



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **5-ASA - colorectal cancer - cell death : an intriguing threesome**

Koelink, P.J.

### **Citation**

Koelink, P. J. (2010, January 14). *5-ASA - colorectal cancer - cell death : an intriguing threesome*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/14563>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/14563>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

# Chapter 10

Nederlandse samenvatting voor niet- ingewijden

## **Inleiding**

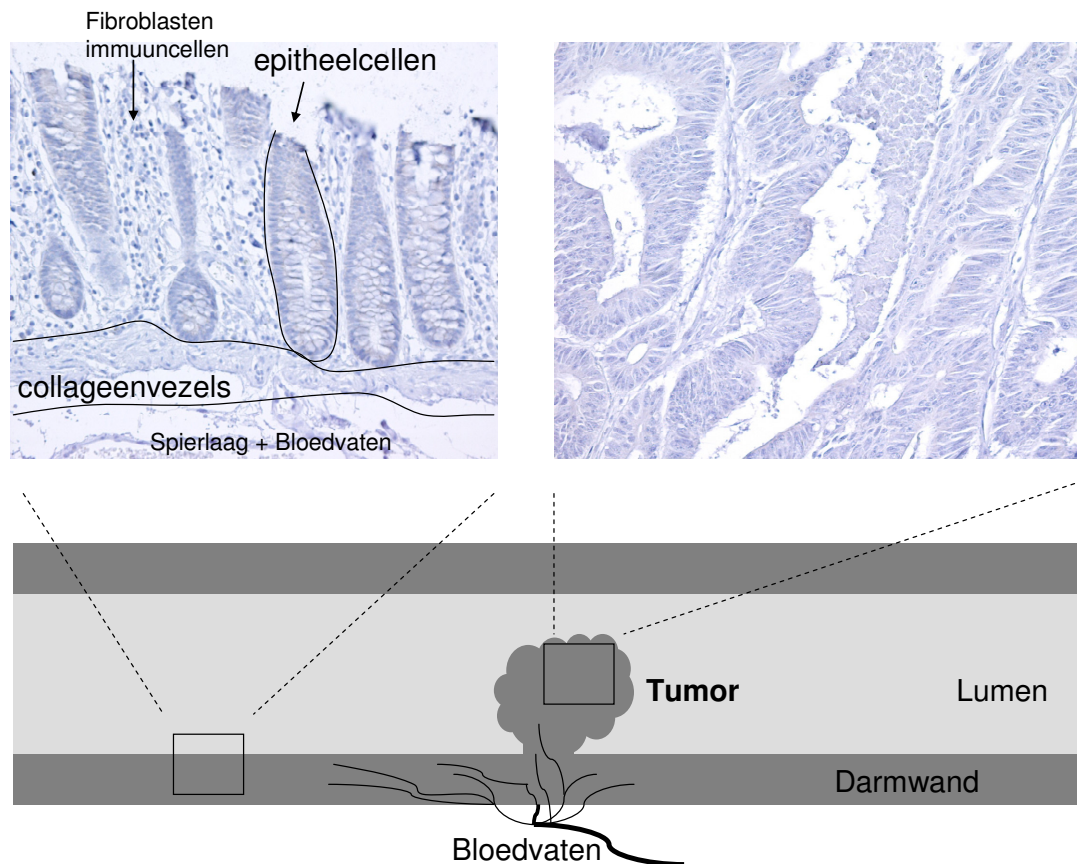
Dikke darmkanker (colorectaal carcinoom, CRC) is een ziekte die veel voorkomt en ook veel slachtoffers maakt in de Westerse wereld. De behandeling van dikke darmkanker is de laatste decennia verbeterd, maar omdat deze nog steeds niet optimaal is wordt er veel aandacht besteed aan het voorkomen van het ontstaan (preventie) van dikke darmkanker. Veel colorectale carcinomen ontstaan uit een goedaardige poliep (adenoom). Deze kunnen goed opgespoord worden met behulp van een zogenaamde colonoscopie, waarbij met een kleine camera in de darm wordt gekeken. Omdat niet altijd duidelijk is waar het om gaat wordt er in het algemeen over dikke darmtumoren gesproken. Normaal wordt na de diagnose het stuk darm waar de tumor inzit operatief verwijderd.

Mensen met chronisch inflammatoir darmlijden (Inflammatory Bowel Disease, IBD) hebben een verhoogd risico op het ontwikkelen van dikke darmkanker. Mesalazine (5-Aminosalicylic acid, 5-ASA), een veelgebruikte medicatie bij de behandeling van deze darmontstekingsziekten, lijkt een beschermend effect te hebben op het ontwikkelen van dikke darmkanker in deze patiënten. Het is echter heel moeilijk om dit prospectief (vóór dat de patiënten dikke darmkanker hebben) en placebo-gecontroleerd (je vergelijkt de behandelingsgroep met een groep die placebo medicatie heeft ontvangen) te onderzoeken, omdat je heel veel patiënten nodig hebt (duizenden) en heel lang (>10 jaar) zou moeten behandelen. Verder is het ook, vanuit een ethisch oogpunt, niet wenselijk om zieke mensen met placebo te behandelen. In dit proefschrift staat een muizenstudie beschreven waarin onderzocht is of 5-ASA medicatie een beschermend effect heeft op het ontstaan van CRC (preventie). Verder is in studies bekeken wat voor effecten 5-ASA medicatie heeft op darmkankercellen in kweek (*in vitro*) en in patiënten (*in vivo*) met dikke darmkanker (behandeling).

## **Dikke darmkanker**

In weefsels vind er belangrijke communicatie tussen verschillende celtypen plaats. In de darm bevinden de epitheelcellen zich in direct contact met “de buitenwereld”, bijvoorbeeld voedsel(resten), zie *Figuur 1*, net als in de huid. Deze epitheelcellen vormen zogenaamde crypten, waarin aan de onderkant een continue aanmaak van nieuwe cellen is en er bovenaan continu cellen doodgaan. Onder deze epitheellaag bevindt zich een ondersteuningslaag van (myo)fibroblasten en collageenvezels. Verder zijn er nog immuuncellen, die zorgen voor bescherming tegen mogelijke schadelijke indringers (bijvoorbeeld bacteriën), en bloedvaten met endotheelcellen. De balans (homeostase) tussen

deze celtypen en de communicatie ertussen is ernstig ontregeld in dikke darmkanker (zie *Figuur 1*).



*Figuur 1: Verschillen tussen de normale darm en tumor.*

Onderaan is een darm weergegeven met daarin een tumor. Een microscopisch plaatje van het normale darmweefsel (linksboven) laat een opbouw zien met epitheelcellen in zogenaamde crypten, ondersteund door cellen zoals fibroblasten en collageenvezels. In de tumor (rechtsboven) is deze structuur duidelijk ontregeld, er zijn geen crypten meer.

### **Celdood in dikke darmkanker**

Het doen afsterven van de kankercellen is het doel van een behandeling van kanker. Dit was daarom een belangrijke uitleesparameter van de studies waarin kankercellen *in vitro* en *in vivo* behandeld werden met 5-ASA medicatie (hoofdstuk 4 en 6). In de gezonde darm (en andere weefsels) is er een balans tussen de aanmaak van nieuwe cellen door celdeling (proliferatie) en het afsterven van oude cellen. Deze balans is ernstig ontregeld in kanker, er treedt meer proliferatie op dan celdood wat leidt tot woekergroei. Omdat de mate van ontregeldheid tussen het afsterven en de celdeling van kankercellen een belangrijke factor kan zijn voor de patiënt hebben we bepaald of de mate van afsterven van kankercellen een goede of slechte factor is voor de patiënt (hoofdstuk 2). Normaal gesproken wordt in cellen

na een bepaalde tijd celdood geïnduceerd, om homeostase te behouden. Ook in cellen waarin een foutje is opgetreden wordt celdood geïnduceerd. Dit proces wordt actieve/geprogrammeerde celdood of apoptose genoemd. Bij dit proces wordt een hele cascade van enzymen geactiveerd die verantwoordelijk zijn voor het afbreken van eiwitten in de cel (proteasen). Een belangrijk protease tijdens apoptose is caspase-3. Door de activiteit van dit enzym te bepalen kunnen we de mate van apoptose achterhalen in een stukje weefsel. In hoofdstuk 2 hebben we deze caspase-3 activiteit bepaald in stukjes dikke darmtumor, die tijdens een operatie bij dikke darmkanker patiënten verwijderd zijn. Uit deze studie is gebleken dat bij patiënten die een tumor hadden waarbij er weinig tumorcellen in apoptose waren de kans op het terugkomen van de ziekte of het overlijden van de patiënt veel groter (25 %) was dan bij patiënten waarvan in de verwijderde tumor veel tumorcellen in apoptose waren. Er bleek zelfs dat in patiënten met tumoren waarbij er vooral in de niet-epitheliale cellen geen apoptose optrad het risico op terugkomen van de ziekte of overlijden van de patiënt met 66 % was gestegen. Dit laat zien dat deze niet-epitheliale cellen/ondersteuningscellen erg belangrijk zijn, iets dat uit andere recente onderzoeken ook steeds duidelijker wordt. Het bepalen van de mate van apoptose in het weefsel van de darmtumor na een operatie zou dus gebruikt kunnen worden om patiënten te selecteren waarbij de kans op het terugkomen van de ziekte of overlijden groter is dan bij de andere patiënten. Hierdoor kan het behandelingschema opgezet/aangepast worden, waarbij de patiënten met het grootste risico het sterkst behandeld worden, terwijl er in patiënten waar er minder risico is de behandeling misschien iets milder kan worden ingezet, om alle vervelende bijeffecten van de vaak agressieve behandeling te voorkomen.

### **Tumorcel afbraakproducten in de circulatie van dikke darmkanker patiënten**

De apoptose van tumorcellen kan er ook voor zorgen dat er stukjes tumorcel/eiwitten in de circulatie (bloed) van de patiënt komen. Dit zou eventueel gebruikt kunnen worden voor de diagnose van dikke darmkanker en zou ook gebruikt kunnen worden om therapie te vervolgen. In hoofdstuk 3 staat een studie beschreven waarbij we een door caspase-3 gegenereerd tumorcel-afbraakproduct, M30 genoemd, hebben gemeten in het bloed van dikke darmkanker patiënten. Uit deze studie bleek dat een grote hoeveelheid van dit afbraakproduct in de circulatie van de patiënt een slecht verloop voorspelde: een grotere kans op terugkomst van de ziekte of overlijden. Dit zou dan ook weer gebruikt kunnen worden om de verdere behandeling van patiënten te selecteren.

### **5-ASA induceert apoptose in darmkankercellen *in vitro* en *in vivo***

In de studie beschreven in hoofdstuk 4 hebben we verschillende typen darmkanker cellijnen *in vitro* behandeld met 5-ASA medicatie. We hebben daarbij vastgesteld dat 5-ASA de proliferatie (en dus de groei) van de darmkankercellen remt. We hebben geprobeerd te bepalen via welk mechanisme 5-ASA de proliferatie van de darmkankercellen remt. Dit hebben we niet helemaal op kunnen helderen, wel hebben we gezien dat als we de kankercellen steeds weer opnieuw behandelen met 5-ASA medicatie ze uiteindelijk doodgaan (o.a. via apoptose) doordat bij celdeling de verdeling van de chromosomen (erfelijk materiaal/DNA) over de dochtercellen niet goed gebeurt. In plaats van een nette verdeling over 2 cellen gaat dit vaak mis waardoor de chromosomen over bijvoorbeeld 3 cellen verdeeld worden of helemaal niet. Om de resultaten te vertalen naar de patiënt hebben we gekeken of vergelijkbare resultaten behaald konden worden in darmkanker cellen *in vivo*. Inderdaad blijkt dat 5-ASA behandeling ook apoptose te induceren in darmkankercellen in de patiënt (hoofdstuk 5).

### **Andere anti-kanker effecten van 5-ASA**

De Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )-route speelt een belangrijke rol in de communicatie tussen de verschillende celtypen (als aangegeven in figuur 1) in de darm. De ene cel maakt TGF- $\beta$  (het signaal) wat bindt aan eiwitten in de membraan (receptoren) van een andere cel. Deze cel reageert door bijvoorbeeld te delen of een bepaald eiwit te maken. In dikke darmtumoren wordt vaak veel TGF- $\beta$  gemeten en de kankercellen zijn vaak extra gevoelig voor TGF- $\beta$ . Daarom wordt gedacht dat het remmen van de TGF- $\beta$ -route in kankercellen een goede methode zou kunnen zijn om de ontregelde communicatie in de tumor stop te leggen. Om te kijken wat voor effecten 5-ASA medicatie heeft op de TGF- $\beta$  route in kankercellen hebben we weer darmkankercellen in kweek gebruikt. Deze cellen hebben we behandeld met TGF- $\beta$  en we hebben de reactie van deze cellen gemeten. Als we gelijktijdig 5-ASA toevoegden bleek dat dit medicijn de reactie van de kankercel op TGF- $\beta$  kon remmen (hoofdstuk 6). Helaas hebben we geen remming van de TGF- $\beta$ -route in de darmkankercellen *in vivo* kunnen vaststellen, omdat dit technisch niet goed mogelijk was in de tumorweefsels afkomstig van de patiënten.

### **5-ASA preventie in muismodellen voor darmkanker**

De studies beschreven op voorgaande bladzijden van dit hoofdstuk waren allemaal gericht op het vaststellen van de effecten van 5-ASA medicatie op darmkankercellen, dit met

het oog op eventuele toekomstige behandeling van dikke darmkanker patiënten met dit medicijn. We hebben ook studies verricht om te kijken of 5-ASA preventief gebruikt kan worden, dus voordat er darmkanker is. Hiervoor hebben we studies met genetisch gemodificeerde muizen gedaan, zoals beschreven in hoofdstuk 7. Deze muizen ontwikkelen meerdere dikke darmtumoren doordat ze een mutatie hebben in het Adenomatous Polyposis Coli (*APC*)-gen. Dagelijkse behandeling van deze muizen, vanaf 5 weken oud (wanneer ze nog geen darmtumoren ontwikkeld hebben), gedurende 3 weken met 5-ASA klysma's, bleek geen invloed te hebben op het ontstaan van darmtumoren. De groep muizen behandeld met 5-ASA klysma's ontwikkelden namelijk evenveel darmtumoren als de groep muizen behandeld met placebo-klysma's.

De data van humane studies laten echter zien dat 5-ASA een effect heeft op het ontstaan van darmontstekings-geïnduceerde darmkanker, terwijl de gebruikte muizen door een genetische mutatie een erfelijke vorm van darmkanker ontwikkelen. In de muizen hebben we daarom met behulp van dextraan sodium sulfaat (DSS) darmontstekingen geïnduceerd om dit proces te proberen na te bootsen. Het DSS werd in het drinkwater van de muizen opgelost waardoor de dieren darmontstekingen kregen die vergelijkbaar zijn met de darmontstekingen in mensen met IBD. Door deze ontstekingen ontwikkelden de muizen ongeveer 6 keer zoveel darmtumoren. De 5-ASA behandeling tijdens en na de darmontstekingsperiode bleek nu wel een beschermend effect te hebben op het ontstaan van darmtumoren: er ontstonden ongeveer de helft van het aantal tumoren in de 5-ASA groep. Dit ging bovendien gepaard met een remming van de proliferatie van de tumorcellen.

### **5-ASA als dikke darmkanker behandeling?**

Gebaseerd op de bewijzen dat 5-ASA medicatie in staat is om tumorcel dood in darmtumoren *in vitro* en *in vivo* te induceren en er bovendien een remmend effect werd gevonden op de kanker-progresssieve TGF- $\beta$  route, zou men kunnen redeneren dat 5-ASA mogelijk als anti- darmkanker medicijn ingezet zou kunnen worden. Een belangrijk aspect zou zijn of de 5-ASA behandeling zou interfereren met bestaande behandeling(en) waarvan de anti-kanker effecten al ruimschoots bewezen zijn en die ook al in de kliniek toegepast worden, bijvoorbeeld bestralingstherapie. Daarom hebben we de effecten van 5-ASA medicatie op bestraling van kankercellen *in vitro* vastgesteld (hoofdstuk 8). De bevindingen van deze studie laten zien dat 5-ASA als een bestralingsbeschermer optreedt en darmkankercellen beschermt tegen bestraling. Dit geeft aan dat 5-ASA medicatie niet tijdens of vlak voor de bestraling gegeven kan worden omdat het dan met deze therapeutische

behandeling interfereert, en dus negatief is voor de patiënt. Als we de kankercellen na 5-ASA behandeling 24 uur laten rusten en dan bestralen treden er geen beschermende effecten op van de voortijdige 5-ASA behandeling. Dit geeft aan dat 5-ASA weldegelijk een toekomstige anti-darmkanker medicatie zou kunnen zijn, maar dat het niet in combinatie met bestralingstherapie gegeven moet worden, of dat het tijdsbestek waarin de 5-ASA behandeling gegeven wordt verkort moet worden tot tenminste 24 uur voor bestraling.

### **Conclusies**

De muizenstudies laten zien dat 5-ASA behandeling weldegelijk preventief werkt tegen ontstekings-geïnduceerde dikke darmkanker, dit bevestigt de data uit humane studies. De diverse studies naar de effecten van 5-ASA op darmkankercellen in kweek of in de patiënt illustreren de anti-kanker effecten van deze medicatie. Daarom moet er zeker gedacht worden om 5-ASA medicatie te implementeren in een toekomstig behandelingschema voor dikke darmkanker. Bovendien heeft de mate van celdood van tumorcellen en de hoeveelheid afbraakproducten in de circulatie een voorspellende rol in het klinisch ziekteverloop van de patiënt. Het bepalen van deze parameter(s) zou daarom als een relevant selectie criterium voor behandeling (en voor het monitoren van de behandeling) in de kliniek kunnen gelden.



