**

Mieczysław Choraży

Molecular biology of cancer – expectations, possibilities, limitations

Niezwykłą intuicję naukową wykazali w przeszłości badacze procesu nowotworowego, formułując śmiało i aktualnie do dziś hipotezy, nakreślając ramy i obszary badań dla przyszłych pokoleń. Przykładem mogą być obserwacje komórek rakowych przez Boveri, z początku ubiegłego stulecia i sformułowana przez niego, aktualna do dziś, hipoteza, że rak powstaje w wyniku liczbowych i strukturalnych aberacji chromosomowych. W miarę rozwoju nowych metod badawczych, w miarę poznawania molekularnego poziomu organizacji i funkcji chromosomów, DNA i genów, wprowadzeniu do biologii informatyki i technik komputerowych dla obróbki i przechowywania danych, wraz z rozwojem szybkiej komunikacji elektronicznej, ułatwionego dostępu do zasobów bibliotecznych, hipoteza Boveri przybrała inny kształt, ale ciągle jest aktualny pogląd, że rak powstaje wskutek daleko posuniętej dezorganizacji aparatu informacyjnego komórki. Ciągle jednak jeszcze badacze spierają się, czy pierwotnym zjawiskiem w nowotworzeniu jest dyskretna mutacja, czy głębsze uszkodzenia chromosomalne. Terminy te obejmuje się ogólnym terminem „niestabilność genetyczna”, ma ona być istotnym pierwotnym impulsem dla inicjacji raka i znamieniem procesu nowotworowego. W dużej mierze zostały poznane molekularne podłoża niestabilności genetycznej.

Jaki jest rak?

Jesteśmy świadkami wielkich postępów w zakresie wiedzy o biologii raka w kilku ostatnich dziesięcioleciach: biochemia, chemia, biologia, modele zwierzęce i biologia molekularna przyczyniły się do szeregu nowych odkryć, rewizji poglądów i nagromadzenia ogromu faktów i informacji. Badania doświadczalne nad rakiem, zwłaszcza badania ostatnich kilku dekad, przy użyciu potężnych

technik biologii molekularnej, były motorem rozwoju nauki o życiu.

Wielkie nadzieje pokładano w rozwijających się nowych technikach badawczych w obszarze genetyki, odkryciu i poznaniu struktury DNA, poznaniu struktury i funkcji genów, technik inżynierii genetycznej (manipulacji materiałem genetycznym), poznaniu mechanizmów ekspresji genów. Wiele odkryć pozwoliło na sformułowanie poglądu, że rak rozwija się wskutek gromadzenia uszkodzeń DNA w komórkach somatycznych, co prowadzi do nadmiernego rozplemu komórek, zaburzenia mechanizmów homeostazy komórkowej, utraty specjalizacji, nabycia nowych cech i ekspansji klonalnej komórek najbardziej przystosowanych do mikrootoczenia.

Obecnie przyjmuje się, że zmiany w genotypie komórek nowotworowych prowadzą generalnie do kilku zmian w funkcjach komórki, które, występując w różnych konstelacjach, na ogół nieuporządkowanych w czasie, narzucają komórce niekontrolowany wzrost i złośliwy charakter. Podłożem molekularnym tych zjawisk jest mutacja dużych, kluczowych dla funkcji komórki grup genów i następne nabycie lub utrata określonych funkcji, a dalej nieprawidłowa funkcja komórki i powstanie nowego fenotypu. Zmianami, które narzucają komórce somatycznej złośliwy charakter wzrostu są: 1) uniezależnienie się komórki od sygnałów wzrostowych, 2) utrata wrażliwości na sygnały hamujące wzrost, 3) unikanie programowanej śmierci (apoptozy), 4) wyzwolenie nieograniczonego i niekontrolowanego potencjału replikacyjnego, 5) indukcja i podtrzymywanie angiogenezy, 6) destrukcja, naciekanie i inwazja tkanek, naczyń krwionośnych i limfatycznych i przerzutowanie. Dodać tu należy jeszcze mało poznany na poziomie molekularnym proces odróżnicowania, który jest zapewne nieodzownym warunkiem podjęcia na nowo przez komórkę cyklu komórkowego i zdolności do proliferacji. Że proces odróżnicowania komórki może mieć miejsce, pouczają nas doświadczenia z klonowaniem zwierząt, gdy jądro wysoko zróżnicowanej komórki, wprowadzone do środowiska cytoplazmy komórki jajowej, przechodzi proces „odprogramowania”, nabywa cechy totipotencjalne i wchodzi w cykl komórkowy. Mechanizmy odróżnicowania są słabo poznane na poziomie molekular-

nym (jak zresztą również proces różnicowania). Mało są również poznane procesy molekularne starzenia – zjawiska fizjologicznego, w czasie którego pojawia się, częściej niż w innych okresach życia, transformacja nowotworowa.

Na każdą z tych zmian składa się kompleksowa „gra” genów, białek i innych makromolekuł, czynników drobnocząsteczkowych, jonów, itp. Zidentyfikowanie ponad 100 kluczowych genów typu onc i genów supresorowych, biorących udział w zapoczątkowaniu i promowaniu tych zmian. Poznano ich wzajemne współdziałanie, częściowo poznano sieci i szlaki, w których geny i ich białkowe produkty operują. Na każdym ze zjazdów naukowych przedstawiane są zawiłe schematy, według których wzajemnie oddziałują geny i ich białkowe produkty, dając końcowy efekt fenotypowy (np. utrata regulacji w punktach kontrolnych cyklu komórkowego, utrata zdolności do apoptozy, nabycie cech inwazyjności). Był to ważny etap na drodze poznawania raka. Ale stale jeszcze jesteśmy daleko od poznania istoty procesu rakowacenia.

Próby usystematyzowania w czasie zmian genetycznych w procesie indukcji i progresji rozwoju raka dały nikłe rezultaty. W taki zorganizowany, w osi czasu, sposób rozwija się zapewne tylko nikła część nowotworów. Zapoczątkowanie procesu najpewniej zaczynać się może w obszarze różnych szlaków enzymatycznych i w obrębie różnych funkcji komórki, które w ostatecznym wyniku prowadzą do transformacji nowotworowej. Nie wiemy, czy najpierw zachodzi zahamowanie apoptozy czy pobudzenie proliferacji?, odróżnicowanie czy pobudzenie mitozy?, czy na tle pobudzonej lokalnie angiogenezy (w prawidłowej tkance) następuje podwyższony rozplęm rozplęm komórek, czy dopiero zrakowaciałe komórki wytwarzają nowe naczynia krwionośne? Dotychczas nie wiemy napewno, czy zawsze mutacja jest pierwszym krokiem, czy zdarzeniem późniejszym. A może na początku drogi do rakowacenia pojawiają się zaburzenia epigenetyczne?

Do dziś trwa spór, czy pierwotnym zdarzeniem jest mutacja, czy aberracja chromosomalna? – jeśli tak, to może np. zaburzenia mechanizmów i mechaniki mitozy (białka wrzecionka, centriole?) lub nieprzewidywalna „choreografia” chromosomów w jądrze interfazowym prowadzi do aberracji liczbowych chromosomów lub ich złamań, translokacji, delecji itd.? Czy genotyp warunkujący przerzutowanie pojawia się w okresie progresji nowotworu, czy może istnieje już od na etapie inicjacji?

Znamy chemię setek ksenobiotyków i chemicznych czynników rakotwórczych, znamy ich metabolizm w różnych komórkach ustroju, znamy przynajmniej część enzymów biorących udział w ich transporcie, aktywacji i detoksyfikacji. Znamy z grubsza uszkodzenia genów (mutacje), występujące pod wpływem endo- i egzogennych czynników uszkadzających DNA i mechanizmy naprawy tych uszkodzeń (choć jest to wiedza głównie na poziomie DNA, a nie chromatyny). Wiemy, jakie rodzaje mutacji są charakterystyczne dla różnych czynników mutagennych i jakie dominują w różnych typach nowotworów i jakie mogą być skutki takich mutacji dla funkcji komórki. Ale

czy wszystkie hipotezy z tego obszaru zbliżają nas do prawdy o istocie raka?

Genotyp – fenotyp

Nasze współczesne myślenie jest wyraźnie skierowane na ekspresję i regulację genów z cichym założeniem, że jeden gen to jedno białko i jedna funkcja. Jest to dogmat zupełnie nieprawdziwy.

Liczba rodzajów białek (warunkujących fenotyp!) w komórce eukariotycznej różnych gatunków wielokrotnie przewyższa liczbę genów. Liczba genów człowieka szacuje się w granicach 50 – 70 – 80 tysięcy, przypuszczalnie nie przekracza 100 000. Natomiast rodzajów białek jest ponad 300 000, a niektórzy badacze sądzą, że może 2-3 razy więcej! Zatem na bazie informacji zawartej w jednym genie może powstać w ostatecznym wyniku kilka różnych, finalnych produktów białkowych. Nie mamy pełnej wiedzy, jaką rolę dla różnorodności białek ma dobieranie różnych motywów mRNA w procesie obróbki pre-mRNA, składanie i „*editing*” (ostateczne redagowanie informacji) mRNA, jak dokładnie przebiega kodowanie z obu pasm DNA. Niedawno odkryte właściwości enzymatyczne RNA i DNA i ich rola w procesie transkrypcji i syntezy białka wnoszą następny element, komplikujący nasz uproszczony obraz tych procesów w komórce. Dopiero od niedawna zbiera się wiedza o roli drobnych, niekodujących cząsteczek RNA (ncRNA) w transkrypcji, wyciszaniu genów, replikacji, obróbce RNA, stabilności oraz translokacji RNA i białek na terenie komórki. Sam proces regulacji transkrypcji jest ciągle jeszcze niedostatecznie poznany. Nie znamy wielu czynników regulujących transkrypcję (szacuje się, że jedynie białkowych czynników transkrypcyjnych jest w komórce eukariotycznej około 2000!). Na bogactwo rodzajów białek wpływa oczywiście modyfikacja cząsteczki białkowej po translacji (np. fosforylacja, acetylacja, glikozylacja). Mówimy o rodzajach białek, a przecież każde z nich może przybierać różną, dynamiczną konformację przestrzenną, w zależności od mikrośrodowiska. Tak więc wielka liczba czynników i warunków w mikrośrodowisku komórki kształtuje cały bogaty „proteom” i ostateczny funkcjonalny i strukturalny fenotyp komórki.

Od niedawna wiemy, że poszczególne chromosomy w interfazie nie mieszają się bezładnie, lecz zajmują określone terytoria na terenie jądra komórkowego. Ma to oczywiście określone konsekwencje dla takich zjawisk, jak rekombinacja i translokacja chromosomów oraz topologia przebiegu różnych reakcji. Wynika to z prostego faktu, że zajmowanie przez określony locus (np. gen) ściśłego terytorium w jądrze musi doprowadzić do wytworzenia gradientu stężeń produktów tego locus w jądrze i następne konsekwencje tego zjawiska, jak np. transport makrocząsteczek. A może zarówno określony locus chromosomu, jak i jego bezpośredni produkt białkowy, uprawiają swego rodzaju „choreografię”, stwarzając swoistą, dynamiczną strukturę, zajmującą określony obszar komórki? Może zatem różne funkcje przebiegają w okre-

ślonych przedziałach komórki, mimo że nie ma osobnych struktur ograniczających takie obszary?

Złożoność fenotypu

Współczesne badania w biologii biegną według wyraźnie genocentrycznej filozofii! A tymczasem... Tymczasem mamy białka – makromolekuły kształtujące fenotyp, a wiedza o ich różnorodności, strukturze, funkcji i choreografii tych makromolekułów w komórce jest w początkowych stadiach rozwoju. Ten obszar nauki jest trudny teoretycznie, wymagający głębokiej wiedzy o międzyatomowych oddziaływaniach i siłach wpływających na przestrzenne kształtowanie łańcucha peptydowego, obszar jest kosztowny w zakresie izolowania, oczyszczania i fizycznej charakterystyki cząsteczek białkowych, a cała logistyka strategii badań w obszarze białek jest wielkim wyzwaniem dla nauki, nawet w najbardziej przygotowanych do takich badań ośrodkach Ameryki. Dopiero niedawno ukazały się pierwsze prace nad interakcją fizyczną cząsteczek białkowych między sobą u drożdży. Odkryto potencjalne sieci połączeń i oddziaływań między cząsteczkami białka, z czego wyłania się zarys podstawowych reguł obowiązujących w sieci, oraz określających topologię i stabilność sieci.

Komponenty białkowe takich sieci są wciągnięte w regulację genetyczną syntezy białek i same podlegają kontroli przez sieć regulacji genetycznej komórki oraz dynamicznym przemianom i obrotowi (ubikwitynacja, rozpad białek). Wzajemnie powiązane i wzajemnie zależne dynamiczne systemy spełniają różne funkcje i co jest zdumiewające – wykazują wielką stabilność na szkodliwe wpływy i perturbacje. Jest to istotna cecha homeostazy i, być może, warunek kształtujący procesy adaptacji (?).

Wokół poszczególnych centrów niektórych białek tworzą się systemy i moduły. Na przykładach skonstruowanych sieci białkowych widać, że „węzłowe” cząsteczki białkowe, mające motywy (sekwencje aminokwasów), wykazują dużą zdolność do oddziaływań z innymi cząsteczkami białkowymi, a między sobą (tzn. między białkami „węzłowymi”), wykazują raczej niską zdolność do połączeń. Przypuszczalnie, dzięki właśnie takiej małej zdolności do oddziaływań poszczególnych centrów „węzłowych” między sobą, może być uwarunkowana i podwyższona kompartmentalizacja i swoistość topologiczna całego systemu. Nasuwa się tu myśl, czy białka, stanowiące „węzły” takiej sieci, nie będą stanowiły docelowych makrocząsteczek dla przyszłego ataku leczniczego (np. w chemioterapii raka?). Dopiero od niedawna rozwija się nauka o molekularnej mechanice; nie wiemy, czy zagadnienia adhezji, poruszania się komórek, kurczliwość białek i ich przemieszczanie się po strukturach podporowych (np. szkielecie cytoplazmatycznym), molekularne „silniki” i „pompy” nie wkroczą również do nauki o raku.

Z faktów tych wyłania się nam ponadgenomowy dynamiczny i niezwykle złożony system, warunkujący ostateczny, ale zapewne tylko częściowy fenotyp komórki. Częściowy, gdyż w organizmach wielokomórkowych musimy jeszcze brać pod uwagę oddziaływania międzyko-

mórkowe i ogólnoustrojowe procesy, np. homeostazę, odczyny odpornościowe, plejotropowe oddziaływania cytokin i hormonów itd. Samoorganizujące się sieci białkowe są elementem składowym molekularnych sieci i dynamicznych systemów żywej komórki. Sieci takie regulują różne szlaki dla np. fosforylacji i regulacji allosterycznej białek, szlaki metaboliczne, szlaki sygnałne regulujące działanie hormonów itp. Większość chorób u ludzi, w tym choroby nowotworowe, są złożonymi procesami, w których zmiany w genach są niezbędne, ale mają one tylko częściowy w tych procesach udział. Na drodze między genotypem a fenotypem istnieje wiele poziomów kontroli. Istotą każdego z takich poziomów jest samoorganizująca się sieć białek, których struktura, dynamika i reguły nimi rządzące są słabo poznane. Może najlepiej poznanym przykładem takiego poziomu kontrolnego jest szlak metaboliczny glikolizy i mitochondrialny szlak redox. Kontrola procesu chorobowego (fenotyp) może obejmować jeden określony system kontrolny (np. odpowiedź na sygnał hormonalny) albo, i zapewne częściej, może obejmować więcej systemów i poziomów kontrolnych.

Konformacja cząsteczki białkowej jest tym ostatecznym stanem, który warunkuje fenotyp. Zatem efekt końcowy (np. aktywność enzymatyczna) zależy będzie od sposobu sfałdowania się cząsteczki białkowej, trwałości jego przestrzennej struktury, modulacji poprzez oddziaływanie z innymi białkami, jonami metali i drobnymi cząsteczkami, ale ten obszar jest jeszcze słabo poznany.

Aby zrozumieć biologię na poziomie systemów (co będzie wymagało intelektualnego „przestawienia” się i nowego spojrzenia na funkcje komórki), musimy prowadzić badania nad strukturą i funkcją komórek i organizmu, a nie badać cechy izolowanych części składowych komórki i organizmu.

„Gorączka białkowa”

Badania nad względnie stabilną cząsteczką DNA, genomem, genami, ekspresją genów i już nieco bardziej labilnymi cząsteczkami RNA wydają się dziecinnie proste, w porównaniu z tym, co niesie nam „proteomika”. Termin „proteomika” został ukuty dla określenia nauki o strukturze i funkcji białek. Wielka różnorodność białek, co do ich masy cząsteczkowej, chemicznej modyfikacji potranslacyjnej i właściwości chemicznych, stwarzają olbrzymie trudności techniczne. Nie ma jednej prostej metody lub techniki, którą można używać dla wszystkich białek. Różnie zmodyfikowanych białek nie można izolować z mieszaniny przy użyciu jednej metody. Podstawowe technologie, stosowane w badaniu białek, sprowadzają się do rozdziału mieszaniny białek, izolowania ich np. metodą dwuwymiarowej elektroforezy (pod względem ładunku i masy), ekstrakcji poszczególnych białek z żelu, cięcia na fragmenty, ustalenia sekwencji aminokwasów, pomiaru masy na spektrometrze masowym, ustalenia struktury krystalicznej przy pomocy dyfrakcji promieniami X. Daleko posunięta robotyzacja ułatwia niektóre z tych etapów, tak że trwające poprzednio miesiącami procedury skraca się do godzin.

Badania białek rozwijają się w dramatycznie szalonym tempie, a aura towarzysząca przypomina wyścigi ludzi ogarniętych „gorączką złota” na dzikim zachodzie Ameryki.

W proteomice zainteresowany jest w pierwszym rzędzie świat biznesu. Porównanie składu białek z dwóch różnych tkanek, np. prawidłowego utkania płuc i raka płuc, dać może nowe typy markerów białkowych. Białka stanowią docelowe cząsteczki dla chemioterapii nowotworów i nie tylko. Szacuje się, że dotychczas znamy około 500 leków działających na określone białko. Przypuszcza się, że w najbliższym czasie takich docelowych cząsteczek białkowych, kluczowych dla terapii chemicznej, będzie 10 może 20 tysięcy.

Dla szybkiej diagnostyki chorób proponuje się korzystać z techniki „macierzy białkowych” (*protein chips*) analogicznych do „macierzy DNA”. Jedynie w Stanach Zjednoczonych Ameryki działa już kilkanaście firm produkujących „macierze białkowe”. Za każdym z tych zastosowań przemysł farmaceutyczny i aparaturowy węszyć wielki interes, za każdym nęci sława, uznania i nagrody. Gorączkowo zabezpiecza się złotodajne pole patentami, gwałtowną rozbudową zakładów badawczych, zawieraniem konsorcjów itd. Za trzy lata, jedynie w Stanach Zjednoczonych Ameryki rynek „macierzy białkowych” szacuje się na 500 milionów dolarów, a niektórzy szacują go 10 razy wyżej! Szwajcarska grupa prywatna GeneProt zorganizowała „fabryczną” analizę białek, z myślą o identyfikacji białek kluczowych dla określonych chorób (m.in. rak), z czego oczekuje wielkich profitów (patenty, leki, testy diagnostyczne). GenProt szczyty się już wielkim kapitałem i rozbudowuje swoje imperium w USA i Japonii. GenProt wyposażony jest w 51 spektrometrów masowych, każdy w cenie ponad 150 000 dolarów. Dla przeobrażenia niezliczonej ilości danych zawarto umowę na konstrukcję superkomputera o 1400 procesorach, zdolnego wykonać 2 tryliony operacji na sekundę! Zawarto już także umowę (jedynie 85 mln dolarów) z firmą farmaceutyczną Novartis, umowę pod przyszłe leki, celowane na białka zidentyfikowane przez Szwajcarów. W najbliższym czasie rozgorzeje bezpardonowa walka między posiadaczami „patentów na geny” (tylko dwie firmy amerykańskie posiadają takich patentów 25 tysięcy), a właścicielami „patentów na białka”.

Gdzie podział się etos pracy badawczej? Gdzie gubią się miliony chorych w tym jarmarku?

Białka sprawią jeszcze wiele niespodzianek

Napływają też nowe, łamiące obecne dogmaty, informacje: niezależna od genów synteza peptydów, a może i białek (?), synteza białek na matrycy białek (?), niezwykła plastyczność białek, odmienna funkcja kontrolna białek w ekspresji genów, zależna od stężenia.

Zdumiewającym odkryciem w ostatnich latach była plastyczność cząsteczek białkowych. Jako przykład może służyć białko P53. Gen *p53* jest zmutowany w wielu typach nowotworów. W warunkach doświadczalnych reintrodukcja dzikiego genu *p53* do komórek o genotypie

p53-/- przywracała prawidłowy fenotyp i tłumiła tumorigenność. Mutacje w białku P53 powodują zmiany konformacyjne cząsteczki i następują redukcję stabilności domeny wiążącej DNA. Przeszukano biblioteki około 100 000 związków syntetycznych i ich analogów, z których 300 przetestowano, co do zdolności stabilizowania formy dzikiej P53. Odkryto takie związki, które istotnie mają właściwość stabilizowania funkcjonalnych domen w zmutowanej cząsteczce P53. Takie związki jednocześnie wykazują zdolność hamowania wzrostu guzów ze zmutowanym genem *p53*. Zatem upraszczając, można powiedzieć, że pewne związki drobnocząsteczkowe mają zdolność przywracania prawidłowych funkcji zmutowanej cząsteczki białkowej. Oddziaływanie białek z małymi cząsteczkami i między sobą to nowy wielki obszar badań. W tym obszarze wyłania się też ciekawa funkcja białek „opiekuńczych” typu tzw. białek szoku cieplnego (HSP). Niektóre białka HSP mają zdolność chronienia i stabilizowania „dzikiej” konformacji białek, kodowanych przez zmutowany gen. Taką właściwość obserwowano dla białka HSP90 w stosunku do wspomnianego wyżej białka supresorowego P53.

Na przykładzie białka P53, tak wszechstronnie badanego pod kątem swojej ochronnej funkcji nad integralnością genomu, a za tym i protekcyjnej roli w powstawaniu raka, widać, jak bardzo mogą się zmieniać nasze poglądy w miarę gromadzenia wiedzy o funkcji tej cząsteczki. Okazuje się, że P53 może mieć dualistyczną funkcję fizjologiczną: pobudzona aktywność genu *p53* może w pewnych warunkach mieć niszczące działanie na układ homeostazy organizmu i przyspieszać proces starzenia.

Gromadzą się także przykłady wskazujące, że aktywność regulatorowa białek może zależeć od ich stężenia w układzie: w skrajnych przypadkach dwa różne stężenia mogą mieć działanie dodatnie lub ujemne.

Oczywiście studia genomu (jak teraz mówi się „genomika”) mogą dać jeszcze wiele bezcennych informacji dla biologii, a onkologii w szczególności: określenie grup ryzyka przez genotypowanie i badanie polimorficznych genów, wciągniętych w metabolizm i detoksyfikację ksenobiotyków, polimorfizm pojedynczych nukleotydów i związek z chorobowym fenotypem. Spostrzeżono, że genom posiada raczej zorganizowaną architekturę sekwencji nukleotydowych, a nie chaotyczną, przypadkową budowę. U różnych ludzi tysiące nukleotydów DNA i wariacje pojedynczych nukleotydów układają się w pewnym charakterystycznym porządku. Sekwencje istnieją w blokach (haplotypy, czyli szczególne kombinacje sekwencji) w określonym miejscu (locus) na chromosomie. Genomy różnych ludzi, mniej więcej co kilkaset nukleotydów różnią się jednym nukleotydem. Takie polimorficzne miejsca, zwane SNP (*single nucleotide polymorphism*), mają określony wzór. Poznanie (genotypowanie) i konstrukcja map haplotypowych (*HapMap*) może mieć pewną wartość również dla poznania biologii raka (np. związek ze zdolnością komórek rakowych do przerzutowania).

Profile ekspresji genów w różnych formach raka (klasyfikacja molekularna) mają pewną przydatność dla celów diagnostycznych i chemioterapii, a także dla prognozowania. Z dotychczasowych badań widać jednak, jak niezwy-

kle bogaty i różnorodny jest obraz ekspresji genów tego samego typu, określonego dla nowotworów tego samego narządu u różnych ludzi. Tego zjawiska nie da się w pełni wytłumaczyć złożoną budową histologiczną guza, ani różnorodnością komórek będących w różnych fazach cyklu komórkowego. Poznawanie indywidualnych profili genetycznych (genotypowanie), warunkujących międzyosobnicze różnice w metabolizowaniu (fenotyp) leków, pozwoli zrozumieć zjawisko oporności lub wrażliwości na leki. Ale, posługując się tym podejściem badawczym, musimy pamiętać, że między ekspresją genu, mierzoną ilością mRNA, a końcowym produktem (produktami) białkowym, jest jeszcze długa droga.

Czy potrzebne są badania podstawowe w onkologii?

Jednym z głównych tematów tego zjazdu, jak zapowiedział komunikat, jest kwestia: czy potrzebne są badania podstawowe w onkologii? Chciałoby się zapytać w tym miejscu tak, jak w dialogu zapytywał Dziewoński: Przepraszam, a kto mówi? Kto ma wątpliwości? Może bardziej trafne na zjeździe onkologicznym byłoby pytanie: Jakie badania podstawowe są potrzebne w onkologii? Jak bardzo byłby ubogi kliniczny ogląd raka bez pogłębionej wiedzy lekarza o biologicznych podstawach procesu nowotworowego, bez wiedzy o genach, o białkach, bez znajomości podstaw mutacji, bez wiedzy o procesach naprawczych DNA, mechanizmach przerzutowania, angiogenezy, onkogenach, receptorach hormonalnych.

Trudne, wręcz niemożliwe, byłoby budowanie spójnej opieki onkologicznej i formowanie polityki zdrowotnej bez rozumienia problematyki nowotworów dziedzicznych, bez szacowania grup podwyższonego ryzyka na podstawie badań molekularnych i molekularnej epidemiologii, bez rozpoznania czynników rakotwórczych w diecie i otoczeniu człowieka, bez możliwości szacowania dawki ekspozycji, bez identyfikacji i poznania chemii tysięcy ksenobiotyków, ich metabolizmu i mechanizmu działania itd.

Biologia molekularna otwiera nowe możliwości w prewencji raka. Będą rozwijały się modele i badania w obszarze genomiki i proteomiki, zmierzające do oceny indywidualnego ryzyka i szacowania (na poziomie molekularnym) spodziewanej odpowiedzi organizmu. Poznanie zmienności genetycznie uwarunkowanych dróg metabolicznych, włączonych w przemiany i detoksyfikację ksenobiotyków (np. badania polimorficznych genów i aktywności ich końcowych produktów), pozwoli na określenie indywidualnego ryzyka i być może następnie pozwoli opracować testy przesiewowe dla dużych populacji. Podobne badania nad metabolizmem czynników chemioprewencyjnych stworzą podstawy do czynnej chemioprewencji, a farmakogenetyka i poznawanie przemian leków umożliwi racjonalną, zindywidualizowaną chemioterapię raka. Ta, jeszcze w Polsce nieznaną dziedziną, najszybciej wkroczy do kliniki nowotworów, jako zasadnicza pomoc w chemioterapii.

Terapia lekowa nowotworów byłaby bardzo prymitywna bez nauk chemicznych, bez wiedzy o molekularnych mechanizmach działania leku, punktach „zaczepu”,

bez wiedzy z zakresu toksykologii, a zwłaszcza farmakogenetyki. Na bazie znajomości molekularnych zjawisk, zwłaszcza dzięki poznaniu systemu sieci białek w komórce będzie możliwa konstrukcja nowych leków. Przykłady użytecznych syntez to choćby: Herceptin działający na receptor HER2 w leczeniu raka piersi lub Gleevec, inhibitor tyrozyno-swoistej kinazy Bcr/Abl, zastosowany z wielkim sukcesem w leczeniu mięsaków przewodu pokarmowego.

Powstaje wiele kluczowych problemów dla onkologii praktycznej (terapia), które może rozwiązać tylko i jedynie badacz przy stole laboratoryjnym. To w pracowniach naukowych powstają podstawy do badań nad radiowrażliwością i opornością na radioterapię, to w laboratoriach fizyków i warsztatach inżynierskich budowane są podstawy fizyczne dla rozwoju aparatury diagnostycznej i leczniczej. W perspektywie (choć na razie jest to świat fantazji) jest konstrukcja sztucznych genów, które, wprowadzone do komórki rakowej, będą kodować nowe, nienaturalne białka dla sterowania funkcjami komórki lub sterować komórkę rakową do samobójstwa. Badania z zakresu „terapii genowej”, prowadzone obecnie, utrudniają drogę do wprowadzania genów zaprogramowanych w laboratorium. Już teraz na podstawie wzoru ekspresji genów można wyróżniać molekularne, swoiste podklasy nowotworów, racjonalnie dobierać program chemioterapii i prognozować. Z pewnością możliwe będzie w większym niż dotychczas zakresie modulowanie odpowiedzi immunologicznej, zarówno humoralnej, jak i komórkowej (komórki dendrytyczne, komórki macierzyste?).

Jest nadzieja, że wkrótce poznamy nowe markery białkowe. Dla określonego typu raka, określonej fazy wzrostu, jego inwazyjności i potencjału proliferacyjnego, w miarę rozwoju proteomiki, będą odkrywane nowe, swoiste markery, których znaczenie dla onkologii jest oczywiste. Ale musi być przestrzegana subtelna granica między użytecznością takich odkryć dla chorego, a manipulacją nimi i nadużyciami dla celów komercyjnych.

Klinika onkologiczna bez głębokiej wiedzy medycznej i pogłębionej znajomości biologii byłaby bardzo ułomna.

Granice

Instytut przeciwrakowy nie może być tylko wysokospecjalistycznym szpitalem. Natura chorób nowotworowych wymaga spójnego działania i integracji badań podstawowych i klinicznych, ale w moim przekonaniu idea tzw. „*translational research*” jest elementem spłycającym istotę procesu naukowego. Naukowiec, pracujący nad rakiem, nie czyni tego jako sztuki dla sztuki, ani pracy takiej nie traktuje jako swego życiowego (i kosztownego) hobby; w każdym badaczu doświadczalnym nad rakiem tkwi zawsze przekonanie i nadzieja, że jego dociekania, uwieńczone czasem (choć zwykle rzadko) odkryciem, przyczynią się do precyzyjniejszej diagnozy, wypracują modele prewencji, rozwiną nowe metody postępowania leczniczego itp., a zatem będą miały charakter aplikacyjny, użyteczny w praktyce. Wszelkie działania „na zamówienie”, „na

skrótów”, zmierzające do przeskakiwania naturalnej kolei procesów poznawczych, nie wróżą powodzenia.

Nadzieja, że wyposażenie w kosztowną aparaturę ludzi, nie mających ani zacięcia naukowego, ani naukowego przygotowania i wieloletniego stażu w laboratorium badawczym, przyniesie autentyczny sukces poznawczy, jest nieporozumieniem. Fascynacja aparaturą i nowymi technikami, nie powinna przesłaniać nam przekonania, że najcenniejszym aparatem jest mózg badacza. Takie działanie może być drogą do produkowania publikacji wyrafinowanym narzędziem badawczym, ale ani to narzędzie ani fakt posiadania go nie przynosi rzeczywistego postępu, a publikacja sama w sobie nie powinna być celem naukowca.

Zadaniem naukowca nie jest publikowanie, lecz odkrywanie i poznawanie natury tego, co jeszcze nie zostało odkryte i poznane. Przy takich założeniach ma sens idea „wszechstronnego ośrodka onkologicznego badawczego” czy „badawczo-rozwojowego”. Ośrodek onkologiczny bez działu badawczego jest zwykłym (mniej lub bardziej dobrze i sprawnie działającym szpitalem). Oczywiście nie jest to w żadnej mierze ocena pejoratywna: dobre szpitale są potrzebne. Tylko w takim przypadku nie można takiej instytucji medycznej nazywać „instytutem”. (Nawiasem mówiąc terminy takie jak: „instytut”, „klinika”, „centrum”, a nawet „medycyna” zostały w Polsce zdewaluowane do granic absurdu, w wyniku nieudacnych przepisów o działalności usługowo-handlowej, wprowadzając sporo zamętu w odbiorze społecznym). Wróćmy do podstaw działania instytutu onkologicznego. Idealną strategią działania powinno być stałe współdziałanie między pracownią badacza a łóżkiem chorego. Ale musi to być działanie oparte na głębokiej wiedzy i lekarza i badacza. Działanie oparte o głębokie i rozciągnięte na dłuższy horyzonty czasowe a nie płytkie i doraźne, kolegialne, a nie indywidualne, wynikające z pasji twórczej, a nie dla zaspokojenia ambicji. Plany „badawcze” rodzące się może i z dobrych chęci (polepszenie jakości usługi medycznej dla chorego na raka), ale oparte na płytkiej wiedzy biomedycznej, na hasłowej znajomości przedmiotu, są ślepy m zaułkiem. W tym miejscu warto zauważyć, że w procesie takiego współdziałania nieodzowne są i niezbędne pewne fizyczne, podstawowe warunki i ułatwienia: bez banku tkanek, dostępu do biblioteki i informacji naukowej, bez genetycznie pewnych (także genetycznie modyfikowanych) zwierząt doświadczalnych, bez podstawowego wyposażenia laboratoryjnego, taka współpraca po prostu jest niemożliwa. Nie może być mowy o współpracy, gdy nie będzie nawet wspólnych (klinika/laboratorium doświadczalne) zebrań naukowych. Gdzie mają się rodzić projekty wspólnych działań?

Osobną sprawą jest nauczanie onkologii, zwłaszcza onkologii nowoczesnej, obejmującej zagadnienia z genetyki, biochemii i biologii raka, choć i onkologii klinicznej pewnie też nie uczy się zbyt intensywnie. Myślę, że w Polsce bardzo niewiele programów akademii medycznych dostosowanych jest do współczesnych wymogów i ogólnie przyjętych wzorców nauczania onkologii. Wyjątek stanowią Akademia Medyczne w Gdańsku, Łodzi i Poznaniu,

gdzie nauczaniu poświęca się nieco więcej uwagi. A Warszawa, Gliwice, Kraków?

Chcę zwrócić uwagę, że mimo wielkich trudności, m.in. finansowych, nasi koledzy-badacze odnoszą duże sukcesy, wyrazem czego są między innymi zaproszenia do kooperacji w międzynarodowych programach badawczych. Cóż z tego, że mamy intelektualne możliwości wznosić się, gdy okoliczności sprawiają, że raczej ślizgamy się w dół, prosto w topiel współczesnych systemów gospodarczych i labirynty ludzkich ułomności? U nas jeszcze stale hołduje się przebrzmiałej zasadzie: „*Publish or perish*”. Ta zasada spłyca naukę. Nowy wynik, nowa odrobina wiedzy jest warta więcej niż dziesięć przyczynków lub potwierdzeń znanego już spostrzeżenia lub faktu. W naszym systemie wartości od liczby publikacji zależą kariery badaczy, stąd slogan ten wpływa na formowanie trendów w badaniach, preferencję tematów badawczych i promowanie łatwizny. Skomplikowane algorytmy, wartościujące i szacujące osiągnięcia badawcze, są poddawane manipulacjom i są dalekie od narzędzi obiektywnie oceniających badacza. Ocenę w sposób znacznie prostszy może zrobić doświadczony i uczciwy członek społeczności naukowej.

Nauka nie ma granic. Granice poznania w systemach organizmów złożonych (wielokomórkowych) w miarę poznawania rozszerzają się i wydaje się, że temu procesowi nie będzie końca. Ograniczenia w procesie poznania narzucają działania administracji i finanse. Spojrzenie na badanie w sposób dyletancki i instrumentalne traktowanie nauki, może dawać chwilowe profity, ale takie „sukcesy” po pewnym czasie pryskają jak bańka mydlana. Naukę można tylko zbudować wieloletnim trudem, zbierając niepodważalne fakty. Przestrzeganie etycznych wartości jest nieodzownym elementem badań.

Wielka odpowiedzialność ciąży na nas wszystkich, którzy pracujemy nad zwalczaniem raka, na jakimkolwiek miejscu i pozycji życie nas uplasowało. I lekarzy, i tych, którzy są oddani pracy laboratoryjnej i starają się zgłębić naturę raka. Odpowiedzialność, ale także i przywilej, że bierzemy w tej walce udział. Ta odpowiedzialność nakłada na nas obowiązek współpracy, poszanowania wzajemnych poglądów, przyznawania się do porażek. Wielka niewiadoma, co to jest rak w swej istocie i stale jeszcze duża bezradność w zwalczaniu tej choroby powinny być czynnikiem inspirującym i stymulującym do badań. Myślę, że spośród różnych dziedzin medycyny onkologia jest tą dziedziną, która nie zezwala na niewłaściwe czyny, nie znosi pychy, nie toleruje hałaśliwej reklamy i arogancji. Raczej stale uczy nas pokory.

Prof. dr hab. med. Mieczysław Chorąży
Centrum Onkologii – Instytut
im. Marii Skłodowskiej-Curie
Wyb. Armii Krajowej 15
44-100 Gliwice
e.mail: chorazy@io.gliwice.pl