

Oxidativt stress kan være en mulig årsag til metastasering hos patienter med kolorektal cancer

Edith Smed Søndergaard & Ismail Gögenur

Kolorektal cancer er blandt de hyppigste cancerformer i verden [1]. 33% af patienterne med nydiagnosticeret kolorektal cancer i Danmark har stadium II-cancer [2], hvor tumoren er vokset gennem tarmvæggen, men uden påviste lymfeknude- eller fjernmetastaser [3]. Det nuværende behandlingsregime på dette stadie er kirurgi eventuelt efterfulgt af kemoterapi. Efter afsluttet behandling af stadie II-cancer vil 25-30% af patienterne få recidiv inden for fem år [4], ofte med metastaser til lever og/eller lunger [5].

Nyere forskning tyder på, at oxidativt stress via frie radikaler stimulerer cancerceller til spredning [4]. Derved kan der være en sammenhæng mellem immunologiske og stressudløste reaktioner i forbindelse med kirurgi, udvikling af oxidativt stress og dannelse af mikrometastaser i forbindelse med eller kort efter den kirurgiske behandling med fjernelse af tumoren. Der er tidligere dokumenteret en sammenhæng mellem perioperativ immunreduktion og langtidsmortalitet efter kirurgisk resektion af kolorektal cancer [6].

Vores primære kirurgiske behandling og den heraf afledte morbiditet er måske en af grundene til den høje risiko for recidiv i en ellers radikalt behandlet sygdom. Formålet med denne artikel er at sætte fokus på sammenhængen mellem perioperativ udviklet oxidativt stress og risikoen for udvikling af metastaser ved kolorektal cancer.

DISKUSSION

Oxidativt stress

Oxidativt stress skyldes overskud af frie radikaler i forhold til mængden af beskyttende antioxidanter. Frie radikaler dannes i alle celler som en del af metabolismen, men normalt opstår der reduktion af de frie radikaler, hvorved den oxidative belastning aftager. Antioxidanter som C-vitamin, E-vitamin, melatonin og betacaroten eller enzymer med antioxidativ effekt såsom superoxiddismutase (SOD), katalase og glutathionperoxidase er medvirkende til reduktionen. Frie radikaler omtales ofte som *reactive oxygen species* (ROS) på grund af deres evne til at påvirke cellens DNA, hvilket medfører celledød. ROS opstår ud over ved de ovennævnte naturlige processer også ved stråling [7], iskæmiereperfusion [8] og kirurgi [9]. Et

inflammatorisk respons opstår med aktivering af immunforsvaret, og sekundært hertil eller sideløbende opstår der et oxidativt stressrespons [10].

I flere eksperimentelle studier har man påvist, at cancerceller også selv kan danne ROS. Den intracellulære ROS-dannelse i cancercellerne sker efter aktivering af reduceret nikotinamidadeninucleotid-fosfatoxidase, også kaldet NOX-enzym, som findes i stort antal på nonfagocytotiske cellers cellemembran [11] (**Figur 1**). NOX-enzymet aktiveres bl.a. af proinflammatoriske cytokiner, f.eks. tumornekrosefaktor- α , interleukin (IL)-6 og IL-1 β samt vækstfaktorerne *vascular endothelial growth factor* (VEGF) og *transforming growth factor*- β [11]. Efter aktiveringen stimuleres flavinadeninucleotid via SOD til deoxygenering af O_2 til O_2^- ved afgivelse af en elektron, og et yderst potent ROS-molekyle er dannet. På grund af den øgede NOX-kapacitet er cancerceller særligt disponeret til at udvikle oxidativt stress.

Oxidativt stress og udvikling af metastaser

NOX-deriveret ROS stimulerer cancercellers evne til invasion i omgivende væv. Det øgede ROS-niveau potentielt nedbryder den ekstracellulære matrix. Ved aktivering af aktinrige cellulære strukturer (invadopodia) ødelægges celle-celle-adhæsion og cancercellernes evne til migration stimuleres, hvorved der opstår mulighed for invasion af det omkringliggende væv. I eksperimentelle studier har man påvist, at dannelsen af invadopodia kan bremses i coloncancer celler ved at blokere NOX-1-enzymet [12]. Normalt er celler afhængige af kontakt gennem integriner med ekstracellulær matrix for at kunne ernæres og vokse. Ved øget ROS-niveau intracellulært ændres behovet for intercellulær kontakt, og cancercellerne bliver i stand til at vokse og invadere uden begrænsning fra det omkringliggende væv [11].

Næste skridt i udviklingen af metastaser er celleadhæsion. Denne proces sker ved både lokal og perifer spredning og potentielt ved et højt niveau af ROS, som danner intercellulære huller, hvortil cancercellerne bindes [13]. Den ROS-medierede dannelse af intercellulære huller er i dyreforsøg påvist at kunne stoppes ved tilførsel af antioxidanter i form af SOD og katalase [9, 14]. Samtidig stimulerer ROS fri-

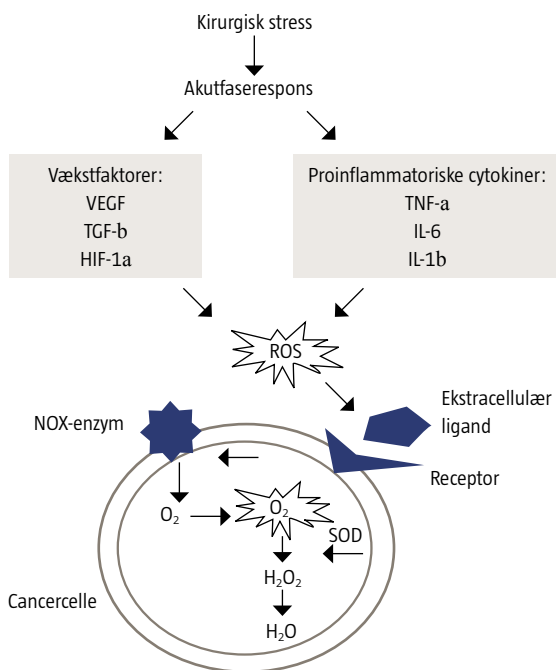
STATUSARTIKEL

Kirurgisk
Gastroenterologisk
Afdeling,
Herlev Hospital

Ugeskr Læger
2014;176:V09130561

 FIGUR 1

Den intracellulære *reactive oxygen species* (ROS)-dannelse i cancercellerne sker efter aktivering af reduceret nikotinamadeninindinukleotidfosfatoxidase (NOX)-enzymet. Efter aktivering deoxygeneres O_2 til O_2^- ved afgivelse af en elektron, og et yderst potent ROS-molekyle er dannet. På grund af den øgede NOX-kapacitet er cancerceller særligt disponeret til at udvikle oxidativt stress.



HIF = *hypoxia-inducible factor*
 IL = interleukin
 SOD = superoxiddismutase
 TGF = *transforming growth factor*
 TNF = tumornekrosefaktor
 VEGF = *vascular endothelial growth factor*

sætningen af adhænsionsmolekyler som e-selektin og intercellulære og vaskulære celleadhænsionsmolekyler (ICAM-1 og VCAM-1), hvilket øger adhæsionen af cancerceller til de intercellulære huller. Ydermere stimulerer VCAM-1 til ROS-dannelse via stimulation af NOX-enzymet [15]. Cellemigration, som foregår i forbindelse med celleadhæsionen, stimuleres af proteaser såsom metalloproteinaser. Det høje niveau af ROS intracellulært i cancercellerne medfører en øget proteaseaktivitet med øget tendens til adhæsion mellem cellerne [15]. Derudover opstår der en extravasation af lymfocytter som følge af en aktivering af det primære immunrespons efter registrering af ukendte cancerceller. Det medfører ødem og inflammation samt yderligere frisætning af cytokiner. Således har ROS ved stimulering af de vanlige molekylære signalveje en betydelig rolle i cancercellernes evne til at migrere og adhærere til nye væv [16].

Efter celleadhæsion opstår angiogenese som følge af iltmangel i det nydannede cancervæv. Denne proces er essentiel for tumorens overlevelse og kræver aktivering af VEGF, som stimuleres af proinflammatoriske cytokiner såsom IL-6 og IL-1β [16]. ROS stimulerer fosforyleringen af VEGF-receptorer, hvilket øger receptorfølsomheden og dermed aktiveringen af angiogenesen [17], men også *hypoxia-inducible factor* (HIF)-1, som øger dannelsen af VEGF. Ved at blokere ROS med melatonin, et naturligt antioxidant, har man i eksperimentielle studier påvist en nedsat HIF-1-aktivering i coloncancer celler og dermed en hæmmet tumorvækst [18].

Efter etableringen af nye tumorer fortsætter den øgede cellevækst på grund af det opregulerede antal NOX-receptorer med øget ROS-produktion, og samtidig vil ROS ved DNA-påvirkning ændre tendensen til apoptose, således at cellevæksten potentielt yderligere [11].

Resultaterne af studierne [9, 12-18] tyder på, at ROS i mange stadier af cancermetastaseringen er et vigtigt signalmolekyle, som både direkte og indirekte stimulerer cancercellens evne til migration, adhæsion og tumorvækst.

Kirurgi og oxidativt stress

Kirurgi stimulerer ROS-dannelsen, idet der allerede kort tid efter den initiale incision iværksættes et inflammatorisk og immunologisk respons med frigivelse af både monocytter, leukocytter og makrofager. Disse frigiver alle cytokiner og interleukiner, som blandt andet via tumornekrosefaktor-alfa stimulerer NOX-enzymet på cancercellerne til dannelse af frie radikaler [10, 16, 19].

Man har i flere studier [20-22] påvist, at det kirurgiske stress kan stimulere væksten af tumorer i dyreforsøg. Ved at give sympatikusblokerende medicin (propranolol) kunne akutfaseresponsen under og lige efter kirurgi stoppes, og den målte parameter (VEGF) og dermed angiogenesen i tumoren kunne bremses. Forsøget [20] blev foretaget på i alt 30 mus, som efter en peritonealinjektion med cancerceller gennemgik henholdsvis kirurgi eller generel anæstesi uden kirurgisk intervention. Indgrebene var forudgået af syv dages behandling med subkutan givet propranolol.

Typen af kirurgi er betydende for graden af oxidativt stress og metastaserisiko. I dyreforsøg har man fundet en øget cancercellefrisætning [21], en øget cancercellevækst med nedsat apoptotisk aktivitet [22] og stimulering af angiogenesen [23] efter åben kirurgi sammenlignet med laparoskopisk teknik. Det laparoskopiske traume med en mindre incision, mindsket frisætning af cytokiner og proinflammatoriske molekyler samt begrænset berøring af

primærtumoren og frisætning af cancerceller allerede på operationstidspunktet kan forklare den påviste forskel.

I enkelte humanstudier har man påvist, at der kan være større risiko for udvikling af metastaser ved åben kirurgi end ved laparoskopisk kirurgi. I et stort, randomiseret, kontrolleret studie [24] undersøgte man det immunologiske respons hos patienter med nydiagnosticeret, ikkemetastaseret coloncancer ved henholdsvis åben og laparoskopisk kirurgi. Man målte HLA-DR som et udtryk for immunreserven og graden af aktivering af det immunologiske respons efter kirurgien. Man fandt et signifikant højere niveau af HLA-DR hos patienterne, som blev opereret med laparoskopisk teknik, end hos patienterne, som blev opereret med åben kirurgi. Der blev brugt færre immunologiske resurser efter laparoskopisk kirurgi end efter åben kirurgi.

Ud over de nævnte faktorer er der også fundet en sammenhæng mellem henholdsvis åben og laparoskopisk cancerkirurgi og overlevelsesraten på længere sigt. I et spansk studie [25] blev 219 patienter med coloncancer randomiseret til enten laparoskopisk eller åben kirurgi. Den postoperative onkologiske behandling var ens i de to grupper, og den gennemsnitlige opfølgningstid var 95 måneder. Hos patienter med stadie III-coloncancer fandt man en signifikant øget sygdomsfri overlevelsestid i gruppen, som blev behandlet med laparoskopisk kirurgi, sammenlignet med gruppen, som blev behandlet med åben kirurgi. Resultatet forklares med et postoperativt bevaret immunrespons, som ikke har været overbelastet af et nær så stort inflammatorisk respons udløst af det kirurgiske traume, som det ses ved åben kirurgi. Samtidig er den manuelle påvirkning af tumoren mindsket, og komplikationsraten er nedsat ved laparoskopisk kirurgi [4]. Dog har man i andre randomiserede kontrollerede studier [26, 27] og en metaanalyse [28] ikke kunnet påvise, at der var forskelle i recidivrate eller overlevelse mellem patienter, der blev opereret laparoskopisk versus åbent for kolorektal cancer.

Det perioperative vindue og kemoterapi

På nuværende tidspunkt behandles patienter med stadie II-kolorektal cancer uden primære metastaser med kirurgi eventuelt efterfulgt af adjuverende kemoterapi. I flere studier har man sat spørgsmålstegn ved, om kemoterapi i stedet skal påbegyndes i relation til det kirurgiske indgreb eller kort tid efter. I en metaanalyse har man påvist en sammenhæng mellem tidsintervallet fra kirurgi til påbegyndelse af kemoterapi og overlevelsesraten. Den relative overlevelsesrate faldt med 14% for hver måned (fire uger), der

gik fra kirurgi til påbegyndelse af adjuverende kemoterapi, og efter 12 uger var overlevelsesraten kun på 48% [29].

Det perioperative vindue udnyttes allerede til kemoterapeutisk behandling i form af hypertermisk intraperitoneal kemoterapi (HIPEC). Behandlingen tilbydes patienter, der har dissemineret coloncancer med peritoneal spredning, og gives under operationen med forudgående tumorresektion og fjernelse af peritoneum [30]. I flere studier har man påvist en øget overlevelsestid hos patienter med stadie III- og IV-kolorektal cancer efter HIPEC-behandling [30]. En lignende behandling af patienter med potentielt kurativt stadie II-kolorektal cancer bør overvejes, da den største risiko for denne patientgruppe er udviklingen af recidiv. Man bør dog have in mente, at studier af HIPEC-behandling er behæftet med en vis selektionsbias i gruppen af patienter med stadium IV-cancer, da de svageste patienter ofte ikke ville kunne tåle operationen, og effekten af behandlingen på lige præcis deres cancer dermed er ukendt.

KONKLUSION

Denne statusartikel viser, at dannelsen af ROS har betydning for udviklingen af mikrometastaser, og at der er en sammenhæng mellem graden af oxidativ stress og øget risiko for udvikling af metastaser. ROS dannes i alle celler og især i cancerceller efter aktivering af den nyligt påviste NOX-receptor. ROS-dannelsen aktiveres af cytokiner, der er frigivet i forbindelse med det perioperative immunologiske respons, men også lokalt efter reperfusion efter en kort eller længere iskæmiperiode. ROS ødelægger både almindelige celler ved at forårsage DNA-skade med blandt andet nedsat apoptotisk aktivitet og stimulerer cancercellers evne til spredning og indvækst lokalt eller



FAKTABOKS

33% af patienterne med nydiagnosticeret kolorektal cancer har lokaliseret tumor uden spredning til lymfeknuder eller andre organer, dvs. stadium II.

Blandt patienterne med stadium II-sygdom vil 25-30% inden for fem år få recidiv af sygdommen.

Dannelse af frie radikaler sker i alle celler, og overskud af frie radikaler medfører oxidativ stress, som kan resultere i DNA-skade.

Cancercellerne producerer selv frie radikaler ved aktivering af NOX-zymer i cellen.

NOX-zymer stimuleres til produktion af frie radikaler af de cytokiner, som især er til stede i kroppen i forbindelse med kirurgi.

Det høje niveau af frie radikaler påvirker også cancercellernes evne til at sprede sig og danne metastaser ved at stimulere cellernes evne til migration, invasion, adhæsion og angiogenese.

fernt. Vi kan dog ikke forvente, at ROS alene er afgørende for udviklingen af metastaser. ROS skal formentlig betragtes som en medspiller i en større kaskade af reaktioner. I takt med at vi får nye bioteknologiske redskaber, ekspanderes vores viden om disse komplekse reaktioner

Dannelsen af ROS kan anskues fra flere sider.

Laparoskopisk teknik nedsætter det inflammatoriske akutfaserespons, sammenlignet med åben kirurgi, og dermed stimuleringen af ROS-dannelse. Man bør derfor overveje muligheden for at nedsætte det immunologiske respons perioperativt og relevansen af opstart af kemoterapi i det tidsinterval, hvor risikoen for mikrometastaser er stor.

KORRESPONDANCE: Edith Smed Søndergaard, Lysefjordsgade 1, 3. th., 2300 København S. E-mail: edith_00@hotmail.com

ANTAGET: 3. december 2013

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 10. marts 2014

INTERESSEKONFLIKTER: Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR

- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013;63:11-30.
- Ingeholm P, Yilmaz MK, Iversen LH et al. Landsdækkende database for kræft i tyktarm og endetarm. Årsrapport 2010. www.dccg.dk (1. okt 2013).
- Edge SB. *AJCC Cancer Staging Manual* 7th edition 2010. New York: Springer.
- O'Leary DP, Wang JH, Cotter TG et al. Less stress, more success? Oncological implications of surgery-induced oxidative stress. *Gut* 2013;62:461-70.
- Hess KR, Taylor SH, Wei W et al. Metastatic patterns in adenocarcinoma. *Cancer Res* 2006;106:1624-33.
- Kooby D, Stockman J, Ben-Porat L et al. Influence of transfusions on perioperative and long-term outcome in patients following hepatic resection for colorectal metastases. *Ann Surg* 2003;237:860-70.
- Schäue D, Kachikwu ELMW. Cytokines in radiobiological responses: a review. *Radiat Res* 2012;178:505-23.
- Kleikers PW, Winkler K, Hermans JJ et al. NADPH oxidases as a source of oxidative stress and molecular target in ischemia/reperfusion injury. *J Mol Med* 2012;90:1391-406.
- Gul N, Bogels M, Grewal S et al. Surgery-induced reactive oxygen species enhance colon carcinoma cell binding by disrupting the liver endothelial cell lining. *Gut* 2011;60:1076-86.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-74.
- Block K, Gorin Y. Aiding and abetting roles of NOX oxidases in cellular transformation. *Nat Rev Cancer* 2012;12:627-37.
- Gianni D, Taulat N, Zhang H et al. A novel and specific NADPH oxidase-1 (Nox1) small-molecule inhibitor blocks the formation of functional invadopodia in human colon cancer cells. *ACS Chem Biol* 2010;5:981-93.
- O'Leary DP, Bhatt L, Woolley JF et al. TLR-4 signalling accelerates colon cancer cell adhesion via NF-kappaB mediated transcriptional up-regulation of Nox-1. *PLoS One* 2012;7:e44176.
- Ten Kate M, van der Wal JBSW. The role of superoxide anions in the development of distant tumour recurrence. *BR J Cancer* 2006;95:1497-503.
- Deem T, Cook-Mills J. Vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) activation of endothelial cell matrix metalloproteinases: role of reactive oxygen species. *Blood* 2004;104:2385-93.
- Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell* 2012;21:309-22.
- Matsumoto TC-WL. VEGF receptor signal transduction. *Sci STKE* 2001;112:re21.
- Park S-Y, Jang W-J, Yi E-Y et al. Melatonin suppresses tumor angiogenesis by inhibiting HIF-1 α stabilization under hypoxia. *J Pineal Res* 2010;48:178-84.
- Baigrie RJ, Lamont PM, Kwiatkowski D et al. Systemic cytokine response after major surgery. *Br J Surg* 1992;79:757-60.
- Lee JW, Shahzad MM, Lin YG et al. Surgical stress promotes tumor growth in ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 2009;15:2695-702.
- Lee SW, Gleason N, Blanco I et al. Higher colon cancer tumor proliferative index and lower tumor cell death rate in mice undergoing laparotomy versus insufflation. *Surg Endosc* 2002;16:36-9.
- Bouvy ND, Marquet RL, Jeekel J et al. Laparoscopic surgery is associated with less tumour growth stimulation than conventional surgery: an experimental study. *Br J Surg* 1997;84:358-61.
- Pera M, Nelson H, Rajkumar SV et al. Influence of postoperative acute-phase response on angiogenesis and tumor growth: open vs. laparoscopic-assisted surgery in mice. *J Gastrointest Surg* 2003;7:783-90.

- Veenhof AA, Vlug MS, van der Pas MH et al. Surgical stress response and postoperative immune function after laparoscopy or open surgery with fast track or standard perioperative care: a randomized trial. *Ann Surg* 2012;255:216-21.
- Lacy AM, Delgado S, Castells A et al. The long-term results of a randomized clinical trial of laparoscopy-assisted versus open surgery for colon cancer. *Ann Surg* 2008;248:1-7.
- Hammer J, Basse L, Svendsen M et al. Impact of elective resection on plasma TIMP-1 levels in patients with colon cancer. *Colorectal Dis* 2005;8:168-72.
- Madsen MT, Kucukakin B, Lykkesfeldt J et al. Oxidative stress response after laparoscopic versus conventional sigmoid resection: a randomized, double-blind clinical trial. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2012;22:215-9.
- Liu C, Jungang L, Zhang S. Laparoscopic versus conventional open surgery for immune function in patients with colorectal cancer. *Int J Color Dis* 2011;26:1375-85.
- Biagi JJ, Raphael MJ, Mackillop WJ et al. Association between time to initiation of adjuvant chemotherapy and survival in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2011;305:2335-42.
- Iversen LH, Rasmussen PC, Hagemann-Madsen R et al. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy for peritoneal carcinomatosis: the Danish experience. *Colorectal Dis* 2013;15:365-72.



PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK
27. APRIL 2015

Cannabinoid hyperemesissyndrom som årsag til langvarig kvalme og opkastning hos cannabismisbrugere
Astrid Vinsand Naver & Klaus Theede

Patientinddragelse er endnu ikke fuldt implementeret i sundhedsvæsenet

Line Hjøllund Pedersen, Annette Wandel, Morten Freil et al

Der er utilstrækkelig evidens for effekten af low-FODMAP-diæt ved colon irritabile

Laura Rindom Krosgaard, Malene Lyngesen & Peter Bytzer

Endoskopisk ultralydvejledt rendezvous til intern drænage ved galdevejsobstruktion

Marie Høxbro Knudsen, Peter Vilmann, Hazem Hassan et al