

**Pregledni članak**

**ACTA FAC.MED.NAISS.2002; 19 (1) , 12-18**

Dušica Pavlović, Gordana Kocić, Vidosava Đorđević  
Biohemijski institut, Medicinski fakultet, Niš

# **ĆELIJSKA SIGNALIZACIJA U KONTROLI ĆELIJSKOG CIKLUSA, APOPTOZE I MALIGNE TRANSFORMACIJE**

## **UVOD**

Kontrola ćelijske signalizacije predstavlja osnovni mehanizam u održavanju homeostaze u celini koja obezbeđuje adaptaciju na promenjene uslove sredine, sinhronizovanost, svrsishodnost i ekonomičnost ćelijskog metabolizma. Proces prenosa signala kroz ćelije ostvaruje se zahvaljujući visokospe-cijalizovanim sistemima ćelije, koji integrišu, prenose i amplifikuju vanćelijske informacije sadržane u hemijskim signalima. Signalni molekuli su najčešće prirodni produkti ćelije (endokrini hormoni, neuro-transmiteri, parakrini i autokrini hormoni) ili sintetski produkti. Identifikacija molekularnih signala, regulacija njihovog prenošenja i amplifikacija efekata ostvaruje se kroz sadejstvo i interakciju različitih membranskih i citozolskih proteina. Svi signalni putevi na pojedinim nivoima prenosa informacije koriste nekonvalentnu protein-protein interakciju ili kovalentnu modifikaciju proteina (fosforilaciju). Otuda se posttranslaciona modifikacija proteina može smatrati ključnim događajem u ćelijskoj signalizaciji. Proces prenosa signala kroz ćeliju podrazumeva sledeće faze:

- sintezu signalnog molekula,
- oslobađanje biološki aktivnog molekula iz ćelija,
- transport do mesta delovanja,
- detekciju signalnog molekula od strane specifičnih receptora,
- odgovor unutar ćelije,
- terminaciju signala.

Signalni molekuli formiraju specifičan kompleks sa receptorima tako da ova interakcija liganada i receptora podseća na enzim-supstrat interakciju. Nakon vezivanja signalnog molekula za aktivno mesto receptora, prenos informacije se obavlja kroz regulatornu kaskadu koju čine različiti membranski i intraćelijski proteini. Sekvencionalnom interakcijom ovih proteina dobijena informacija se prevodi na jezik sekundarnog glasnika koji najčešće inicira kaskadnu fosforilaciju citozolarnih proteina od kojih mnogi predstavljaju faktore transkripcije odgovorne za regulaciju ekspresije gena.

## **ĆELIJSKA SIGNALIZACIJA U FIZIOLOŠKIM PROCESIMA**

Intracelularni putevi signalizacije funkcionišu kao dobro uigrana ekipa gde svaki učesnik po tačno utvrđenom redosledu predaje signal sledećem, sve do konačnog krajnjeg

"target" učesnika u kaskad-nom nizu, koji pokreće odgovor na dati signal. Target efektori mogu biti: odgovarajući enzim, najčešće regulatorni enzim nekog metaboličkog puta, tran-skripcioni faktori ili jonski kanali.

Dosadašnja saznanja o prenošenju signala koncipirana su na dobro poznatoj strukturi receptora, kao i funkciji sekundarnih mesengera i manje poznatim efektorima, koji u interakciji sa sekundarnim glasnicima pokreću odgovor ćelije na dati signal. Najveći broj signalnih molekula zbog svoje hi-drofilne prirode (proteinski hormoni, faktori rasta, neurotransmiteri, medijatori ćelijskog proinflama-tornog i imunog odgovora) ne prolazi ćelijsku membranu, već vezujući se za receptore na njenoj površini indirektno regulišu aktivnost intracelularnih proteina. Manji broj signalnih molekula, zbog svoje rastvorljivosti u lipidima, (steroidni hormoni, NO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), lako prolazi kroz ćelijsku membranu i direktno reaguje sa target proteinima u citozolu tj. jedru. Na ćelijske receptore otpada manje od 0,01 % ukupne mase proteina ćelije. Prema funkciji tj. načinu prenosa signala receptorni proteini se mogu svrstati u tri klase:

- receptori vezani za jonske kanale
- receptori vezani za enzime i
- receptori vezani za G- protein

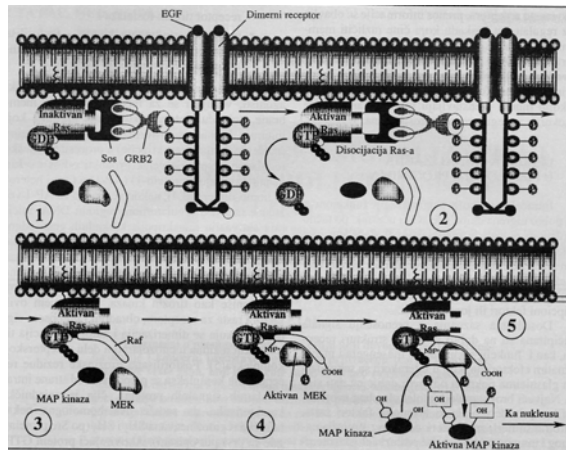
U ćelijama eukariota postoji najmanje 5 klasa različitih receptor-enzimskih kompleksa, gde enzimi mogu biti strukturne komponente receptora ili receptori asociraju sa enzimima (1,2):

- receptor guanil ciklaze - u interakciji sa ligandima dovodi do porasta cGMP u citozolu
- receptor tirozin kinaza - vrši forilaciju specifičnih tirozinskih rezidua intracelularnih signalnih proteina
- receptor udružene tirozin kinaze - asocira sa proteinima koji imaju tirozin kinaznu aktivnost
- receptor tirozin fosfataza i
- receptor serin/treonin kinaze - fosforiliše specifične serinske ili treoninske rezidue intracelularnih proteina.

Mnogi faktori rasta, citokini i drugi fiziološki agonisti, vezujući se za receptore ćelijske membrane, pokreću sintezu sekundarnih glasnika koji iniciraju kaskadnu fosforilizaciju target proteina (najčešće faktora transkripcije) u procesu fiziološke regulacije ekspresije gena. Produkti c-Fos i c-Jun gena (aktivirajući protein-1) (AP-1) u formi hetero-ili homodimera (3,4), nakon vezivanja za AP-1 ve-zujuće mesto u regulatornom regionu DNA, iniciraju aktivaciju transkripcije kaskadnih gena odgovornih za uvođenje ćelije u S fazu ćelijskog ciklusa. Drugi faktori rasta kao što su epidermalni faktor rasta (EGF) i insulinu sličan faktor rasta (IGF), slično receptom insulina poseduju deo na receptom koji funkcioniše kao tirozin kinaza. Vezivanjem ovih faktora rasta za receptore, obradom i prenosom signala indukuje se dimerizacija i autofosforilacija tirozinskih rezidua u citozolarnom delu receptorskog kompleksa(5). Fosforilisane tirozinske rezidue receptorskih kompleksa se prepoznaju od strane intracelularnih signalnih proteina, čija je zajednička karakteristika da sadrže dva homologna neka-talitička regiona nazvana SH<sub>2</sub> i SH<sub>3</sub> (po Src proteinu gde su prvi put opisani). Aktivirajući protein GTP-azne aktivnosti Ras proteina, fosfolipaza C-g 1 i Src-protein kinaza sadrže tirozinske residue (6). Za aktivirane tirozinske receptore vezuju se i drugi intracelularni proteini adapteri koji takođe sadrže SH<sub>2</sub> tj, SH<sub>3</sub> regione.

Ras protein ostvaruje ključnu vezu u intracelularnoj signalnoj kaskadi aktivisanoj receptorom tirozin kinaze. Ras familija predstavlja monomerene intracelularne proteine koji poseduju GTP-aznu aktivnost. Za aktivirane fosfotirozinske ostatke receptorskog kompleksa se najpre vezuje jedan molekul -adapter (GRB<sub>2</sub>), koji za sebe vezuje Sos

protein a ovaj se dalje kompleksira sa p21 ras proteinom(slika 1). Sos protein stimuliše zamenu GDP-a sa GTP-om na guanozin nukleotid vezujućem mestu Ras proteina, čime se pokreće enzimska kinazna kaskada reakcija. Aktivacija Ras proteina stimulisana receptorom tirozin kinazom na citosmolarnoj strani re-ceptorskih kompleksa je signal koji kratko traje. De-fosforilacija tirozinskih rezidua se vrši pod dejstvom specifičnih fosfataza a aktivirani Ras inaktivira sebe samog hidrolizom GTP u GDP. Za regulaciju dugoročnih procesa kao što su rast i diferencijacija potrebno je da se kratkoživeći signali prevedu u dugotrajnije, koji dalje posreduju u prenosu signala u jedro. Aktivirani Ras protein vezuje za sebe Raf protein koji poseduje serin/treonin tiroznu aktivnost (1,2). Raf zatim vezuje i fosforiliše druge kinaze



nazvane MEK, koje mogu fosforilisati ili serinske ili tirozinske ostatke. MEK kinaze aktiviraju MAP kinaze (za mikrotubule asociirane proteine ili mitogenom aktivirane proteine). MAP kinaze predstavljaju grupu specifičnih kinaza za čiju je potpunu aktivaciju potrebna fosforilacija i treoninskih i tirozinskih ostataka u enzimu. Unutar ove grupe enzima izdvajaju se: 1) ERK kinaze (ekstracelularnim signalima regulisane kinaze); 2) JNK kinaze (c-Jun N-terminalne kinaze) i p38 kinaze. JNK kinaze obuhvataju i nekoliko formi stres-aktivirajućih protein kinaza (SAPK). Faktor tumorske nekroze (TNF) indukuje SAPK aktivacijom kaskadnog sistema kinaza koji je sličan MAPK kaskadi. Međutim, za razliku od MAPK kaskade, TNF-inducibilna SAPK kaskada ne zahteva aktivaciju Ras-a ili Raf-a. ERK kinaze se smatraju odgovornim za signalizaciju koju ostvaruju faktori rasta (7). Aktivacija ERK kinaza čini zadnju kariku MAP kinaznog kaskadnog sistema, odgovornog za fosforilaciju različitih citozolarnih i nuklearnih proteina, koji najčešće predstavljaju faktore transkripcije ili proteine koji su sa njima asociirani.

Produkti Ras gena su odgovorni za kontrolu i modulaciju puteva prenosa signala u procesu

ćelijskog rasta, diferencijacije i maligne transformacije. Ras gen koduje familiju proteina molekulske mase oko 21kda. Protein - produkt Ras gena (p21 ras) poseduje region koji je homologan sa sekvencom  $\alpha$ -subjedinice G proteina, slično  $\alpha$ -subjedinici vezuje guanin nukleotide i poseduje GTP-aznu aktivnost čime učestvuje u kontroli kratkoročnih i dugoročnih odgovora ćelije u fiziološkim uslovima. Hemijski kancerogeni agensi, kao i onkogeni virusi često dovode do mutacije ovog protoonkogena (8). Najčešće je alterisan Ras gen na 12-om kodonu, zbog čega ras-onkogen protein ne poseduje GTP-aznu aktivnost, što za posledicu ima produženo trajanje signalizacije i dalje "pobuđivanje" kaskadne fosforilacije u prenosu signala sa membrane ćelije u jedro.

#### PROTOONKOGENI I TUMOR SUPRESOR GENI U KONTROLI GENETSKE STABILNOSTI I PROMOCIJI KANCEROGENEZE

Najnoviji podaci (9-11) ukazuju da je hiperekspresija i aktivacija određenog dela puta prenosa

signala kroz ćeliju, generalno prihvaćena teorija kancerogeneze nezavisno da li su primarno delovali genotoksični ili negenotoksični agensi. Vrednost ovih studija leži u

činjenici da one predstavljaju osnovu mnogih laboratorijskih istraživanja, koja ispituju molekularne mehanizme kancerogeneze na osnovu kojih je moguće odrediti dobru strategiju i ustanoviti nove terapijske mogućnosti u lečenju kan-cera.

Kancerogeneza predstavlja kompleksan proces u kome delovanjem genotoksičnih i negeno-toksičnih agenasa dolazi do poremećaja u kontroli normalnog ćelijskog rasta, diferencijacije i deobe ćelija sa tendencijom rasta karakterističnih klonova prekancerogenih i kancerogenih ćelija. Ove ćelije izgubivši kontrolu prijema, obrade i prenosa signala predstavljaju genetski nestabilne klonove u kojima neefikasno funkcionišu faktori koji determinišu specifičnu i nespecifičnu antitumorsku aktivnost. Kancerogene ćelije beskonačnom deobom postaju autonomne, što se često označava kao njihovo "asocijalno ponašanje". U maligno-alterisanim ćelijama, najčešće dolazi do disfunkcije normalnih morfo-genih karakteristika, kao što su: gubitak kontaktne inhibicije u toku reprodukcije, kompetencija proliferativnog rasta, promene adhezije interakcije i pokretljivosti. Stimulacija neovaskularizacije omogućava snabdevanje malignih ćelija hranljivim materijama i njihovo preživljavanje. Maligne ćelije poseduju sledeće karakteristike (5,12):

- Klonalno poreklo - sve kancerske ćelije potiču od matične tumorski izmenjene ćelije, koja proliferacijom daje klon malignih ćelija
- Autonomnost - rast malignih ćelija nije pod kontrolom regulacionih mehanizama okoline ćelija
- Anaplazija - pojava gubitaka koordinisane ćelijske diferencijacije
- Metastaziranje - sposobnost kancerskih ćelija za neprekidan rast i razmnožavanje, kao i rasejavanje u sve delove tela.

Na osnovu mehanizma delovanja svi agensi-prediktori kancerogeneze mogu biti svrstani u geno-toksične i negenotoksične. Genotoksični efekti nastaju direktnim delovanjem neke supstance ili njenog metabolita nad genom, tj. DNK ćelije. Oni izazivaju mutacije DNK lanca. Iz toga proizilazi široko zastupljen stav da je najveći broj mutagena kancero-gen. Klasa negenotoksičnih kancerogena podrazumeva materije koje ne reaguju sa DNK već su stimulatori proliferacije, a poznati su kao mutogeni (stimulišu proliferaciju ćelija koje su u mirovanju), kao i grupu supstanci poznatu kao citotoksini, koji izazivaju regenerativnu ili reparativnu proliferaciju ćelije. No ova podela ipak nije rigidna, budući da mutageni u većim dozama ispoljavaju i proliferativne efekte, dok su citotoksični efekti neretko praćeni lezijama genoma, tj. mutacijama (2,5). Ćelijska proliferacija je integralni deo karcinogeneze jer daje veću mogućnost prenosa "pogrešnog" genetskog materijala.

Brojni eksperimentalni i klinički podaci (13-15) podržavaju hipotezu Berenlum-a da se većina tumora razvija u više faza: inicijacija, promocija i progresija. Indukcija mutacija i klonalni rast premalignih ili malignih ćelija predstavlja kritičan događaj u pomenutim fazama.

Inicijacija predstavlja inicijalni, tj. rani događaj u karcinogenezi koji predisponira ćeliju na malignu alteraciju. Ona najčešće podrazumeva kovalentnu modifikaciju DNK usled delovanja kancerogena koja dovodi do izmene genetski kontrolisanog programa proliferacije. Ukoliko nije došlo do reparacije, u procesu replikacije nastaju ireverzibilne promene. Maligna transformacija rezultat je višestrukog nakupljanja mutacija specifičnih gena. Rak se razvija kada se u ćelijama, tokom niza godina, nakupi veći broj mutacija. Dve vrste gena, koje čine samo mali deo ukupnog genoma čoveka, imaju ključnu ulogu u nastanku raka. Oni kontrolišu deobu i diferencijaciju ćelija. Genetske aberacije uslovljene fizičkim, hemijskim i biološkim agensima u kumulativnom dejstvu dovode do oštećenja - mutacija u protoonkogenima ili supresor genima (antionkogenima), koji

kontrolišu funkciju protoonkogeni i deluju kao balanseri u procesu mutacije protoonkogeni u onkogen. Aktivirani onkogeni u diferentovanoj ćeliji mogu izazvati malignu transformaciju. Poznato je da onkogeni nastaju konverzijom normalnih ćelijskih gena-protoonkogeni, koji su uključeni u procese regulacije ćelijskog ciklusa. Tumor-supresorni geni predstavljaju antionkogene, tj. ćelijske gene čija inaktivacija povećava verovatnoću formiranja tumora. Često se nazivaju i recesivni tumorski geni, s obzirom da njihova aktivacija zaustavlja tumorski rast (12,17). Do sad je otkriveno oko stotinu potencijalnih onkogeni (ćelijskih i virusnih), kao i dvanaest tumor-supresornih gena. Najpotentniji su-presorni regulatorni gen je p53, koji se aktivira u uslovima oštećenja DNK, hipoksije, kao i permanentne mitogene stimulacije (18). Smanjena funkcija p53 supresora odgovorna je za veću verovatnoću proliferacije, spontane genetske abnormalnosti (promene broja, prekida i rekombinacija hromozoma), kao i amplifikacije gena (12,18). Gen p53 naziva se stoga čuvarom genoma. Najčešće je mutacija p53 antionkogeni izazvana transverzijom G:C-T:A. Ova supstitucija može biti izazvana 8-hidroksi guaninom (8oxoG) čije stvaranje indukuje hidrok-silniradikal (12,19).

Neke od mutacija protoonkogeni ili tumor-supresornih gena mogu biti odgovorne za narušavanje balansa između ćelijskog rasta i programirane ćelijske smrti (apoptoze), što predstavlja dodatni faktor strukturne i funkcionalne destabilizacije ćelijske homeostaze (20). U normalnim uslovima p53 gen stimuliše ekspresiju specifičnog p21 gena, čiji produkti intenzivirajući oksidativni stres, izazivaju promene na membrani mitohondrija i jedra, što rezultira aktivacijom kaspaza, i inicijacijom apoptoze. Disregulacija aktivnosti ovog tumor-supresor gena dovodi do gubitka pozitivne regulacije apoptoze, što ćeliju uvodi u kontinuiranu proliferaciju.

Hiperekspresija i/ili mutacija receptora epi-dermalnog faktora rasta (EGF) - (erbB1 i erbB2 i erbB3) otkrivena je u mnogim kancerskim ćelijama epitelijalnog porekla. Ovaj faktor rasta poseduje receptor tirozin kinazu čija aktivacije biva prosleđena preko Ras proteina, fosfatidilinozitol 3-kinaze, fosfolipaze Cg, protein tirozin fosfataze i Src tirozin kinaze na MAP kinazni put čija hiperekspresija dovodi do promene fenotipa i razvoja kancera (21,22). Nedavno je pokazano da je aktivacija MAP kinaznog puta odgovorna za neo-angiogenezu tumora pluća kao preduslov njegovog rasta i metastaziranja. Alteracija K-ras i c-mos onkoproteina, koji predstavljaju okidače za hiperekspresiju MAPK, u direktnoj je korelaciji sa stepenom angiogeneze tumora kao i sa sintezom vaskularnog endotelijalnog faktora rasta (VEGF) (23).

#### INFEKTIVNI AGENSI KAO UZROČNICI ALTERACIJE PROCESA PRENOSA SIGNALA - TARGET MESTA U KANCEROGENEZI

Iako se o biološkoj kancerogenezi raspravlja poslednjih stotina godina, tek su zadnjih desetak godina prikupljeni materijalni dokazi o tome da virusi, bakterije pa i paraziti mogu biti povezani sa nastankom i razvojem raka. Najčešći uzročnici raka su DNK-virusi. Skoro više od 20% svih zloćudnih tumora razvija se u procesu onkogene kolaboracije većeg broja genetskih i epigenetskih faktora gde ključnu ulogu ostvaruju virusi. Tako se npr. karcinom jetre povezuje s virusom hepatitisa B (HBV), leukemije T-ćelija s virusom HTLV-1, karcinom vrata materice s virusom papiloma (HPV), a Burkitt-ov limfom ili nazofaringealni karcinom s Epstein-Barrovim virusom (EBV) (24). Papiloma virusi čoveka čine veliku skupinu epiteliotropnih virusa, gde je većina tipova HPV-a odgovorna za nastanak dobroćudnih tumora, no izvestan broj u sadejstvu sa složenim genetskim i epi-genetskim faktorima (npr. imunološki i hormonski status, genetsko nasleđe) dovodi do maligne altera-

cije normalnih ćelija (25). Gotovo svi tipovi HPV-a imaju slični genom sastavljen od cirkularne dvo-lančane DNK dužine 7,9 Kb. Regije gena E<sub>1</sub>-E<sub>7</sub> kodiraju proteine uključene u održavanje i preživljavanje virusa. Produkti gena E6/E7 HPV-a stvarajući komplekse s normalnim ćelijskim proteinima uključenim u proces prenosa signala dovode do njihove inaktivacije, što s druge strane otvara put u kancero-genezu. Tako npr. E<sub>7</sub> stvara kompleks s produktom gena Rb, negativnim regulatorom ćelijskog rasta. Gubitak aktivnosti gena Rb rezultira malignom transformacijom (26). Protein E<sub>6</sub> stvara kompleks s drugim supresorskim proteinom - produktom gena p53. Značajno manja količina p53 u ćelijama u kojima je prisutan aktivni virusni protein E<sub>6</sub> predhodi malignoj transformaciji (27).

Virus hepatitisa B prisutan u hepatocitima, zajedno sa drugim genetskim promjenama, značajno ubrzava proces nastanka karcinoma jetre. Genom virusa čine četiri glavna strukturalna gena - S, C, X i P. Produkt X-regije funkcionira kao regulator transkripcije (28). Produkt X-gena, izgrađen od 154 aminokiseline, deluje kao faktor transkripcije posredno, aktiviranjem protein kinaze C i Raf-1 kinaze (29), čija hiperekspresija rezultira kaskadom prenosa signala zavisnih od faktora rasta. Na taj način produkt X-gena HBV-a oponaša funkciju tumorskih promotora kao što su forbol estri.

#### ĆELIJSKA SIGNALIZACIJA - NOVA MOGUĆNOST I STRATEGIJA U TERAPIJI KANCERA

Najveći broj onkogeni i tumor supresorskih gena predstavljaju normalne komponente signalnih puteva ćelije koji kontrolišu ćelijski ciklus, apoptozu, integritet genoma, morfogenezu i diferencijaciju. Istovremeno promene u ovim signalnim putevima iniciraju razvoj kancera. Kako iskoristiti ova saznanja u sprečavanju i lečenju malignih tumora uzrokovanih hemijskim i biološkim agensima? Razvoj lekova specifično usmerenih na aktivnost onkoproteina može učiniti ćelije tumora osetljivim na imunološki i genetski nadzor, što predstavlja novu strategiju lečenja. Od posebnog interesa bila bi primena farmakoloških inhibitora MAPK puteva ćelijske signalizacije (30), posebno za one vrste kancera gde je prisutna hiperekspresija ovih signalnih proteina (9-11).

U slučajevima kada ćelije raka sadrže onko-geni virus isti može biti upotrebljen kao dobar antigen za različite oblike imunološkog ili genetskog lečenja. Tako npr. inhibicija regije Efi/E, HPV-a može povratiti transformisani fenotip ćelija karcinoma zaraženih HPV-om u normalni fenotip (31).

Primena nesteroidnih antiinflamatornih leko-va (NSAID) u terapiji kancera kod ljudi zasnovana je na inhibiciji MAPK (ERK2) puta koji predstavlja target mesto u aktiviranju inhibicije proliferacije i rasta kancera (32). Lek sulindac iz iste grupe inhibira Ras/Raf zavisnu transaktivaciju, nekovalentnim vezivanjem za p21Ras, što sprečava interakciju p21Ras proteina sa p21Ras vezujućim mestom na Raf proteinu, čime se prekida dalji kaskadni prenos signala na MEK i MAP kinazni put (33).

Brojni podaci (13,14,34-36) sugerišu da posebno mesto u genezi kancera pripada delovanju slobodnih radikala u svakoj od faza kancerogeneze, gde radikali ili njihovi oksidativno modifikovani produkti čine integralne delove u kaskadi transduk-cije signala do efektoru u fiziološkim uslovima.

Međutim, aktiviranjem kritičnih senzornih mesta u signalnim putevima mogu uticati na ćelijsku proliferaciju, promenu fenotipa, apoptozu i kancerogenezu. S toga ne iznenađuju nastojanja da se definišu terapijske indikacije primene antioksidanata u mnogim imunološkim, inflamatornim i malignim bolestima. Nedavno objavljeni podaci ukazuju na mogućnost primene silimarina i silibina u terapiji tumora kože i prostate, gde ovi flavonoidi inhibiraju aktivaciju ERB1 receptora (37,38). Primena antioksidanata

glutationa (39), melatonina (40), a i b toko-ferola (41), selena (42) i vitamina C (43) takođe se bazira na inhibiciji puteva ćelijske signalizacije čija je alteracija i hiperekspresija jedan od uzročnika u složenoj multifaktorijskoj onkogenoj kaskadnoj klaboraciji u procesu kancerogeneze.

#### LITERATURA

1. Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J.D. U: *Molecular Biology of the cell*, Garland Publishing, Inc. New York & London, 1994, 721-786.
2. Ikić D., Pavelić K., Spaventi R. *Onkogeni i faktori rasta*. Zagreb: Globus/JAZU; 1989.
3. Curran T. Fos and Jun: oncogenic transcription factors. *Tohoku J Exp Med* 1992; 168: 169-174.
4. Forrest D., Curran T. Crossed signals: oncogenic transcription factors. *Curr Opin Genet Dev* 1992; 2:19-27.
5. Pavelić K., Spaventi R. *Molekularna onkologija*. Zagreb: Globus/HAZU; 1992.
6. Bernstein KE., Ali MS., Saveski PP., Semeniuk D., Marrero MB. New insights into the cellular signaling of seven transmembrane receptors: the role of tyrosine phosphorylation. *Lab Invest* 1998; 78:3-7.
7. Diehl AM., Rai RM. Regulation of signal transduction during liver regeneration. *FASEB J* 1996; 10: 215-227.
8. Lander HM., Ogiste JS., Teng KK., Novogrodsky A. p21 as a common signaling target of reactive free radicals and cellular redox stress. *J. Biol. Chem.* 1995; 270:21195-21198.
9. Sivaraman VS., Wang H., Nuovo GJ., Malbon CC. Hyperexpression of mitogen-activated protein kinase in human breast cancer. *J. Clin. Invest.* 1997; 99: 1478-1483.
10. Yu C, Krystal G., Varticovski L., McKinstry R., Rahmani M., Dent P., Grant S. Pharmacologic mitogen-activated protein/extracellular signal-regulated kinase kinase/mitogen-activated protein kinase inhibitors interact synergistically with STI571 to induce apoptosis in Bcr/Abl-expressing human leukemia cells. *Cancer Res* 2002; 62(1):188-199.
11. Arbabi S., Maier RV. Mitogen-activated protein kinases. *Crit Care Med* 2002; 30(1 Suppl):S74-S79.
12. Kopnin BP. Targets of oncogenes and tumor suppressors: key for understanding basic mechanisms of cancerogenesis. *Biochemistry* 2000; 65: 2-27.
13. Sun Y. Free radicals, antioxidant enzymes and carcinogenesis. *Free Radic Biol Med.* 1990; 8: 583-599.
14. Borek C. Free radical processes in multistage carcinogenesis. *Free Radical Res Commun* 1991; 12: 745-750.
15. Ames BN. Dietary carcinogens and anticarcinogens, oxygen radicals and degenerative diseases. *Sciences* 1983; 221: 1256-1264.
16. Berenblum I. The mechanism of carcinogenesis. A study of the significance of carcinogenic action and related phenomena. *Cancer Res* 1941; 1: 807-812.
17. Hollstein M. p53 mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-52.
18. Levine AJ. P53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 1997; 88: 323-31.
19. Cheeseman KH., Beavis A., Esterbauer H. Hydroxyl-radical-induced iron-catalysed degradation of 2-deoxyribose. *Biochem J* 1988; 252: 649-653.
20. Buttkle TM., Sandstrom PA. Oxidative stress as mediator of apoptosis. *Immunol Today* 1994; 15: 1-4.
21. Johnson GL., Vaillancourt RR. Sequential protein kinase reactions controlling cell growth. *Curr Opin Cell Biol* 1994; 6: 230-238.
22. Kapitanović S., Radošević S., Slade N., Kapićtanović M., Anđelinović Š., Ferenčić Ž., Tavassoli M., Spaventi Š., Pavelić K., Spaventi R. Expression of erbB-3 protein in colorectal adenocarcinoma: correlation with poor survival. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000; 126: 205-211.
23. Zacharatos P., Kotsinas A., Tsantoulis P., Evangelou K., Kletsas D., Asimacopoulos PJ., Doussis-Anagnostopoulou I., Pezzella F., Gatter K., Papavassiliou AG, Kitis C, Gorgoulis VG.



- Relationship of the K-ras/c-mos expression patterns with angiogenesis in non-small cell lung carcinomas. *Mol. Med.* 2001; 7(9):590-597.
24. Vousden KH., Farrell PJ. Viruses and human cancer. *Br. Med. Bull.* 1994; 50: 560-581.
  25. Vousden KH. Human papillomaviruses and cervical cancer. *Cancer. Cells.* 1989; 1: 43-49.
  26. Dyson N., Howley PM., Munger K., Harlow I. The human papilloma virus-16E7 oncoprotein is able to bind to the retinoblastoma gene product. *Science* 1989; 243: 934-937.
  27. Scheffner M., Werness BA., Huibregtse JM., Levine AJ., Howley PM. The E6 oncoprotein encoded by human papillomavirus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell* 1990; 63: 1129-1136.
  28. Tur-Kasta R., Burk RD., Shaul Y., Shafritz DA. Hepatitis B virus DNA contains a glucocorticoid-responsive element. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1986; 83: 1627-1631.
  29. Kekule AS., Lauer U., Weiss L., Luber B., Hofschneider. Hepatitis B virus transactivatorHbx uses a tumor promoter signaling pathway. *Nature* 1993; 361: 742-745.
  30. English JM., Cobb MH. Pharmacological inhibitors of Mapk pathways. *Trends Pharmacol Sci* 2002; 23(1):40-45.
  31. Chellappan S., Kraus V., Kroger B., Munder K., Howley PM., Phelps WC. Adenovirus E1A, simian virus 40 tumor antigen, and human papillomavirus E7 protein share the capacity to disrupt the interaction between transcription factor E21 and the retinoblastoma gene product. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992; 89: 4549-4553.
  32. Husain SS., Szabo IL., Pai R., Soreghan B., Jones MK., Tarnavski AS. MAPK (ERK2) kinase - a key target for NSAIDs-induced inhibition of gastric cancer cell proliferation and growth. *Life Sci* 2001; 69(25-26): 3045-3054.
  33. Herrmann C, Block C, Geisen C, Haas K., Weber C, Winde G., Moroy T., Muller O. Sulindac sulfide inhibits Ras signaling. *Oncogene* 1998; 17(14): 1769-1776.
  34. Cerutti TA. Prooxidant states and tumor promotion. *Science* 1985; 227: 375-381.
  35. Troll W., VViesner R. The role of oxygen radicals as a possible mechanism of tumor promotion. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1985; 25: 509-528.
  36. Gopalakrishna R., Jaken S. Protein kinase C signaling and oxidative stress. *Free. Radic. Biol. Med.* 2000;28(9): 1349-1361.
  37. Zi X., Agarwal R. Modulation of mitogen-activated protein kinase activation and cell cycle regulator by the potent skin cancer preventive agent silymarin. *Bio-chem. Biophys. Res. Commun.* 1999; 263(2):528-536.
  38. Sharma Y., Agarwal C, Singh AK., Agarwal R. Inhibitory effect of silibinin on ligand binding to erbB 1 and associated mitogenic signaling, growth, and DNA synthesis in advanced human prostate carcinoma cells. *Mol. Carcinog.* 2001;30(4): 224-236.
  39. Exner R., VVessner B., Manhart N., Roth E. Therapeutic potential of glutathione. *Wien. Klin. Wochenschr.* 2000; 112(14):610-616.
  40. Dai J., Ram PT., Yuan L., Spriggs LL., Hill SM. Transcriptional repression of RORalpha activity in human breast cancer cells by melatonin. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2001; 176(1-2): 111-120.
  41. Breyerl., Azzi A. Differential inhibition by alpha- and beta-tocopherol of human erythroleukemia cell adhesion: role of integrins. *Free. Radic. Biol. Med.* 2001; 30(12):1381-1389.
  42. Fleming J., Ghose A., Harrison PR. Molecular mechanisms of cancer prevention by selenium compounds. *Nutr. Cancer* 2001;40(1):42-49.
  43. Grad JM., Bahlis NJ., Reis I., Oshiro MM., Dalton WS., Boise LH. Ascorbic acid enhances arsenic trioxide-induced cytotoxicity in multiple myeloma cells. *Blood*2001;98(3):805-813.