

Patofiziologija tumorskog rasta

Zdenko Kovač

Zavod za patofiziologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta
u Zagrebu

Pregled

UDK 616-006.6

Prispjelo: 25. travnja 1996.

U radu su ukratko sabrane suvremene molekulske spoznaje o ključnim patogenetskim mehanizmima tumorskog rasta. U patogenetskom se smislu prije kliničke pojave tumora u stanicama pojavljuju različite molekulske promjene od kojih neke pridonose tumorskom preobražaju stanice. Molekulska je patogeneza tumorskog nastanka i rasta raščlanjena u četiri koraka. Nestabilnost genoma uzrokuje sklonost strukturnim i funkcijskim promjenama gena, koji mogu uzrokovati tumorski preobražaj stanice. Stečena ili/i naslijeđena nestabilnost genoma preduvjet je pokretanja diobotvornih nekontroliranih mehanizama, koji se postižu aktiviranjem protoonkogeno, disfunkcijom protuonkogeno, kočenjem apoptotskih mehanizama, ili kombinacijom više njih. Isto tako, neki virusni proteini mogu interferencijom s dioboupravnim molekulskim procesima uzrokovati tumorski preobražaj. Stanice koje su

stekle diobotvornu neovisnost prolaze treći korak preživljavanja u nepovoljnom okolišu, pri čemu moraju svladati genomsku, imunonadzornu i energijsku barijeru. Na tom se selektivnom koraku gubi velika masa novostvorenih stanica, što određuje relativno sporu kinetiku tumorskog rasta. U procesu metastaziranja (četvrti patogenetski korak) tumorske stanice izražavaju proteolitičke enzime, posebne grupe kemotaktičkih i prisjednih receptora, te inhibitore enzima, što im omogućava naseljavanje drugih tkiva. U pojedinim se tumorima susreću paralelni patogenetski mehanizmi, koji su posljedica dugotrajnog selektivnog probira na pojedinim biološkim barijerama u organizmu. U radu su raspravljani molekulske aspekte hereditarnosti tumora, kao i patogenetske razlike između malignih i benignih tumora.

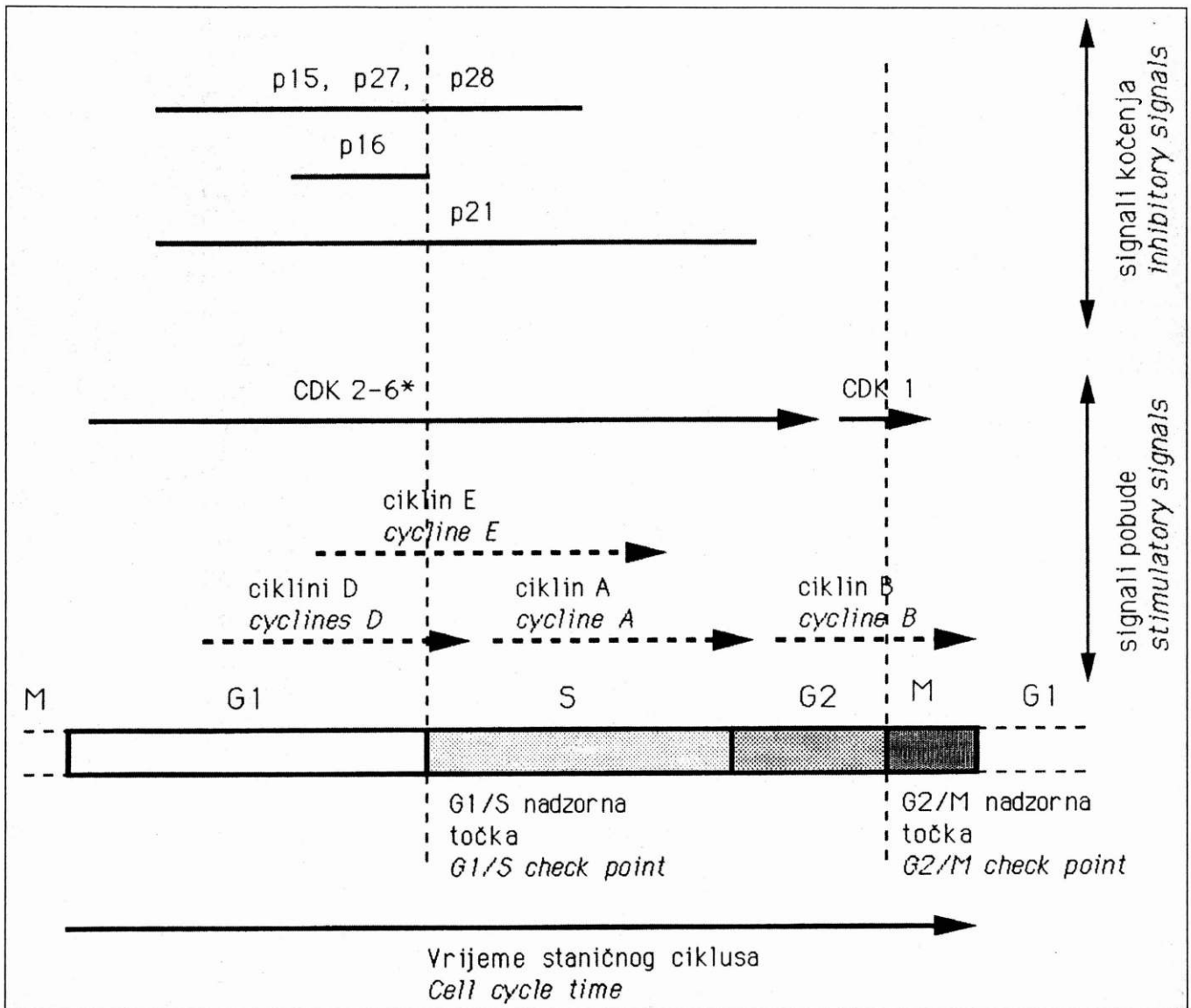
Ključne riječi: Patofiziologija, tumorski rast

MOLEKULSKE OSNOVE POREMEĆAJA STABILNOSTI GENOMA SOMATSKIH STANICA

Fiziološka genomsko stabilnost i usklađen izražaj genoma u somatskim stanicama osigurava tkivnu i staničnu homeostazu i genski kontinuitet višestaničnog organizma. Dioba somatskih stanica, tkivna diferencijacija i funkcija, te smrt stanica, upravljani su informacijskim međurazmjenama susjednih ili/i udaljenih stanica. Tkivna se masena ravnoteža održava u skladu s funkcijskim zahtjevima organizma. Stanični genski izražaj određuju signal i pobude autostimulatornim, parastimulatornim i jukstastimulatornim mehanizmima, a isto tako stanice primaju signale kočenja. Trenutni se zbir pobuda i kočenja integrira i određuje fiziološko ponašanje stanice i izražaj dijelova genoma. Na molekulskoj se razini signali pobude u stanicama i očituju lučenjem molekula, pokretanjem staničnog ciklusa u smislu diobe, promjenom izražaja dijelova genoma, te pokretanjem programirane smrti stanica. Funkcijska i strukturna se homeostaza fizioloških tkiva odražava selektivnim prilagodbama, koje se očituju na tkivnoj, staničnoj te molekulskoj razini (5, 81). Međurazmjena signala se ostvaruje proteinsko-proteinskim međudjelovanjima (16, 81), fosforilacijama proteina (7),

proteinsko-DNA-interakcijama (5, 8), lipidnim signalima (20, 62), lipidacijom proteina (12) te ionskim prijenosom signala (10, 15). Signali u citoplazmi se stječu na nekim križnim točkama različitih putova, koje time postaju integracijske točke na kojima se zbrajaju negativni i pozitivni signali.

Stanični diobeni ciklus somatskih stanica vođen je posebnom skupinom molekula, čiji se izražaj i promjene nalaze u neprestanoj dinamičkoj interakciji s množinom citoplazmatskih molekulskih signala. Ciklini i kinaze ovisne o ciklinima (engl Cyclin Dependent Kinase, CDK) su važne skupine dioboupravnih bjelančevina, čiji se izražaj i trenutna koncentracija upravlja umnažanjem DNA i diobom stanice (36, 75, 89). Te diobotvorne molekule djeluju poput staničnog satnog mehanizma, koji u povoljnom odnosu jedinica osigurava pokretanje, transkripciju DNA i proliferaciju. U slici 1. shematski je prikazano vrijeme regulacijskih utjecaja pojedinih CDK i pripadnih ciklina. Fizičkim vezivanjem ciklina i CDK molekulske sklop stječe enzimsku aktivnost, a disocijacijom sklopa CDK postaje inaktivna (21, 82). Isto tako, inhibitorne molekule CDK-ciklinskog sklopa, autofosforilacija te dinamika sinteze i razgradnje ciklina i CDK, putem ubikvitinacije i proteasomske degradacije, određuju aktivnost tih dioboupravnih sklopova



SLIKA 1.

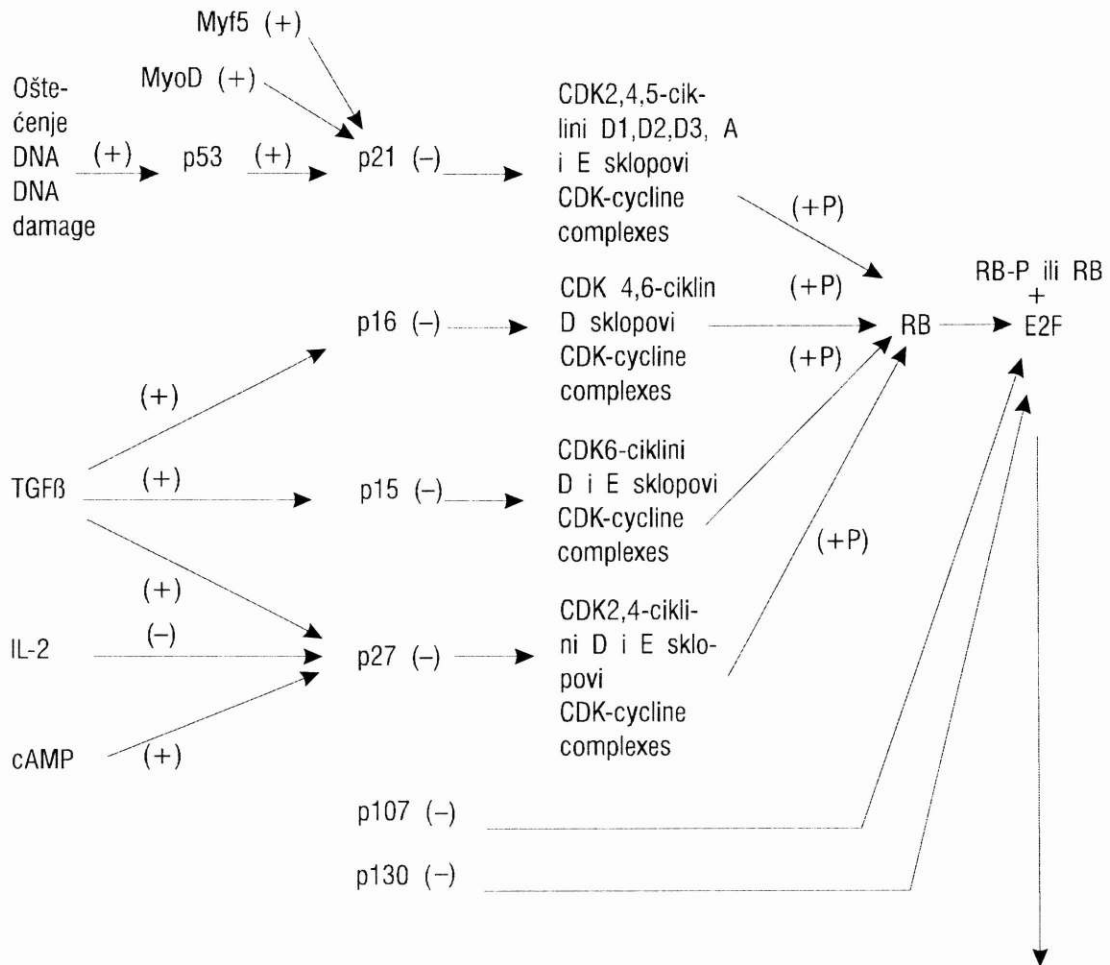
Shematski prikaz približnih vremena utjecaja pojedinih dioboupravnih molekula u staničnom diobenom ciklusu. G1/s i G2/M nadzorne točke (označene uspravnim isprekidanim linijama) su kritične diobe staničnog ciklusa na kojima se ciklus zaustavlja pri pojačanju signala kočenja. Pri otkočenju molekularni signali pobude nesmetano i spontano vode stanični ciklus kroz diobe (*CDK=cycline dependent kinase, kinaza ovisna o ciklinima, to jest kinaza kojoj je fizičko vezivanje ciklina neophodan preduvjet za funkcioniranje.)

FIGURE 1.

Schematic representation of approximative time intervals of the cell cycle in which individual regulatory molecules exert influences on the mitosis. G1/S and G2/M check points (marked by the vertical dotted lines) are critical regulatory stops of the mitotic cycle induced by the inhibitory signals. Due to disinhibition, stimulatory molecular complexes cause spontaneous progression of the cell cycle and proliferation. (* CDK=Cycline Dependent Kinase).

u staničnom ciklusu (38, 78). Aktivne kinaze, sklopovi CDK-ciklini, fosforiliraju supstrate, među kojima protein RB predstavlja ključnu molekularno-molekularnu sponu prema izravnim transkripcijskim čimbenicima u jezgri. Naime, u nefosforiliranom obliku RB molekula čvrsto veže E2F transkripcijski čimbenik, zbog čega on nedostaje

u DNA-vezivnim transkripcijskim sklopovima. Posljedično se ti sklopovi raspadaju i prestaje prepisivanje DNA. Fosforilirani RB gubi afinitet za transkripcijske čimbenike, koji odmah obrazuju DNA-vezivne prijelazne sklopove što dovodi stanicu u diobu (21). Dakle stanični su mehanizmi ugođeni na neprestanu diobu, a cit-



**UČINAK NA DIOBENI STATUS STANICE REZULTAT JE ODNOSA FOSFORILIRANOG I DEFOSFORILIRANOG RB-PROTEINA:
 THE MITOTIC STATUS OF THE CELL IS DETERMINED BY THE RATIO OF THE PHOSPHORYLATED AND UNPHOSPHORYLATED RB-PROTEINS:**

- 1. POBUDA:** Hiperfosforiliranjem RB smanjuje se nefosforilirani RB čime se oslobađa E2F, koji oblikuje s drugim jezgrinim čimbenicima ključne DNA-vezivne sklopove što pokreću diobu.
- 1. STIMULATION:** Hyperphosphorylation of the RB-protein liberates E2F transcription factors, which enter the nucleus and participate in the formation of the critical DNA-binding complexes, which activates the relevant genes.
- 2. KOČENJE:** Smanjenom fosforilacijom RB povećava se vezivanje E2F, što uzrokuje prestanak diobe, budući da se raspadaju ključni DNA vezivni polimerni sklopovi.
- 2. INHIBITION:** The decrease in the RB-proteint phosphorylation increases binding of the E2F transcription factors, causing the mitotic stop due to disintegration of the critical DNA-binding molecular complexes in the nuclei.

**SLIKA 2.
 FIGURE 2.**

Opis slike 2. sa stranice 15.

Description Figure 2. from page 15.

SLIKA 2.

Shematski prikaz molekularskih putova koji određuju aktivnost staničnog ciklusa. Proteini p15, p16, p21 i p27 su inhibitori CDK-ciklinskih kinaznih kompleksa, čime se smanjeno fosforilira RB i pojačano veže E2F što koči stanični ciklus. Proteini p107 i p130 izravno kočće E2F i stanični ciklus. Simbol “(-)” označava kočenje, a simbol “(+)” pobudu čimbenika iza strelice čimbenikom ispred strelice. Simbol “(+P)” označava fosforilaciju čimbenika iza strelice.

FIGURE 2.

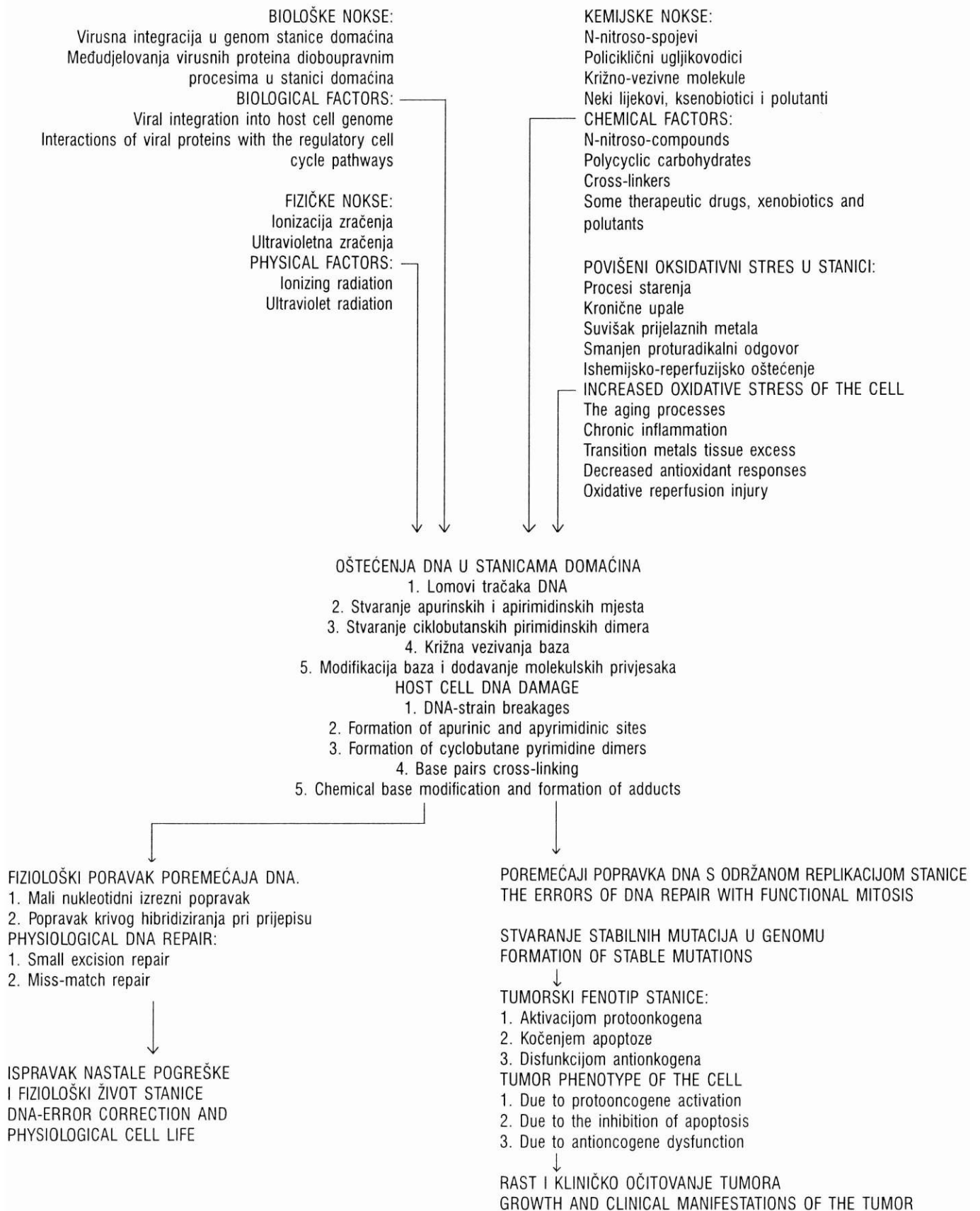
Schematic representation of the molecular pathways involved in the regulation of the cell cycle activity. The proteins p15, p16, p21 and p27 are inhibitors of the CDK-cyclin complexes, causing a decreased phosphorylation of the RB-protein and, consequently, the binding of the E2F-factors, leading to the mitotic stop. The proteins p107 and p130 are direct inhibitors of the E2F-factors and the cell cycle. The symbol “(-)” indicates the inhibition and the symbol “(+)” indicates the stimulation of the factor following the arrow caused by the factor in front of the arrow. The symbol “(+P)” designates the phosphorylation of the factors following the arrows.

oplazmatski čimbenici mogu modificirati ciklus. U slici 2. shematski su prikazani međuodnosi ključnih molekula u dioboupravnim procesima. Izvanstanični i nutarnji fiziološki se signali stapaju na nekim od tih molekula. Primjerice, interleukin-2 (IL-2) kočće aktivnost p27 otkočuje kinaznu aktivnost ciklin-CDK sklopa, čime se hiperfosforilira RB, a stanica prevodi preko G1/S nadzorne točke ciklusa u proliferaciju (usporedi sliku 1.) (50, 75). Transformirajući čimbenik rasta- β (TGF- β) koči diobu putem pobude p15, p16 i p27, a ciklički AMP, pobudom p27, koči stanični diobeni ciklus (43, 50). Izražaj gena p53, koji je smješten na 17p kromosomu kod čovjeka, ključan je regulacijski sustav za zaustavljanje diobenog ciklusa. p53 sustav reagira na strukturne poremećaje DNA, na hipoksijski i oksidativni stres, a njegova disfunkcija je dovodi do teških poremećaja genomske regulacije i ponašanja stanice. Regulatorne molekule p15, p16, p21, p27, p107, p130 i RB potencijalna su mjesta poremećaja regulacije staničnog diobenog ciklusa (6, 22, 35). Odsutnost molekula, patogenetski povoljne mutacije ili kemijska modifikacija tih molekula kočnja rezultira otkočenjem staničnog ciklusa i pojavom nekontrolirane diobe. Isto tako, molekulske promjene, koje utječu na izražaj i funkciju ovih regulacijskih sklopova, mogu otkočiti sustav i dovesti do nekontrolirane diobe.

Stabilnost genoma je preduvjet strukturne i funkcijske ravnoteže tkiva i stanica. Fiziološku stabilnost genoma obdržavaju molekularni, citoplazmatski, stanični i nadstanični mehanizmi. Ti mehanizmi funkcioniraju paralelno i istodobno, što smanjuje vjerojatnost funkcijskog očitovanja novonastalih molekularnih grešaka. Mali izrezni popravak DNA, te popravak krive hibridizacije u prijepisu (engl. miss-match repair), osnovni su nadzorni i korektivni mehanizmi na razini nukleinskih kiselina. Učinkovitost tih mehanizama smanjuje vjerojatnost izražaja greške za tri do četiri logaritamske je-

dinice. Nedostatnost tih popravaka, kao u nasljednim i stečenim greškama popravka, uzrokuju skokovit porast fenotipski uočljivih patogenetskih poremećaja (vidi kasnije). Citoplazmatsko-jezgreni dinamički razmjena signala, koja se očituje kao prodiobena uskladenost, kočnja diobenog ciklusa, pokretanje vlastitog programa smrti stanice je druga velika skupina staničnoupravnih mehanizama, koji određuju stabilnost genoma. Kodominantni izražaj obaju alela u diploidnoj stanici osigurava genetski modus fenotipskog očitovanja (recesivnost ili dominantnost). U odgovoru na okolišne promjene stanica luči neke molekule (interferoni, citokine), koje mogu utjecati na izražaj dijelova genoma i ponašanje stanice. Nadstanični imunski nadzor vrlo učinkovito odstranjuje minimalne promjene proteinskih struktura, uklanjanjem stanica. Naime, katabolizmom vlastitih proteina stvaraju se i u obliku imunogeničnih sklopova s HLA molekulama neprestano imunskom aparatu izlažu vlastite antigenske sastavnice proteina. Protiv izmijenjenih molekula u samo jednoj aminokiselini javlja se snažan odgovor. Slijedeća nadstanična razina su energijski zahtjevi tkiva u odnosu na dopremu energijskih i strukturnih supstrata, što je određeno prožiljenjem tkiva (vidi kasnije u tekstu). Gornji su nadzorni mehanizmi hijerarhijski subordinirani, što kumulativno osigurava stabilnost genoma, te funkcijsku i tkivnu ravnotežu (6, 17).

U stanici pod izvanjskim i nutarnjim utjecajima mogu nastati strukturne i funkcijske promjene molekula. U slici 3. razvrstane su raznorodne patogenetske nokse u četiri nezavisne kategorije. Izvanjski kemijski, biološki i fizički čimbenici mogu proizvesti u stanicama funkcijske pogreške na nekoj od regulacijskih razina. Isto tako nutarnji čimbenici, kao nasljedne disfunkcije genoma, te oksidativni stres, mogu dovesti do nestabilnosti genoma. Oksidativni stres je patogenetsko stanje povećanog stvaranja i/ili smanjene razgradnje i/ili sma-



SLIKA 3.
FIGURE 3.

Opis slike 3. sa stranice 17.

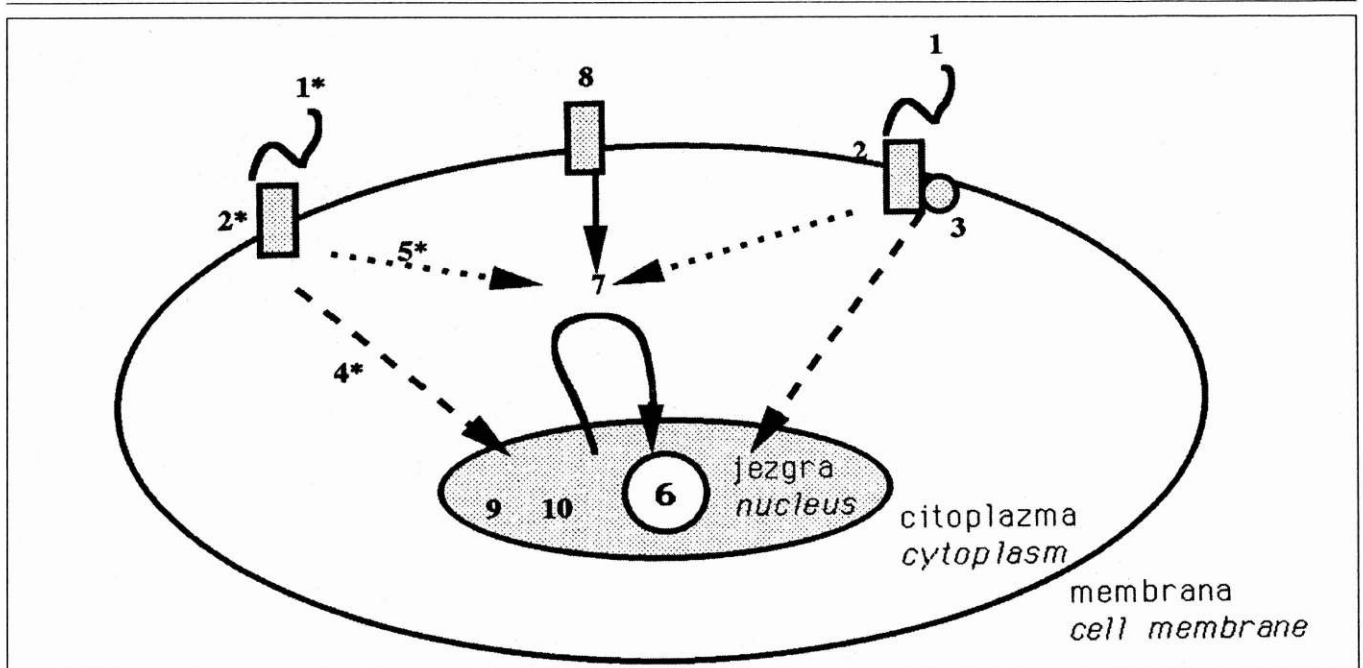
Description Figure 3. from page 17.

SLIKA 3.

Shematski prikaz ključnih točaka molekulske i stanične patogeneze tumora. (*Virusni proteini ne dovode do DNA-oštećenja, već interakcijom s dioboupravnim staničnim molekulama mogu promijeniti ponašanje stanica domaćina. **Pored nasljednih poremećaja popravka DNA gornje četiri etiopatogenetske skupine čimbenika mogu uzrokovati disfunkciju enzima popravka DNA i time utjecati na ishod oštećenja DNA.

FIGURE 3.

Schematic representation of the critical molecular and cellular events of tumor pathogenesis. (*Viral proteins do not cause a DNA damage. Some of them through interactions with the regulatory cellular pathways, may induce tumor phenotype of the cell. **The four etiological groups of factors specified above may induce a dysfunction of the repair mechanisms, causing therewith a parallel indirect mechanism of DNA-damage.



SLIKA 4.

Shematski prikaz razina staničnog funkcijskog ustroja na kojima se mogu pojaviti ključni diobotvorni mehanizmi tumorskog preobražaja.

1. Pobuda egzogenim pobudnim peptidima (hormoni, citokini, kemokini).
2. Disfunkcija receptora za pobudne peptide koja pokreće diobu.
3. Disfunkcije G-proteina koje rezultiraju stalnom pobudom stanice.
4. Postreceptorske disfunkcije (primjerice ras-mutacije, vidi sliku 2.)
5. Interakcija pobudnih signala s supresorskim staničnim mehanizmima (vidi sliku 2.).
6. Poremećaji diobenog ciklusa putem CDK-ciklinskog sustava (vidi sliku 2.).
7. Poremećaji u supresorskim genskim mehanizmima (primjerice p53, p21, vidi slike 2. i 3.).
8. Poremećaji u prijenosu izvanstaničnih negativnih diobenih signala.
9. Poremećaji popravka DNA (primjerice xeroderma pigmentosum, vidi tekst).
10. Kočenje apoptoze pojačanim izražajem bcl-2 gena (vidi tekst).

1*, 2*, 4* i 5* označavaju istovjetne korake ali za pobudne peptide koji ne koriste G-peptidni signalni sustav.

FIGURE 4.

Schematic representation of the critical levels of the cell cycle machinery at which the tumorigenic molecular alterations take place.

1. Stimulation by exogenous stimulatory peptides (hormones, cytokines, chemokines).

2. Peptide receptor dysfunction which causes cell cycle activation.
 3. G-protein-dysfunctions causing cell activation.
 4. Postreceptor dysfunction (eg. nosogeneic ras-mutations, see Figure 2)
 5. Inappropriate interactions of stimulatory and inhibitory signals (see Figure 2).
 6. Dysfunction of the CDK-cycline complexes (see Figure 2).
 7. Dysfunction of the suppressor cell cycle mechanisms (see Figures 2. and 3).
 8. An alteration in the transmission of extracellular negative signals.
 9. DNA-repair dysfunction, as in Xeroderma Pigmentosum, see the text.
 10. Inhibition of the programmed cell death by augmentation of bcl-2 expression (see the text).
- Symbols 1*, 2*, 4* and 5* designate the analogous steps for biochemical pathways which do not involve the G-peptide signaling systems.*

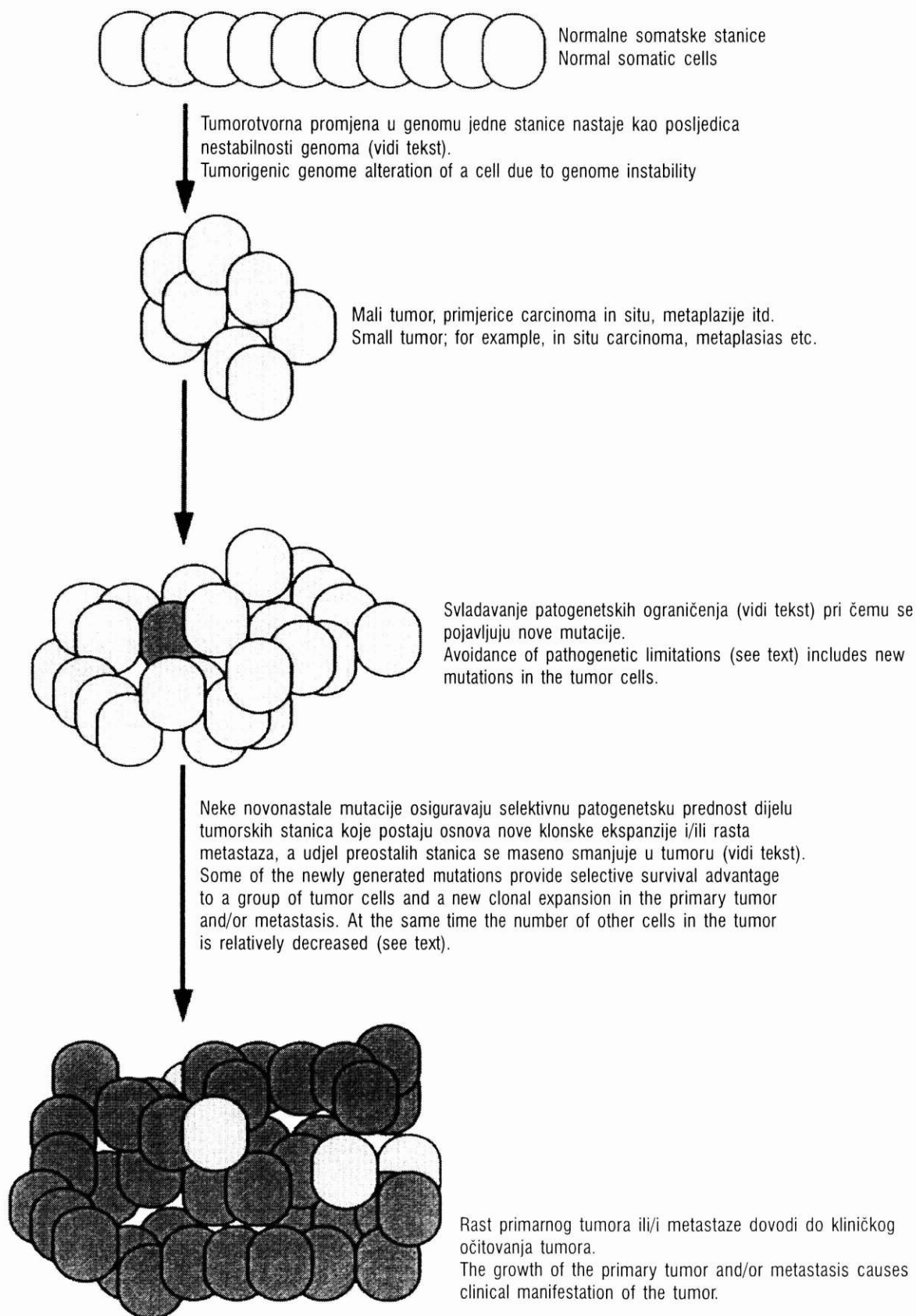
njenog uklanjanja ("puferiranja") radikala (90, 92). Kisikova radikalna vrsta (kisikov superoksid, vodikov peroksid, hidroksilni radikal, singletni kisik, hipokloritni anion, perhidroksinitritni anion, dušikov monoksid, te proteinske i lipidne radikalne molekule) mogu proizvesti stabilne mutacije DNA, strukturne i funkcijske promjene proteina i lipida, što ima veliki patogenetski značaj u brojnim nozološkim entitetima (4, 92). Oksidativni stres je redovito povratna kratkotrajna pojava. Budući da stvoreni radikali pokreću lančaste međumolekulske interakcije, koje uključuju patogenetske korake inicijacije, razgranjenje i terminaciju, završetak oksidativnog stresa ostavlja u stanici tragove u obliku modificiranih molekula (2, 31, 93). Modificirane molekule, kada im je zahvaćen kritični funkcijski dio, postaju hipofunkcionalne ili disfunkcionalne, što se na razini organa i organizma očituje kao progresivno smanjenje funkcijske rezerve. Strukturne promjene nukleinskih baza mogu uzrokovati stabilne unutargenske i izvangenske mutacije, od kojih neke mogu imati patogenetski značaj u razvitku tumora. U slici 3. navedene su neke strukturne promjene DNA prouzročene različitim endogenim i egzogenim patogenetskim noksama. Budući da navedene nokse djeluju neselektivno, aditivno i kadšto sinergistički, njihov se učinak u stanici očituje kao genomska nestabilnost. Nestabilnost genoma očituje se sklonošću pojavljivanja otklona, kao što su gubici dijelova genoma, gašenje izražaja gena, smanjenje, odnosno pojačanjem izražaja gena, stvaranjem kimeričnih gena, umnažanje cijelih gena (amplifikacija gena) ili dijelova gena, ektopično umetanje dijelova DNA (inercije) te protusmjerna orijentacija dijela genoma (inverzija kromosoma). Kada se takve promjene dogode intragenetski, u genima kritičnih regulacijskih molekula, fenotipsko ponašanje se često skokovito (katastrofalno) promijeni. Stanične se promjene mogu očitovati kao smrt stanice, povećane ili/i smanjene pojedine fiziološke funkcije, pobuda neočekivanih genskih izražaja i disdiferencijacije, te imortaliziranja stanice. Nestabilnost se genoma kod tumorskih stanica očituje citogenetskim (kariotipskim) promjenama, višeklonalnošću pojedine tumorske mase i metastaza, genskim pojačanjem (amplifikacijom), pri čemu se umnaža broj kopija istog gena u genomu, mutacijama

te promjenama mikrosatelitskih slijedova produženjem jednostavnih ponavljajućih DNA-slijedova (6, 17). Svaki od tih događaja mogu na proteinskoj i funkcijskoj razini proizvesti posebne učinke.

Pored patogenetskih noksi, navedenih u slici 3., nestabilnost genoma može biti posljedicom nutarnjih genskih promjena, naslijeđenih ili/i stečenih (vidi kasnije) (6, 36, 44). Dodatno k tome, nestabilnost se genoma može razviti disfunkcijom ili afunkcijom telomeričnog molekuskog sklopa (13). Telomerični se sklop sastoji od 65-70 heksanukleotida TTAGGG, u obliku dvostruke uzvojnice i proteina TRF (od engl. telomere repeat binding factor, TRF), koji ima molekulska masu oko 60 kD (13). Telomerični molekulske sklopovi se nalaze na oba kraja svakog kromosoma, tako da u zdravoj somatskoj stanici kromosomi ukupno imaju do 15 kilobaza repetitivnog materijala kao obvezatni privjesak (13, 77). Telomerične ponavljajuće slijedove heksanukleotida sintetizira enzim telomeraza (76). Ti privjesci sprečavaju rekombinaciju i djelovanje enzima ekzonukleaza (engl. end-degrading enzymes) i ligaza, čime se sprečavaju razgradnja i kriva vezivanja kromosomskih dijelova. Time se kromosomi stabiliziraju (13, 86). Skraćenje kromosoma gubitkom telomeričnih ponavljajućih heptanukleotida uzrokuje nestabilnost genoma. Starenjem se organizma progresivno skraćuju kromosomi, procijenjenom brzinom od oko 15-40 parova baza godišnje, što uzrokuje i progresivni porast nestabilnosti genoma starenjem (13, 77, 86).

PATOGENETSKI MEHANIZMI DIOBOTVORNE NEOVISNOSTI TUMORA

Za razliku od fiziološkog, homeostatski usklađenog ponašanja somatskih stanica, tumorske stanice posjeduju sposobnost neprestane diobe. Tumorska je stanica izvan regulacijskih utjecaja susjednih i/ili udaljenih stanica i njihovih signala, ili je taj utjecaj minimalan. Nestabilnost genoma može proizvesti promjene genoma (shematski istaknuto u slici 3.) koje svojim funkcio-niranjem predstavljaju neoplastični preobražaj i ponašanje stanice. Fenotipska svojstva tumorska stanica stječe putem



SLIKA 5.
FIGURE 5.

Opis slike 5. sa stranice 20.

Description Figure 5. from page 20.

SLIKA 5.

Shematski prikaz tumorskog rasta koji uključuje više promjena u slijedu putem kojih se osigurava patogenetska prednost preživljavanja u odnosu na ograničenja u domaćinu.

FIGURE 5.

Schematic representation of the steps in the tumor growth that include several alterations, some of which provide selective advantage for the survival in the hostile environment of the host.

četiri neovisne patogenetske skupine molekularnih mehanizama.

Prvu skupinu mehanizama čine aberantno ponašanje strukturno promijenjenih protoonkogenih molekula koje izravno djeluju diobotvorno. Ključni događaj posljedične autonomne diobe je probražaj protoonkogeni u onkogene s fenotipskim očitovanjem tumorskog rasta. U tablici 1. navedeni su primjerci preobrazbe protoonkogeni u onkogene. Pojedinih mutacijama ili/i fuzijama gena novostvoreni onkoproteini imaju veću aktivnost od ishodne molekule i stalno je u aktiviranom obliku. Primjerice, ras protoonkogen mutacijom 12Gly-->neka aminokiselina, i/ili, mutacija 61-->neka polarna aminokiselina, stječe takvo svojstvo. Fuzijom gena stvaraju se kimerične molekule koje imaju veću aktivnost od ishodne molekule i prekomjerni izražaj, a izvan su nedređenih regulacijskih učinaka drugih gena. Primjerice, translokacijom t; (9, 22) se abl protoonkogen prebacuje na 22 kromosom i pritom stapa s dijelom bcr gena. Novonastala kimerična molekula ima veću molekularnu masu i znatno povišenu nekontroliranu tirozinsokinaznu aktivnost (84). Pored protoonkogeni navedeni u tablici 1., dokazan je čitav niz (stotinjak) gena koji mogu imati protoonkogenska svojstva, kao primjerice myb, fos, src, sis, trf, raf-1, mos, fes i drugi (6, 17, 14, 42, 69, 80). Ti geni obnašaju raznorodne funkcije, kao funkciju transkripcijskih jezgrinih čimbenika, citoplazmatske signalne molekule, funkciju membranskih receptora. Njihova aktivacija u patofiziološki relevantne onkogene predmet je intenzivnih istraživanja (6, 18, 33, 84).

Preobražajem samo jednog alela protoonkogeni stanica stječe tumorsko svojstvo neprestane diobe, ona se "imortalizira" (postaje besmrtnom), unatoč fiziološkom funkcioniranju homolognog protoonkogeni na drugom kromosomu. Dakle, izražaj onkogenske promjene je dominantan. Isto tako, transfekcijom se mutiranog protoonkogeni u stanicu domaćina može prenijeti tumorski fenotip.

Drugu skupinu mehanizama imortaliziranja stanice čini kočenje programirane smrti stanice. U tablici 1. među tumorotvorne pojave je svrstana i translokacija t(14;18) kojom se bcl-2 pojačava izražaj tog gena. Bcl-2 protein koči programiranu smrt, a pojačanim izražajem produženo održava stanice na životu. Iako gen ne djeluje diobotvorno, kočenjem apoptotičke smrti stanica, stan-

ice se nakupljaju, što se fenotipski očituje kao tumor. Taj je mehanizam odgovoran za patogenezu folikularnog limfoma limfocita B u kojima se redovito susreće gore navedena translokacija kromosoma. (70). Kočenje apoptoze ima dominantan izražaj.

Treća skupina diobotvornih mehanizama u stanici je disfunkcija protoonkogeni (antionkogeni). Funkcionalnom inaktivacijom protoonkogeni oslobađaju se fiziološki transkripcijski čimbenici, koji spontano i neregulirano prevode stanicu iz G1 u S fazu, čime započinje dioba. Izostanak protoonkogeni izražaja i upravljanja funkcijom drugih gena predstavlja "derepresiju", "dez-inhibiciju", otkočenje staničnih prodiobenih čimbenika, kao, primjerice, ciklina D1, D2 i D3 te transformirajućeg čimbenika E2F (92) (usporedi sliku 2.). Stanica takvim otkočenim sustavom fenotipski se ponaša autonomno i neprestano se dijeli. U tablici 2. navedeni su primjeri protoonkogeni i mehanizmi njihove inaktivacije. Isto tako u slici 2. shematski su prikazana međudjelovanja nekih protoonkogenih molekula i drugih dioboupravnih molekula.

Za fenotipsko očitovanje protoonkogenske dezinhicije nužna je inaktivacija oba alela. Dakle, fenotipski je izražaj antionkogenske disfunkcije recesivan. U tablici 2. naglašeno je da se diobotvorni učinak često postiže delecijom oba kromosoma, gubitkom heterozigotnosti hemizigotno deletirane stanice ili, pak, patogenetski povoljnom mutacijom oba alela istodobno.

Transfekcijom supresorskih gena (primjerice p53 odnosno RB) u tumorske stanice, u kojima je dokazana lezija baš tih gena, smanjuje se potencijal rasta takvih tumora (68), što povratno ukazuje na njihovu fiziološku zadaću u stanici. U tablici 3. istaknuti su drugi supresorski geni čijom disfunkcijom se može razviti tumorotvorni učinak. Uz spomenute treba navesti i p15, p16, p21, p27, MyoD, Myf5, p107, p130 i nm23 molekule koje imaju svojstva antionkogeni i predmet su brojnih istraživanja. U slici 2. shematski je prikazana fiziološka uloga tih negativnih regulatora staničnog ciklusa. Disfunkcija bjelančevine p16 se susreće u 75% melanomskih staničnih linija, što stanicama daje vrlo visoki malignitet (45). Dodatno k tome, u različitim tumorskim je bolestima utvrđena patogenetska uloga gena koji imaju svojstva protoonkogeni, ali čiji su biokemijski detalji tek djelomice poznati. U tablici 3. navedeni su

TABLICA 1.

Primjeri patogenetski relevantnih protoonkogeno za koje je dokazan molekularni mehanizam preobrazbe u onkogene.*

TABLE 1.

The molecular mechanisms of the conversion of protooncogenes into oncogenes which cause the tumor growth

Protoonkogen Protooncogene	Smještaj u genomu Genome location	Fiziološka uloga Physiological function	Mehanizam pretvorbe u onkogen The mechanism of conversion into oncogene
H-ras	11p14.1	Sekundarni citoplazmatski glasnik Secondary messenger in the cytoplasm	Mutacija 12Gly-->neka aminokiselina Mutation 12Gly-->any other amino acid Mutacija 61Gln-->polarna aminokiselina Mutation 61GLN-->any polar amino acid
K-ras	12p12.1	Sekundarni citoplazmatski glasnik Secondary messenger in the cytoplasm	Mutacija 12Gly-->neka aminokiselina Mutation 12Gly-->any other amino acid Mutacija 61GLN-->polarna aminokiselina Mutation 61GLN-->any polar amino acid
N-ras	1p11-13	Sekundarni citoplazmatski glasnik Secondary messenger in the cytoplasm	Mutacija 12Gly-->neka aminokiselina Mutation 12Gly-->any other amino acid
c-ab1	9q34	Tirozinska kinaza Tyrosine kinase	Fuzija c-abl protoonkogeno s bcr-genom, kao posljedica translokacije t(9;22)(q34;q11). Fusion of c-abl protooncogene with the bcr-gene due to translocation t(9;22)(q34;q11).
c-myc	8q24	DNA-vezivni regulacijski protein (gen ranog odgovora) DNA-binding regulatory protein (early response gene).	Fuzija myc protoonkogeno s imunoglobulinskim genom kao posljedica translokacije t(8;14)(q24;q32). Fusion of myc protooncogene with the immunoglobulin heavy chain gene due to translocation t(8;14)(q24;q34). Fuzija myc protoonkogeno kao posljedica translokacije t(8;22)(q24;q11). Fusion of myc protooncogene with the immunoglobulin light chain gene due to translocation t(8;22)(q24;q11).
EWS	11q24	DNA vezivni transkripcijski čimbenik DNA-binding transcription factor	Fuzija EWS protoonkogeno s Fli-1, kao posljedica t(11;22)(q24;q12) translokacije uzrokuje Ewingov sarkom. Fusion of EWS protooncogene with the Fli-1 due to translocation t(11;22)(q24;q12) causes the Ewing's sarcoma.
bcl-2**	18q21	Kočenje programirane smrti stanice (apoptotičke smrti) Inhibition of programmed cell death (apoptosis)	Fuzija bcl-2 gena s imunoglobulinskim genom kao posljedica translokacije t(14;18)(q32;q21) u folikularnom limfomu. Fusion of bcl-2 gene with the immunoglobulin heavy chain gene due to translocation t(14;18)(q32;q21) leads to follicular B cell lymphoma.

* Protoonkogeni se nasljeđuju na somatskim kromosomima poput drugih gena (14, 17, 18, 69, 80, 84).

* Protooncogenes follow the patterns of inheritance of the genes located on the somatic chromosomes (14, 17, 18, 69, 80, 84).

** Kočenje apoptoze nije diobotvorni mehanizam, zbog čega se kao onkogen svrstava u zasebnu skupinu (vidi tekst).

** The inhibition of apoptosis is not a proliferative mechanism, and therefore it is listed into a separate pathogenic group (see the text).

TABLICA 2.

Gubitak antionkogenske funkcije omogućuje nekontroliranu proliferaciju stanica dezinhibicijom endogenih transformacijskih čimbenika *#

TABLE 2.

The loss of the antioncogene function causes autonomous cell proliferation due to disinhibition of cell endogenous transforming factors.

Antionkogen Antioncogene	Fiziološka funkcija Physiologic function	Mehanizam gubitka kontrole Mechanism of the loss of control	Promjena u bolesti Alteration in disease
p53	Koči p21 čime se otkočuju CDK kinaze koje fosforiliraju RB protein By inhibiting p21 it liberates CDK kinases that phosphorylate RB-proteins	Mutacija u četiri hipervarijabilne regije gena smještenog na 17p Mutations in four hypervariable regions of the gene located on 17p chromosome	Li-Fraumenijev sindrom Mnogi drugi tumori Syndrome Li-Fraumeni Many other tumors
WT-1	DNA vezivni transformacijski čimbenik koji imaju svojstva "zink finger" DNA-binding factor with "zink finger" molecular structure	Homozigotna delecija 11p13 Mutacija nakon hemizigotne delecije 11p13(LOH**) Homozygote deletion of the 11p13 Mutation following the hemizygous deletion of the 11p13 (ie. LOH**)	Wilmsov tumor (>50% tumora) Tumor Wilms (>50% of tumors)
		11p13 delecija s točkastom mutacijom drugog alela 11p13-deletion with the mutation of other allele	Sindrom Denys-Drash (>90 pacijenata) Denys-Drash Syndrome (>90% of patients)
RB	Veže i time regulira funkciju transformacijskih čimbenika E2F (1-5), te ciklina D1-D3. It binds and releases transforming factors E2F(1-5) and cyclines D1-D3.	Homozigotna delecija 13q14 Mutacija s hemizigotnom delecijom 13p14 LOH Homozygous deletion of the 13q14 Mutation of the other allele in the hemizygous deletion of 13q14 (LOH)	Retinoblastom (100% tumora) Karcinom paratiroidne žlijezde (100% tumora) Retinoblastoma (100% of tumors) Parathyroid carcinoma (100% of tumors)

* U literaturi se kadšto rabe pojmovi supresorski geni te negativni regulacijski geni kao sinonimi pojma antionkogeni.

* The terms suppressor genes and negative regulatory genes are sometimes used as synonyms of the term antioncogenes.

Priređeno prema podacima u radovima 6, 17, 68, 69.

According to the references 6, 17, 68, 69.

** LOH=Loss of heterozygosity, gubitak heterozigotnosti, koji može nastati mutacijom zdravog alela homolognog gena, ili delecijom tog alela.

** LOH=Loss of heterozygosity due to the nosogenic mutation or deletion of the other allele of the gene.

takvi primjeri gena s protuonkogenskim svojstvima.

Četvrtu skupinu mehanizama čine interakcije genskih proizvoda unutarstaničnih klica s dioboupravnim molekulskim procesima, što se u patogenetski povoljnom slučaju u stanicama domaćina očituje kao transformacijski signal. U tablici 4. su navedeni potvrđeni primjeri takvih bolesti. Unutarstanične, dakle, klice, pored ugradnje u genom, čime mogu izazvati disfunkciju protoonkogeni ili/i onkogeni i time pojavu malignog preobražaja svojim proteinom uzrokuju tumorsku transformaciju.

PATOFIZIOLOŠKA OGRANIČENJA RASTA TUMORA U NUTARNJEM OKOLIŠU

Stanice sa stečenim tumorotvornim potencijalom se susreću s vlastitim i okolišnim ograničenjima, koja usporavaju rast tumorske mase. Iako je dioba stanica tumora sensu stricto autonomna, rast tumorske mase je pod značajnim ograničenjima rasta, zbog vlastitih nutarnjih i okolišnih perimisivnih čimbenika. Uvodno je naglašeno da je nestabilnost genoma patogenetski preduvjet stjecanja nekontroliranih diobotvornih mehanizama. Međutim, isto tako, ta nestabilnost genoma dovodi i do letalnih ishoda samih tumorskih stanica, zbog čega stanice kćeri odumiru. Budući da je genom tumorske stanice nestabilan, stvaraju se daljnje genomske promjene, koje

TABLICA 3.

Supresorski geni u različitim tumorima, kod kojih su djelomično poznati biokemijski mehanizmi tumorskog rasta[#]

TABLE 3.

The suppressor genes which seem to participate in the tumor growth by mechanisms which presently are just partially explored.

Gen Gene	Smještaj gena na kromosomu Chromosome location	Neoplazma Tumor			nadbubrežne žlijezde (multipla endokrini neoplazija tipa 1) Multiple endocrine neoplasia type 1 (which includes parathyroid, pancreatic and adrenal tumors)
			MEN-2A	10q11	Multipla endokrini neoplazija tipa 2A Multiple endocrine neoplasia type 2A
			VHL	3p25	von Hippel Lindauov sindrom Syndrome von Hippel Lindau
			BRCA-1	17q21	Obiteljski karcinom dojke Familial breast cancer
			??	16q22.1-23.1	Karcinomi jetre Liver cancers
			?	3p21	Karcinomi pluća Lung cancers
			?	3p12-14	Karcinomi bubrega Kidney cancers
			?	1p36.1	Neuroblastom Neuroblastoma
WT-2	11p15.5	Wilmsov tumor Tumor Wilms			
DCC	18q21	Karcinom debelog crijeva Colon cancer			
APC	5q12-q22	Obiteljski nepolipozni karcinom debelog crijeva Familial nonpolyposis colon cancer			
NF1	17q11.2	Neurofibromatoza tipa 1. Type 1 neurofibromatosis			
NF2	22q12	Neurofibromatoza tipa 2. Type 2 neurofibromatosis			
FAP	5q21-22	Karcinom debelog crijeva Colon cancer			
MEN-1	11q13	Udruženi tumori paratiroidne žlijezde, hipofize, pankreasa i kore			

* Prema podacima u literaturnim izvorima 17, 52, 68, 103.

According to the references 17, 52, 68, 103.

*?=Nije identificiran gen već samo mjesto na kromosomu

*?=The location of the gene is known. However the identity of the gene is yet to be discovered.

možu pozitivno mijenjati tumorski fenotip, ali i dovesti do smrti tumorske stanice. Iako je eksperimentalno teško dokazati takav mehanizam, u rastu tumora s nestabilnim genomom susreću se takva genomski ograničenja, čime se gubi dio tumorske mase. Isto tako nestabilnošću genoma u tumorskoj se stanici mogu pokrenuti procesi programirane smrti stanice aktiviranjem gena odgovornih za apoptozu. Taj poseban oblik samoubojstva stanice predstavlja značajno nutarnje stanično ograničenje. Pokretanjem programirane smrti, tumorski se klon suicidalno gasi (51, 98). Kontrola pobude apoptoze u tumorskim stanicama bi osiguravala patogenetsku prednost. Neke tumorske stanice uspijevaju disdiferencijacijom postići kontrolu svojih proapoptogenih procesa. Primjerice, u nekim procesima karcinomi dojke izraženi su estrogenski i progesteronski receptori, preko kojih hormoni organizma koče programiranu smrt tumorskih stanica (58, 64). Isto tako neki tumori uterusa, ovarija i prostate koriste endogene hormonske pobude za savladavanje genomskih ograničenja koja nastaju u tumorigenezi zbog nestabil-

nosti genoma (61, 98). Protuapoptotičko djelovanje pojedinih čimbenika nije nužno jedini patogenetski povoljni učinak takvih čimbenika (98).

Sve su promjene proteinske strukture vlastitih molekula pod neprestanim imunonadzornim ograničenjima, koji vrlo precizno otkriva i uklanja stanice s promjenama ne samo membranskih već i citoplazmatskih proteina. Novonastala tumorska stanica svojim mutacijama, stopljenim proteinima, čest je i lak plijen specifičnog imunogenog odgovora. Time imunogeni aparat neprestano tijekom života nadzire antigensku kakvoću organizma. Ključna fiziološka uloga molekula glavnog sustava tkivne snošljivosti (HLA-molekule) je imunopredočavanje prerađenih antigenskih peptida u obliku imunogeničnih sklopova limfocitima T, što pokreće specifični imunogeni odgovor (56). Isto tako, izražaj HLA molekula određuje ontogenijsko sazrijevanje limfocita T (56, 57). Novonastale promjene u strukturi bjelančevina uzrokuje stvaranje novih nepoznatih imunogeničnih sklopova, što uzrokuje specifično imunogeno odbacivanje tumorskih stanica (56, 57). Zbog nestabilnosti genoma u tumor-

TABLICA 4.

Primjeri unutarstaničnih klica čiji proteini mijenjaju dioboupravne procese u stanici domaćina, što fenotipski dovodi do tumorskog preobražaja.

TABLE 4.

The proteins of the intracellular microorganisms which interfere with the regulatory cell cycle host pathways and cause tumor conversion of the somatic cell.

Klica Micro-organisms	Ključna molekula Key molecule	Patogenetski učinak u stanici domaćinu ili/i organizmu Pathogenic effects in the host cell and/or host organism	Literaturni izvor References
Ebstein-Barrov virus	BHRF1	–strukturni i funkcijski analog bcl-2 proteina, čime uzrokuje kočenje apoptoze u inficiranim stanicama i njihovo nakupljanje u organizmu, što doprinosi kliničkom očitovanju infekcijske mononukleoze.	98
	LMP-1	–pobuđuje izražaj bcl-2 gena čime koči apoptozu i doprinosi nakupljanju limfatičkih stanica, što doprinosi kliničkom očitovanju infekcijske mononukleoze.	37
Virus Ebstein Barr	BHRF1	– structural and functional analogue of the bcl-2 protein inhibits the apoptosis inside the infected cells, causing an accumulation of such cells and clinical manifestation of the infectious mononucleosis.	98
	LMP-1	–stimulates the expression of the bcl-2 gene that inhibits the apoptosis and leads to the accumulation of such lymphatic cells and manifestation of the infectious mononucleosis.	37
Adenovirusi	E1B	–strukturni i funkcijski analog bcl-2 proteina, čime koči apoptozu.	8
	E2A	–kompetira za vezivanje na Rb-defosforilirani protein s E2F transkripcijskim čimbenikom. Vezivanjem na RB, E2F je slobodan i pokreće stanični ciklus, što uzrokuje proliferaciju stanice domaćina.	79
Adeno-viruses	E1B	–structural and functional analogue of the bcl-2 protein, which inhibits the apoptosis.	8
	E2A	–competes with the E2F-transcription factor for binding to the unphosphorylated RB-protein. Binding to the RB liberates E2F that activates cell cycle and host cell proliferation.	79
Papilloma virus	E6	–koči p53 izravnim vezivanjem, i dodatno pobudom degradacije p53 ubikvitinizacijom i proteasomskom razgradnjom, što smanjuje izražaj p21 i time otkočuje distalne prodiobene molekule (usporedi sliku 2.)	91
	E7	–istiskuje E2F iz sklopa s RB molekulom, a također veže p107 i p130, čime se paralelno otkočuje diobeni ciklus (usporedi sliku 2.)	91
Papilloma virus	E6	–inhibits p53-protein by direct binding. In addition, it induces ubiquitination of the p53-protein and degradation by the proteasome, which leads to a decrease of the p21-expression and disinhibition of distal regulatory molecules of the cell cycle (compare Figure 2).	91
	E7	–it competes out E2F-factor from the complexes with Rb-molecule, and binds p107-protein and p130-protein, causing therewith two parallel disinhibitions of the cell cycle (compare Figure 2).	91
Pox virusi	crmA	–izravno koči ICE funkciju (Interleukin 1 β conversion enzyme, ICE), čime je zakočen osnovni put aktivacije apoptoze u stanici, što uzrokuje nakupljanje stanica.	85
Pox viruses	crmA	–inhibits ICE-function directly (interleukin 1 β conversion enzyme, ICE), blocking therewith the basic pathway of apoptosis activation and causing an accumulation of cells.	85
Virus hepatitis B	HBx	–virusni protein HBx izravno veže p53 u citoplazmi čime se otkočuje diobotvorni sustav na razini CDK-ciklinskog sustava (usporedi sliku 2.). Taj mehanizam je odgovoran za nastanak hepatocelularnog karcinoma u pacijenata s persistentnim hepatitisom.	47,99
Hepatitis B virus	HBx	–viral protein HBx binds p53-protein in the cytoplasm directly, causing the disinhibition of the CDK-cycline regulatory complexes (compare Figure 2). That mechanism contributes to the pathogenesis of hepatocellular carcinoma in the patients with persistent hepatitis B.	47,99

TABLICA 5.

Pojedini tumori izražavaju veći broj genetskih abnormalnosti što je posljedica indukcijskih i/ili selekcijskih patogenetskih procesa.

TABLE 5.

Individual tumor cell expresses multiple gene alterations due to selective and/or inductive pathogenic processes.

Tumor	Promjene u dijelu genoma Genome alteration		
	Dominantne	Recesivne	Literaturni izvor
Tumor	Dominant	Recessive	References
Karcinomi dojke Breast cancers	neu myc	RB1 11p 3p	1,52,103
Karcinomi debelog crijeva Colon cancers	K-ras	FAP p53 DCC	1,103
Karcinomi pluća Lung cancers	myc L-myc N-myc RAF	p53 RB1 3p21	36,68
Astroцитomi Astrocytomas	ERBB-1 GLI myc neu N-myc ros SIS	p53	6,17,36 68
Neuroblastomi Neuroblastomas	N-myc N-ras	1p36.1	36,52

skim se stanicama mogu pojaviti i klonovi koji ne izražavaju HLA molekule, čime postaju "nevidljive" za specifične imunonadzorne, što bi im dalo selektivnu prednost preživljavanja. Izostankom imunopredočavanja novonastalih epitopa, tumorska stanica može preživjeti iako izražava neoantigene. Brojni klinički očitovani tumori na svojoj membrani ne izražavaju ili nemaju smanjenu gustoću HLA molekula (95, 101), čime se smanjuje vjerojatnost specifičnog imunosnog odgovora. U slijedećem koraku imunosnog nadzora HLA-ogoljene stanice postaju plijenom stanica prirodnih ubojica (engl. natural killer cells, NK-stanice), koji u periferiji ima do 1-3% svih limfocita (67). Naime, neizražajem HLA molekula, tumorska stanica pobuđuje NK izvršne citotoksične stanice, koje učinkovito uklanjaju tumorske

stanice (63, 65). Dodatno k tome, u nekim se tumorima HLA molekule ljuštenjem s površine stanica oslobađaju solubilne HLA molekule koje mogu zakočiti imunosni odgovor domaćina. Izravnim vezivanjem solubilnih HLA molekula (koje u sebi sadrže antigenske peptide) na receptore pobudnih i/ili izvršnih limfocita T vrlo selektivno paralizira imunosni odgovor. (49, 83). Takav mehanizam pobuđene imunopareze u tumorskoj bolesti dobiva sve više eksperimentalnih potvrda u različitim stanjima (39, 97). Očito je da su klinički očitovani tumor one stanice koje su prošle višekratni imunonadzor i selekciju. Fiziološka reaktivnost imunonadzornih mehanizama je preduvjet odstranjenja novonastalih tumorskih stanica. U kliničkim stanjima imunonedostatnosti, uključno i jatrogene imunosupresije, organizam je skloniji razvitku tumora zbog kvantitavnog sniženja pobudnog ili/i izvršnog kraka specifičnog imunosnog odgovora (51). Primjerice, dugotrajna imunosupresija primalaca bubrežnog presatka se očituje 4-5000 puta učestalijom pojavom različitih tumora u usporedbi s incidencijom tumora u kontrolnim neimunosuprimiranim skupinama (9).

Brzom autonomnom diobom i nakupljanjem novostvorenih stanica tumorsko tkivo razvija lokalne energijski nepovoljne uvjete. Naime, novostvorene stanice razmiču kapilare i time povećavaju stanično kapilarni difuzijski put, čime se otežava difuzija energijskih i gradidbenih tvari. Stanična se euenergoza može održati do 2 mm žilno stanične udaljenosti (28). Pri većim udaljenostima stanice od kapilara u stanicama se snižuje koncentracija ATP-a ispod kritične koncentracije održanja (energy treshold) (100). Zbog tog energijskog ograničenja udaljene stanice često odumiru citoplazmatskom smrću zbog supstratne i hipoksijske hipenergoze (64). Očito je da rastući tumor neprestano gubi množinu vlastitih stanica. Taj se gubitak procjenjuje u različitim tumorima i iznosi 76-99% novostvorenih stanica, što se može prepoznati kao česte nekroze tumorskog tkiva. Iz iste činjenice proizlazi dugo vrijeme udvostručenja mase (30 do 120 dana), te spora i duga kinetika razvitka kliničkog očitovanja od prvog tumorotvornog događaja (nekoliko godina).

Energijska ograničenja tumorske stanice svladavaju nutarnjim metaboličkim prilagodabama te pokretanjem angiogeneze (28, 61, 104). Prožiljenje ishemičnih dijelova uraštanjem novih kapilara, nastaje pobudom pupanja kapilara tvarima kao bazični i kiselog čimbenika rasta fibroblasta (bFGF i aFGF), angiogenina, IL-8, i druge (28, 102). Izražajem nekog od tih čimbenika tumori pobuđuju uraštanje žila, što im donosi selektivnu prednost preživljavanja svladavanjem energijskog ograničenja rasta. S druge strane, fiziološka tkiva izražavaju čimbenike kočenja angiogeneze, kao angiostatin, trombospondin-1, interferoni IFN α i IFN β , te trombocitni čimbenik PF-4 (28). Homeostaza prožiljavanja tkiva se obdržava ravnotežom proangiogenetskih i protuangiogenetskih

genetskih čimbenika. Gubitkom izražaja protuangiogenetskih čimbenika, tumorska stanica se pomiče prema sklonosti novoprožiljavanju tkiva, čime premošćuje energijska ograničenja. Tijekom disdiferencijacije pokretanje lučenja proangiogenetskih citokina ili/i kočenje i gubitak izražaja protuangiogenetskih čimbenika daje tumoru selektivnu prednost u odnosu na energijska ograničenja i ubrza kinetiku rasta. Pobuda angiogeneze je usko vezana uz patogenezu metastaziranja tumorskih stanica (28).

PATOGENEZA METASTAZIRANJA TUMORSKIH STANICA

Metastaziranje tumorskih stanica oponaša fiziološku selidbu ili/i kruženje nekih somatskih stanica po organizmu. Monociti, leukociti i limfociti ostvaruju svoju fiziološku zadaću specijaliziranim mehanizmima selidbe po tkivima, koji uključuju adhezijska međustanična prepoznavanja, enzimsku razgradnju međustanične tvari, lokomociju stanice i kemotaktičnu signalizaciju. Metastazirajuće stanice koriste slične mehanizme selidbe iz primarnog u druga tkiva. Metastaziranjem u druga tkiva tumorske stanice kratkotrajno izbjegavaju energijska ograničenja u primarnom tumoru. Povećanjem mase metastaze ponovno se javlja problem energetske dostave. U procesu metastaziranja mogu se patogenetski izdvojiti četiri koraka: /1/ prodor u krvožilne i limfne prostore (infiltracija), /2/ putovanje limfnim prostorima i žilama, krvožiljem i drugim izvanstaničnim prostorima (rasap stanica), /3/ zaustavljanje, adherencija i ekstravazacija u udaljenom tkivu (utkvljenje i invazija) te /4/ rast tumorske stanice u novom okolišu udaljenog tkiva (rast metastaze) (28, 34). U tim se procesima metastaziranja mogu izdvojiti tri zasebna biokemijska fenomena koja određuju odvajanje stanica od primarne tumorske mase, putanje metastaziranja tumora i preživljavanje stanica u novonaseljenom tkivu.

Prvo, izražaj proteaza, bilo kao secerniranih ili/i u membrani usidrenih enzima tumorskoj stanici, korelira s metastatskim potencijalom stanice (73, 87). Izražaj kolagenaze I, II. i III. a osobito kolagenaze IV. i V. koje, razgrađuju kolagen bazalnih membrana, pokazuju snažne pozitivne korelacije s metastatskim potencijalom (31). Drugi enzimi kao stromelizin, katepsini te elastaze predmet su istraživanja (94). Patogenetski gledajući, izražaj enzima u tumorskim stanicama omogućava razgradnju međustanične tvari, prodor u hematogene i limfogene putanje metastaziranja, kao i razaranje bazalnih membrana i međustanične tvari udaljenih tkiva.

Drugo, stanični receptori za međustaničnu tvar izgleda da određuju mjesto naseljavanja kemotaksiju i lokalnu lokomociju tumorskih stanica. Izražaj receptora za lamininski pentapeptid Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg i/ili receptora za tetrapeptid Arg-Gly-Asp-Ser u sastavu fi-

bronektina, vitronektina i von Willebrandova čimbenika omogućuju metastaziranje u plućno tkivo (87, 104). Predobrada odgovarajućih tumora rečenim peptidima in vitro smanjuje se metastatski potencijal stanica u pokusnom životinjskom modelu (41), što upućuje na patogenetski značaj tog receptorskoligandnog prepoznavanja. Interakcija pripadnog receptora bi tumorskoj stanici omogućila zadržavanje u novom tkivu. Istodobno elastinski heksapeptid Val-Gly-Val-Ala-Pro-Gly djeluje kemotaksijski na neke tumore. Naime, razgradnjom elastina oslobada se, među ostalim, i taj heksapeptid koji pokreće kemotaksiju monocita i nekih tumora koji metastaziraju u pluća (7, 104). Izražaj odgovarajućeg receptora na metastazirajućoj stanici i izražaj pripadnog liganda u tkivima određuju "ciljno" tkivo metastazirajućeg procesa. Utkvljenje metastazirajućih stanica uključuje procese posredovane receptorskoligandnom interakcijom. Gornjim činjenicama dijelom je potvrđena "seed and soil" teorija metastaziranja (9, 27), koja pretpostavlja postojanje jedinstvenih čimbenika tkiva-domaćina metastaze i jedinstvenih čimbenika same metastazirajuće stanice, koji zajednički određuju proces selidbe i naseljavanja tumorskih metastaza.

Treće, tkiva i tumorske stanice proizvode male peptide koji koče enzime, kao cistatini, stefini, TIMP 1 i TIMP 2 i drugi (11). Istraživanja doprinosa tih inhibitornih molekula interakciji tumora i tkiva usmjerena su na kočenje upalne reakcije, kočenje granizma u citotoksičnom izvršnom kraku, te kočenju vlastitih proteaza u tumorskim stanicama (3, 30).

VIŠESTRUKOST TUMOROTVORNIH MEHANIZAMA U POJEDINIM TUMORIMA

Proučavanjem patobiologije tumorskog rasta otkrivena je množina istodobnih i paralelnih etiopatogenetskih molekularskih procesa u istoj stanici. Nestabilnost genoma (usporedi sliku 3.) osigurava uvjete za neprestano stvaranje novih i novih promjena, koje u nekim slučajevima mogu predstavljati prednost u pojedinim koracima patogeneze tumora. Ranije spomenute tri skupine diobotvornih mehanizama (aktivacija protoonkogeni, inaktivacija protoonkogeni, te isključenje programirane smrti stanice) često se pojavljuju kao udruženi tumorotvorni mehanizmi (6, 17, 42). Patofiziološka svojstva tumorskih stanica, te kliničko očitovanje, određena su patogenetskom povoljnošću kombinacije učinaka. U tablici 5. istaknuti su primjeri neoplazmi u kojima su dokazane višestruke promjene. Pored istodobnog pojavljivanja onkogenetskog i protuonkogenetskog diobotvornog mehanizma, u tablici 5. je naglašeno da se u nekim tumorima pojavljuje i više istovrsnih patogenetskih mehanizama (dva ili više onkogenetskih i dva ili više protuonkogenetskih diobotvornih mehanizama). Na slici 4. shematski su prikazane multiple patogenetske relevantne točke karcinogeneze. Višestrukošću patogenetskih putova mogu

se protumačiti raznolikosti tumorskog rasta i očitovanja koji se, primjerice, po osnovi izoliranog podatka o nekom pobuđenom onkogenu, pokušavaju svesti na jednostavnu zajedničku patogenezu. Očito je da optimum preživljavanja i rasta tumora nastaje kao rezultat probira disdiferenciranih stanica, pri čemu nestabilni genom kumulira brojne promjene u procesu izbjegavanja stupnjevitog hijerarhijskog nadzora. U slici 5. shematski je prikazana uopćena kinetika složenih procesa tumorske patogeneze. Prije svojega simptomatskog očitovanja, klinički očitovani tumori (obično tumor veličine oko milijardu stanica) su prošli množinu selektivnih ograničenja, a pri tome su stekli patogenetski povoljan izražaj različitih gena, što se očituje kao polimorfija disdiferencijacije u pojedinim tumorima.

Istodobno sa diobotvornim učincima neki od mehanizama pokreću paralelne procese koji mogu imati patogenetski značaj u rastu i preživljavanju tumorskih stanica. Primjerice, p53 fiziološki potiče izražaj trombospondina, protuangiogenetskog čimbenika (19). Delecijama s gubitkom heterozigotnosti, te homozigotnim mutacijama gena za p 53, pored pokretanja diobotvornih mehanizama (usporedi sliku 2. i tablicu 2.), smanjuje se izražaj trombospondina, čime se povećava prožiljenje tkiva (19). S druge strane, enzimatsko ljuštenje E-selektina i žilnih adhezijskih molekula pobuđuje angiogenezu. Izražaj enzima ključnih u metastaziranju istodobno se potiče i novo prožiljenje ljuštenjem tih molekula s površine stanica (54). Ti paralelni i istodobni angiogenetski mehanizmi pridonose lakšem svladavanju energijskih ograničenja tumorskog rasta.

MOLEKULSKE OSNOVE HEREDITARNOSTI KARCINOGENEZE

Velika većina tumora se pojavljuje sporadično bez ikakvoga prepoznatljivoga genetičkog obrasca u epidemiološkim populacijskim proučavanjima. Svega 5-10% tumora ima dokazano sudjelovanje nasljednih čimbenika (22). Opisana molekulska patogeneza upravo predviđa takvo epidemiološko stanje, budući da etiopatogene nokse djeluju nespecifično i imaju tek neznatnu vjerojatnost genetskog fiksiranja i prijenosa svojeg patogenetski povoljnog učinka u generacijsko potomstvo u pučanstvu. Manja skupina tumora, međutim, epidemiološki pokazuje određene obrasce nasljednosti kroz generacije (22, 53). Tu se sklonost genetskoga nasljednoga pojavljivanja u obiteljima, na razini molekulske patogeneze, može svesti na dvije neovisne skupine mehanizama.

Prvu skupinu mehanizama čine poremećaji popravka oštećenja DNA. Na slici 3. je istaknuto da se novonastala oštećenja DNA vrlo učinkovito ispravljaju malim izreznim popravkom koju obnaša grupa enzima (96). Nasljedne greške nekog od enzima popravka DNA imaju recisivni izražaj, što znači da u stanju heterozigota

je stanica fenotipski zdrava, unatoč fiziološkom funkcioniranju tek jednog alela (96). U uvjetima homozigotnosti, ili, pak, gubitka zdravog alela nekim oštećenjem tijekom života hemizigotnih stanica, nastaje fenotipski izražena greška, koja se susreće u više kliničkih nasljednih sindroma. Nasljedne bolesti *xeroderma pigmentosum* (uključuje sklonost pojavi planocelularnih karcinoma, bazalioma i melanoma kože), Bloomov sindrom (uključuje sklonost leukemijama, kožnim karcinomima te karcinomima dojke), *ataxia teleangiectasia*, (sklonost pojavi leukemija), te Fanconijeva anemija (sklonost malignostima krvotvornog sustava, osobito akutnoj mijelogenoj leukemiji) posljedice su greške u sustavu popravka DNA (18, 84). Pod dodatnim etiopatogenetskim opterećenjima (noksama navedenim u slici 3.) nastaju stabilne mutacije i posljedično razvoj karcinogenezi. Istodobno stanice u tim sindromima pokazuju povećanu osjetljivost na različite etiopatogenetske nokse. Primjerice, pacijenti s *xerodermom pigmentosum* su preosjetljivi na ultraljubičasto zračenje (17, 96), pacijenti s teleangiektatičnom ataksijom su preosjetljivi na ionizacijska zračenja i kemijske nokse (84).

Isto tako, pogreške krivog sparivanja baza u prijepisu (engl. miss-match repair) slijede istovjetnu patogenetsku logiku. U heterozigota nema fenotipskog izražaja poremećaja, a gubitkom ili disfunkcijskom promjenom izražaja zdravog alela se očituje bolest u zahvaćenoj stanici (1). Nasljedni nepolipozni karcinom debelog crijeva (engl. Hereditary nonpolyposis colon carcinoma, HNPCC) svoju nasljednost osniva na greški hMLH-1 genu za enzim popravka krivog hibridiziranja u prijepisu (1, 103). Gubitkom heterozigotnosti, to jest, disfunkcijom zdravog alela, povećava se učestalost krivog hibridiziranja nosivaca novosintetiziranih kromatida. Budući da u međugenskoj i unutargenskoj nekodirajućoj DNA postoje repetitivni sljedovi, takozvana mikrosatelitna DNA, izraženom greškom popravka ti se sljedovi umnažaju. Umnažanje mikrosatelitne DNA može dovesti do oštećenja gena kritičnih nastanku karcinoma crijeva (29). Dakle, nasljednost se HNPCC-bolest osniva na prijenosu hemizigotne enzimске greške popravka krivog hibridiziranja u prijepisu, što daje sklonost pojavljivanja u obiteljima (1, 103).

Drugu skupinu mehanizama odgovornih za nasljednu sklonost karcinogenezi čine genetski prenosive greške protuonkogeni. Ranije je naglašeno da se genska disfunkcija protuonkogeni očituje recisivno, budući da zdravi alel svojom funkcijom "prikrija" bolest. Na osnovi epidemioloških studija, Knudson je predložio pravilo po kojem se ostvaruje hereditarnost nasljednog retinoblastoma (54). Knudson je pretpostavio da se u zametnoj lozi nasljeđuje jedna pogreška (disfunkcijska mutacija, delecija jednog alela), a da tijekom života nastaje somatska mutacija preostatnog zdravog alela. Tom drugom greškom nastaju preduvjeti za razvoj tumora. Dakle nasljedna je sastavnica patogeneze hemizigotnost,

čime su somatske stanice izgubile zaštitni mehanizam kodominantnog izražaja gena diploidne stanice. Knudsonov se teorijski model može generalizirati za praktično sve tumore sa greškom protuonkogenom (24, 52). U tablici 2. je naglašeno da greške p53 protuonkogenom mogu uzrokovati Li-Fraumenijev sindrom, koji uključuje pojavu brojnih nasljednih tumora, sarkoma i karcinoma (60, 66). Fiziološka uloga p53 molekule je kočenje staničnog ciklusa u G1 fazi. Pri oštećenjima DNA (usporedi sliku 3.) inducira se p53 gen, čiji proizvod, protein inducira p21 što preko CDK-ciklinskog sustava koči diobu (usporedi sliku 2.), (66). Stanični se ciklus zaustavlja pred G1/S nadzornom točkom, a u tako zakočenoj stanici nastale greške se mogu popraviti malim izreznim popravkom. U slučaju disfunkcije p53 (pojavom druge, somatske mutacije), stanica je otkočena, a greške se prepisuju i prenose u sve stanice kćeri. Time su stvoreni uvjeti za genomske nestabilnosti i karcinogeneze. Patogeneza Li-Fraumenijeva sindroma to nedvojbeno potvrđuje (66). U hereditarnom retinoblastomu nasljeđuje se delecija ili disfunkcijska mutacija jednog RB gena, zbog čega su somatske stanice funkcijski hemizigoti, što im daje sklonost razvoju tumora (26, 52, 53).

Istovrsnu molekulsku patogenezu se može očekivati u drugim tumorskim skupinama kod kojih je protuonkogenska disfunkcija odgovorna za patogenezu. U tablici 4. su navedena brojna stanja kod kojih nije u potpunosti razjašnjen molekulski supstrat patogeneze, a koji imaju opća svojstva protuonkogenske patofiziologije. U multiplim endokrinim neoplazijama, u von Reckinghamovoj neurofibromatozi, nasljednoj sklonosti karcinomu dojke i drugim stanjima, tek disfunkcije oba gena uzrokuju bolest. Nasljednost se osniva na nasljeđivanju jednog deletiranog ili disfunkcijskog alela, koji novonastalom somatskom disfunkcijom drugog alela dovodi do očitovanja bolesti (52, 53).

MOLEKULSKE PATOGENETSKE RAZLIKE MALIGNIH I BENIGNIH TUMORA

Kliničke spoznaje o patobiologiji tumora čine jasnu razliku između dobroćudnih tumora (ekspanzivan rast, sporo umnažanje stanica, minimalna angiogeneza i prožiljenje, često značajan stupanj tkivolike diferencijacije) i zloćudnih tumora (infiltrativno uraštanje, metastazibilnost, značajna angiogeneza, često gubitak posebnih tkivnih oznaka). Posljedično se očitovanje bolesti i terapijski zahvati značajno razlikuju među tim skupinama bolesti.

Benigni tumor i za razliku od malignih često imaju povišenu citoplazmatsku koncentraciju cikličkog AMP-a (46). cAMP pobuđuje u stanici diferencijaciju i funkcijski izražaj, a istodobno koči diobu. cAMP izravno koči Raf-1 kinazu, čime se blokiraju brojni prodiobeni signali. Raf-1 kinaza je stjecišna točka brojnih biokemijskih pobudnih putova koja se nakon vlastite fosforilacije

prebacuje u jezgru i djeluje kao DNA vezivni pobudni signal (46, 65). Kočenjem Raf-1 kinaze cAMP koči diobu. Isto tako povišena koncentracija cAMP-a pobuđuje p27 (vidi sliku 2.) što dovodi do kočenja CDK-ciklinske regulacije staničnog ciklusa (46). Time kroz dva neovisna molekulska puta cAMP zaustavlja diobu i potiče stanicu prema diferencijaciji i funkcijskom izražaju (primjerice, lučenju hormona, iako nekontroliranog) (46, 59, 65). S druge strane, benigni tumori, poput somatskih fizioloških stanica, imaju neznatnu telomeraznu aktivnost (vidi ranije), dok maligni tumori, gotovo redovito imaju izraženu aktivnost tog enzima (86). To je epidemiološki pokazano za desetine histološki nesrodnih benignih, odnosno malignih tumora (40, 48, 72). Iako su spoznaje o funkciji i strukturi telomeričnih sklopova početne i fragmentarne, izgleda da je stabilnost kromosoma ključan preduvjet njihove fiziološke funkcije. Kraćenje telomera izgleda da uzrokuju dostatnu nestabilnost kromosoma i akumulaciju većeg broja molekulskih pogrešaka odgovornih za malignost tumora. Gornje dvije skupine razlika (koncentracija cAMP-a, te telomerazna aktivnost) mogu dijelom pojasniti neke patogeneze i kliničke razlike malignih i benignih tumora. Kao što je naglašeno, složeni procesi indukcije angiogeneze, metastaziranja, brzog rasta (vidi ranije), zahtijevaju niz promjena koje bi kroz selekcijski postupak preko zahtjevnih barijera proizveo stanice koje moraju biti visoko proliferativne i mutabilne. Zbog manje stabilnosti kromosoma maligni tumori bi imali veći broj molekulskih promjena, a zbog odsutnosti cAMP-a diobotvorni procesi bi nesmetano uzrokovali proliferaciju. Benigni tumori, za razliku od toga, bi imali znatniju kontroliranost i bili bi sličniji fiziološkim tkivima.

LITERATURA

1. Aaltonen LA, Peltomaki P, Leach FS, et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science* 1993; 260: 812-5.
2. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7915-22.
3. Barret AJ. The cystatins: a new class of peptidase inhibitors. *Trends Biochem Sci* 1987; 12: 193-6.
4. Bast A, Goris RJA. Oksidativni stres. *Pharm Weekbl/Sci* 1989; 11: 199-206.
5. Berridge MJ. Inositol triphosphate and calcium signaling. *Nature* 1993; 361: 315-25.
6. Bishop M. Molecular themes in oncogenesis. *Cell* 1991; 64: 235-48.
7. Blood CH, Sasse J, Brodt P, et al. Identification of a tumor cell receptor for VGAPG, an elastin-derived chemotactic peptide. *J Cell Biol* 1988; 19: 87-93.
8. Boyd JM, Malstrom S, Subramanian T et al. Adenovirus E1B 19 kDa and Bcl-2 proteins interact with common set of cellular proteins. *Cell* 1994; 79: 341-51.

9. Braun WE. Long term complications of renal transplantation. *Kidney Internat* 1990; 37: 1363-78.
10. Brown EM, Pollak M, Seidman CE, et al. Calcium-ion-sensing cell surface receptors. *New Eng J Med* 1995; 333: 234-40.
11. Calkins CC, Sloane B. Mammalian cystein protease inhibitors: Biochemical properties and possible roles in tumor progression. *Biol Chem Hope Seyler* 1995; 376: 71-80.
12. Casey PJ. Protein lipidation in cell signaling. *Science* 1995; 268: 221-5.
13. Chong L, van Steensel B, Broccoli D, et al. A human telomeric protein. *Science* 1995; 270: 1663-7.
14. Cline MJ. The molecular basis of leukemia. *New Eng J Med* 1994; 330: 328-36.
15. Clapham DE. Calcium signaling. *Cell* 1995; 80: 259-68.
16. Cohen GB. Modular binding domains in signal transduction proteins. *Cell* 1995; 80: 237-48.
17. Coleman B, Tsongalis GJ. Multiple mechanisms account for genomic instability and molecular mutation in neoplastic transformation. *Clin Chem* 1995; 41: 644-57.
18. Crist WM, Kun LE. Common solid tumors of childhood. *New Eng J Med* 1991; 324: 461-71.
19. Dameron KM, Volpert OV, Tainsky MA, et al. Control of angiogenesis in fibroblasts by p53 regulation of thrombospondin-1. *Nature* 1994; 356: 1582-4.
20. Diveche N, Irvine T. Phospholipid signaling. *Cell* 1995; 80: 269-78.
21. Dowdy ST, Hinds PW, Louie K, et al. Physical interaction of retinoblastoma protein with human D cyclins. *Cell* 1993; 73: 499-511.
22. Easton D, Peto J. The contribution of inherited predisposition of cancer incidence. *Cancer Serv* 1990; 9: 395-415.
23. El-Diery WS, Tokino T, Valculescu VE, et al. WAF-1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell* 1993; 75: 817-25.
24. Eng C, Ponder BAJ. The role of gene mutations in the genesis of familial cancers. *FASEB J* 1993; 7: 910-19.
25. EORTC Breast Cooperative Group. Revision of the standards for the assessment of hormone receptors in human breast cancer. *Eur J Cancer* 1980; 16: 1313-15.
26. Ewen ME. Functional interactions of the retinoblastoma protein in the mammalian D type cyclins. *Cell* 1993; 73: 487-97.
27. Fidler IJ. Origin and biology of cancer metastasis. *Cytometry* 1989; 10: 673-80.
28. Fidler IJ, Ellis LM. The implications of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis. *Cell* 1994; 79: 185-8.
29. Fishel R, Lescoe MK, Rao MRS, et al. The human mutator gene homolog MSH2 and its association with hereditary nonpolyposis colon cancer. *Cell* 1993; 75: 1027-38.
30. Fong D, Chan MY, Hsieh WT. Gene mapping of human cathepsins and cystatins. *Biomed Biochim Acta* 1991; 50: 595-8.
31. Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW et al. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4533-7.
32. Gallie BL. Retinoblastoma gene mutations in human cancer. *New Eng J Med* 1994; 330: 786-7.
33. Graeber TG, Osmanian C, Jacks T et al. Hypoxia mediated selection of cells with diminished apoptosis potential in solid tumors. *Nature* 1996; 379: 88-91.
34. Hart IR. Biology of tumour metastasis. *Lancet* 1992; 339: 1453-57.
35. Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle control and cancer. *Science* 1994; 266: 1821-7.
36. Hartwell LH, Kastan MB. Cell cycle control and cancer. *Science* 1994; 266: 1821-8.
37. Henderson S, Rowe M, Gregory C et al. Induction of bcl-2 expression by Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 protects infected B cells from programmed death. *Cell* 1991; 65: 1107-15.
38. Hengst L, Dulić V, Slingerland JM, et al. A cell cycle-regulated inhibitor of cyclin-dependent kinases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 5291-5.
39. Hillard JW, Keyser KW, Newcombe RG. Biochemical aids to the staging of breast cancer. *Clin biochem* 1982; 99:37-41.
40. Hiyama K, Hiyama E, Yokoyama T, et al. Correlating telomerase activity levels with human neuroblastoma outcomes. *Nature Med* 1995; 1: 249-55.
41. Humphries MJ, Olden KM. A synthetic peptide from fibronectin inhibits experimental metastasis of murine melanoma cells. *Science* 1986; 233: 467-70.
42. Hunter T. Cooperation between oncogenes. *Cell* 1991; 64: 249-70.
43. Hunter T, Pines J. Cyclins and Cancer II: Cyclin D and CDK inhibitors come of age. *Cell* 1994; 79: 573-82.
44. Kastan MB, Zhan Q, El-Diery WS, et al. A mammalian cell cycle checkpoint pathway utilizing p53 and GADD45 is defective in ataxia teleangiectasia. *Cell* 1992; 71: 587-97.
45. Karp JE, Border S. Molecular foundation of cancer: New targets for inventions. *Nature Med* 1995; 1: 309-20.
46. Kato J, Matsuoka M, Polyak K, et al. Cyclic AMP induced G1 phase arrest mediated by an inhibitor (p27 kip1) of cyclin dependent kinase 4 activation. *Cell* 1994; 79: 487-96.
47. Kim CM, Koike K, Saito I, et al. The HBx gene of the hepatitis B virus induced liver cancer in transgenic mice. *Nature* 1991; 351: 317-20.
48. Kim NW, Piatyszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 1994; 266: 2011-15.
49. Klein B, Klein T, Figer A, et al. Soluble histocompatibility antigen class I in breast cancer patients in relation to tumor burden. *Cancer* 1991; 2295-9.
50. Klein G. Genes that can antagonize tumor development. *FASEB J* 1993; 7: 821-4.
51. Knight CRL, Rees RC, Griffin M. Apoptosis: A potential role for cytosolic transglutaminase and its importance in tumor progression. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1096: 312-8.

52. Knudson AG. All in (cancer) family. *Nature Genetics* 1993; 5: 103-4.
53. Knudson AG. Mutation and cancer: Statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971; 68: 820-3.
54. Koch AE, Halloran MM, Haskell CJ, et al. Angiogenesis mediated by soluble forms of E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1. *Nature* 1995; 376: 517-9.
55. Kovač Z. The molecular aspects of antigen presentation to T lymphocytes. *Period Biolog* 1988; 90: 3-10.
56. Kovač Z. Imunopredočavanje antigena limfocitima T u pokretanju imunskog odgovora. *Med Vjesn* 1990; 22: 7-16.
57. Kovač Z, Schwartz RH. The nature of the immune response (IR) gene defect for pigeon cytochrome c in /B 10.A(4R) X B 10.PL/F1 mice. A comparison between thymic selection and antigen presentation. *Internat Immunol* 1989; 1-9.
58. Kovač Z. Smrt stanice. U *Patofiziologija*, urednici: Gamulin S, Marušić M i Krvavica S; Medicinska naklada Zagreb, 1995; 80-4.
59. Landis CA, Masters SB, Spada A, et al. GTPase inhibiting mutations activate the α chain of Gs and stimulate adenylyl cyclase in human pituitary tumors. *Nature* 1989; 340: 692-6.
60. Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991; 351: 453-6.
61. Liotta LA et al. Cancer metastasis and angiogenesis: An imbalance of positive and negative regulation. *Cell* 1991; 64:327-36.
62. Liseovitch M, Cantley LC. Lipid Second messenger. *Cell* 1994, 77: 329-34.
63. Litwin V, Gumperz J, Parham P, et al. Specificity of HLA class I antigen recognition by human NK clone: Evidence for clonal heterogeneity, protection by self and nonself alleles and influence of the target cell type. *J Exp med* 1993; 178: 1321-36.
64. Luft R, Landau BR. Mitochondrial medicine. *J Intern Med* 1995; 238: 405-21.
65. Lyons J, Landis CA, Harash G et al. Two G protein oncogenes in human endocrine tumors. *Science* 1990; 249: 655-9.
66. Malkin D, Li FP, Strong LC, et al. Germ line p53 mutations in familial syndrome of breast cancer, sarcomas and other neoplasms. *Science* 1990; 250: 1233-8.
67. Malnati MS, Peruzzi M, Parker KC, et al. Peptide specificity in the recognition of MHC class I by Natural killer clones. *Science* 1995; 267: 1016-8.
68. Marshall JC. Tumor suppressor genes. *Cell* 1991; 64: 313-26.
69. McCromick F. Gasp: Not just another oncogene. *Nature* 1993; 340: 678-9.
70. McDonnell TJ et al. Progression from lymphoid hyperplasia to high grade malignant lymphoma in mice transgenic for the t(14;18). *Nature* 1991; 349:254-6.
71. McGuire WL, Clark GM, Fisher ER, et al. Predictive recurrence and survival in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1987; 9: 27-38.
72. Mehle C, Patyszek MA, Ljungberg B, et al. Telomerase activity in renal cell carcinoma. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1995; 36: abstract 3309.
73. Mignatti P, Rifkin DB. Biology and biochemistry of proteinases in tumor invasion. *Physiol Rev* 1993; 73: 161-95.
74. Mockley-Rosen D. Localization of protein kinases by anchoring proteins: A theme in signal transduction. *Science* 1995; 268: 475-70.
75. Morgan DO. Principles of cdk regulation. *Nature* 1995; 374: 131-4.
76. Morin GB. The human telomere terminal transferase enzyme is a ribonucleoprotein that synthesizes TTAGGG repeats. *Cell* 1989; 59: 521-9.
77. Moyzis RK, Buckingham JM, Cram LS, et al. A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)_n, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 6622-6.
78. Murray A. Cyclin ubiquitination: The destructive end of mitosis. *Cell* 1995; 81: 149-52.
79. Mudry M, Devoto SH, Hiebert SW et al. Cell cycle regulation of the E2F transcription factor involves an interaction with cyclin A. *Cell* 1991; 65: 1243-53.
80. Nishimura S, T Sekiya. Human cancer and cellular oncogenes. *Biochem J* 1987; 243:313-327.
81. Pawson T. Protein modules and signal networks. *Nature* 1995; 373: 573-9.
82. Peter M, Herscovitz. joining the complex: Cyclin dependent kinase inhibitory proteins and the cell cycle. *Cell* 1994; 79: 181-4.
83. Pouletty P, Feronne S, Amesland F et al. Summary report from the first international workshop on soluble HLA antigens. Paris, August 1992. *Tissue Antigens* 1993; 42: 45-54.
84. Rabbitts TH. Chromosomal translocations in human cancer. *Nature* 1994, 372: 143-9.
85. Ray CA, Black RA, Kronheim SR et al. Viral inhibition of inflammation: Cowpox virus encodes an inhibitor of the interleukin-1 β converting enzyme. *Cell* 1992; 69: 597-604.
86. Rhyu MS. Telomeres, telomerase and immortality. *J Natl Canc Inst* 1995; 87: 884-94.
87. Rouslahti E, Pierschbacher MD. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science* 1987; 238: 491-7.
88. Scudiero DA. Decreased DNA repair synthesis and defective colony forming ability of ataxia teleangiectasia fibroblast cell strain treated with N-methyl-N-nitrosoguanidine. *Cancer Res* 1980; 40: 948-90.
89. Sherr CJ. Mammalian G1 cyclins. *Cell* 1993; 73: 1053-65.
90. Sinclair AJ, Barnet AH, Lunec J. Free radicals and antioxidant systems in health and diseases. *Br J Hosp Med* 1990; 43: 334-44.
91. Slebos RJ, Lee MH, Plunket BS, et al. p53 dependent G1 arrest involves pRB-related proteins and is disrupted by the human papilloma virus 16 E7 oncoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 5320-4.
92. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biological reactions. *Majo Clin Proc* 1988; 63:381-9.

93. Stadtman ER. Covalent modification reactions are marking steps in protein turnover. *Biochemistry* 1990; 29: 6324-31.
94. Spyrtos F, Brouillet JP, Defrenne A, et al. Cathepsin D: An independent prognostic factor for metastasis of breast cancer. *Lancet* 1989; 1115-8.
95. Tanaka K et al. Role of major histocompatibility complex class I antigens in tumor growth and metastases. *Ann Rev Immunol* 1988; 6: 359-80.
96. Tanka K et al. Xeroderma pigmentosum and nucleotide excision repair of DNA. *TIBS* 1994; 19: 83-7.
97. Teasdale C, Mander R, Fifield R, et al. Serum beta-2 microglobulin in controls and cancer patients. *Clin Chem Acta* 1977; 78:135-43.
98. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267: 1456-62.
99. Ueda H, Ulrich SJ, Gangemi JD, et al. Functional inactivation but not structural mutation of p53 causes liver cancer. *Nature Genetics* 1995; 9: 41-6.
100. Wallace DC. Diseases of the mitochondrial DNA. *Annu Rev Biochem* 1992; 61: 1175-212.
101. Wang Z, Cao Y, Albino AP, et al. Lack of class I antigen expression by melanoma cells SK-MEL-33 caused by reading frameshift in beta-2 microglobulin messenger RNA. *J Clin Invest* 1993; 91: 684-92.
102. Weinder N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis-corelation in invasive breast carcinoma. *New Eng J Med* 1991; 324:1-8.
103. Wooster R, Clenton-Jansen AM, Mangion N, et al. Instability of short tandem repeats (microsatellites) in human cancers. *Nature Genet* 1994; 6: 152-5.
104. Zetter BR. The cellular basis of site-specific tumor metastasis. *New Eng J Med* 1990; 322:605-12.

Abstract

THE MOLECULAR AND CELLULAR PATHOGENESIS OF TUMOR GROWTH AND DEVELOPMENT

Zdenko Kovač

Institute of Pathophysiology Medical Faculty, University Zagreb

Molecular and cellular basis of pathophysiological mechanisms of tumor growth have been discussed in the paper. Long before clinical tumor appearance cells undergo various molecular alterations, some of which might have a pathogenic role in the tumor development. Genome instability is the first prerequisite step in the development of tumor. Due to physical, chemical and biological environmental influences, as well as endogenous disorders, such as increased oxidative stress and inherited errors of repair mechanisms, somatic cell might acquire a tumor cell phenotype. Activation of protooncogenes, inhibition of apoptosis and loss of antioncogene function are potential molecular mechanisms of cell immortalisation. In

addition, some viral proteins interfere with the cellular regulatory processes, producing therewith the malignant alteration of the host cell. Tumor cell survival is faced with genomic, immune defence and energy barriers in the host. An extensive cellular loss contributes to slow growth kinetics of the tumor. Those host barriers are a strong selective pressure, due to which tumor cells survival and expansion depends on the activation of multiple, very often parallel, pathogenic molecular mechanisms. The synthesis of selective proteolytic enzymes, expression of tissue homing receptors, as well as the expression of certain enzyme inhibitory molecules, seem to be the critical molecular events which contribute to the metastatic potential of tumor cells. Molecular aspects of tumor inheritance as well as some molecular differences of benign and malignant neoplasms are discussed in the paper.

Key words: pathophysiology, tumor growth