

PREGLEDNI ČLANCI

EPIGENETIČKI MEHANIZMI KANCEROGENEZE

Ninoslav ĐELIĆ

Fakultet veterinarske medicine u Beogradu

Biološka aktivnost mnogih kancerogenih agenasa ostvaraje se genotoksičnim mehanizmima, promenom informacije kodirane u molekulima DNK. Sve više jasno je, međutim, da postoje negenotoksični (epigenetički) kancerogeni koji deluju preko promena aktivnosti gena bez izazivanja mutacija. Za transformaciju normalne ćelije u malignu potreban je veći broj genetičkih i/ili epigenetičkih promena, pri čemu se razlikuju najmanje tri faze: inicijacija, promocija i progresija. Epigenetički kancerogeni svoje efekte ostvaruju prevashodno u fazi promocije, pre svega stimulacijom deobe ćelija (mitogeneza). Za razliku od genotoksičnih agenasa koji deluju na molekul DNK, negenotoksični kancerogeni mogu uticati na znatno veći broj ćelijskih sastojaka i produkata: komponenti sistema za transdukciju signala, proteinskih faktora uključenih u regulaciju replikacije, reparacije i transkripcije DNK. Pored toga, negenotoksični kancerogeni mogu da promene stepen metilacije jedarne DNK i konformacije hromatina. Uprkos markantnim razlikama između genotoksičnih i negenotoksičnih kancerogena, potrebno je istaći da je ovakav način podele donekle neprecizan, s obzirom da hemijski kancerogeni često deluju kombinacijom mehanizama, dok primarni mehanizam dejstva može da varira zavisno od tipa ćelije.

Cljučne reči: kancer, epigenetički, genetički, mitogen

Uvod

Kancerogeneza je višestepen proces u kome se normalna ćelija genetički i fenotipski progresivno transformiše stičući sposobnost nekontrolisane deobe (*Delić i Soldatović, 1998*). *Furth i Cahn (1937)* pokazali su da maligna ćelija nastaje nakon naslednih promena. Pomenuti autori su otkrili da klonovi tumorskih ćelija, uzgajanih u kulturi, mogu ponovo da izazovu pojavu tumora ukoliko se ubace injekcijom u telo prijemčivog domaćina. Ovo otkriće postavilo je pred istraživače pitanje da li je priroda ove nasledne promene u tumorskim ćelijama rezultat genetičkih ili epigenetičkih procesa.

Pre same diskusije relativnog značaja genetičkih i epigenetičkih čini-
 laca u procesu kancerogeneze, neophodno je bliže definisati same termine
 „genetički” i „epigenetički”, posebno kada se ima u vidu da upotreba i
 značenje ovih termina ponekad variraju u različitim kontekstima. Termin
 „epigeneza” predstavlja kovanicu koju je prvi put uveo *Waddington* (1940)
 da bi označio opisivanje kauzalne analize individualnog razvića. *Waddington*
 (1940) predložio je da razviće predstavlja rezultat epigenetičkih procesa,
 želeći time da ih izdvoji od tada važećih hipoteza preformacije.

Kasnije, sa nastupanjem molekularne biologije kao nove discipline,
 termin „epigenetički” upotrebljavao se isto tako za opisivanje procesa pove-
 zanih sa ekspresijom genetičkog materijala usled kontrolnih mehanizama
 transkripcije i translacije. Danas prevladava mišljenje da su epigenetičke
 promene zapravo promene u fenotipu koje nisu rezultat izmene DNK
 sekvence. Ove promene mogu biti stabilne i nasledne, a uključuju kako
 kovalentne modifikacije DNK tipa metilacije citozina, tako i kontrolu
 ekspresije na nivou transkripcije, translacije i posttranslacione modifikacije.
 Nasuprot tome, genetička promena predstavlja svaku promenu fenotipa usled
 promene u primarnoj strukturi (redosledu nukleotida) ili količini DNK.
 Brojni su mehanizmi genetičkih promena počev od tačkastih mutacija,
 mutacija faznog pomaka (engl. frame shift mutations), malih unutargenskih
 delecija, transpozicija, različitih hromozomskih rearanžmana ili promena u
 broju hromozoma karakterističnom za datu biološku vrstu (*Barrett*, 1987).

Veliki je broj radova u kojima se opisuju genetički mehanizmi odgo-
 vomi za nastanak i progresiju malignih bolesti, počev od zapažanja *Theodor*
Boveri-3. (1914) koji postavlja teoriju somatskih mutacija u kancerogenezi,
 preko klasičnih eksperimenata *Furth* i *Kahn-a* (1937) i radova u kojima se
 opisuje monoklonalno poreklo vecine ispitivanih tumora (*Fialkow*, 1976).

Mogućnost epigenetičkih mehanizama u razvoju i uspostavljanju
 malignih bolesti možda se najčešće dovodi u vezu sa činjenicom da je
 problem nastanka kancera zapravo suštinski povezan sa izmenama u
 diferencijaciji ćelija. Nasledna promena, odgovorna za pojavu maligne ćelije
 prema pristalicama ovog shvatanja, bila bi analogna promenama koje se
 nalaze u osnovi procesa specijalizacije ćelija tokom normalnog razvića i
 diferencijacije (*Barrett*, 1987).

Dokazi u prilog epigenetičkih mehanizama kancerogeneze

Kao dokazi koji idu u prilog epigenetičkog modela kancerogeneze
 mogu se navesti: naslednost ćelijskih promena tokom procesa diferencijacije
 i razvića, diferencirano stanje mnogih neoplazmi, uticaj gena koji su normal-
 no aktivni tokom ranih faza ontogenije u nastanku maligne transformacije i

zapažanja da postoji mogućnost reverzibilnosti maligne transformacije - bar u pojedinim fazama ovog procesa (*Barrett, 1987*).

Sasvim je jasno da se stabilne, nasledne promene javljaju tokom procesa razvića i diferencijacije (*Waddington, 1939; Jeffery, 1985*). Otuda je logična hipoteza da ćelijski defekt u kancerogenezi proističe iz epigenetičkih promena normalnih mehanizama kontrole rasta i deobe ćelija. Mada postoje velike razlike između normalnih i malignih ćelija, mnoge fundamentalne karakteristike kancerskih ćelija (sposobnost brzih deoba, migracije, invazivnost) javljaju se i kod nekih normalnih ćelija, posebno tokom perioda embrionalnog razvika (*Markert, 1968*).

Postepenim upoznavanjem molekularnih promena, karakterističnih za ćelije kancera, došlo se do podataka da postoje geni od posebnog značaja za nastupanje maligne transformacije ćelije. Istraživači su ubrzo uvideli da aktivacija pojedinih gena (tzv. protoonkogeni) može da rezultuje produkcijom izmenjenih proteinskih produkata kao fenotipske ekspresije malignog statusa na biohemijskom nivou. U osnovi, deregulacija ćelijske deobe u malignim bolestima zavisi od promena u okviru relativno male grupe gena. Naime, geni koji kontrolišu proliferaciju ćelija dovode ili do stimulacije (onkogeni), ili do inhibicije ćelijske deobe (antionkogeni). Međutim, pored genetičkih lezija ili rearanžmana odgovornih za aktivaciju protoonkogeni u onkogene, primećena je mogućnost kontrole ekspresije onkogeni tokom normalnog individualnog razvića, diferencijacije i proliferacije (*Lewin, 1994*).

Jedan od osnovnih argumenata u prilog epigenetičkoj osnovi procesa kancerogeneze proističe iz zapažanja da neke maligne ćelije mogu da se „povrate“ u normalno stanje. Ovaj fenomen reverzije malignog fenotipa, pokazan je u nekim eksperimentalnim sistemima kao odgovor malignih ćelija na različite stimuluse. Tako ćelije malignog teratokarcinoma miša mogu da učestvuju u normalnom razviću ukoliko se injiciraju u blastocit miša (*Mintz i Illmensee, 1975*). Postoji veliki broj primera reverzije ili diferencijacije malignog ćelija, kao što su: regresija karcinoma epiderma mrmoljka izazvanih hemijskim tretmanom ukoliko se hemijski stimulus ukloni (*Seilem - Aspang i Kratochwil, 1962*), spontana regresija neuroblastoma kod čoveka (*Goldstein i sar., 1964*), diferencijacija tumorskih ćelija neuroblastoma u morfološki normalne neurone u in vitro uslovima (*Prasad i sar., 1979*) i gubitak tumorogenosti i proliferacionog kapaciteta ćelija skvamoznog karcinoma usled njihove diferencijacije (*Pierce i Wallace, 1971*). Pored toga, primećena je postepena regresija nekih prekanceroznih stanja (papilomi i displazije) praćena gubitkom sposobnosti formiranja malignih lezija (*Topping i sar., 1979*).

Reverzija malignog fenotipa može da se postigne nakon tretmana transformisanih ćelija pojedinim hemijskim agensima (npr. retinoidi, bazni

analozni, interferon), najčešće kao rezultat podsticanja ćelijske diferencijacije (*Sporn i Roberts, 1983*). Isto tako, međućelijske interakcije i sredina u kojoj se maligne ćelije održavaju u laboratorijskim uslovima mogu da utiču na svojstva tumorskih ćelija. Npr. tumorogenost ćelija iz preneoplastičkih nodula mlečnih žlezda znatno se povećava njihovom enzimskom disocijacijom, dok prisustvo normalnih ćelija mlečnih žlezda ispoljava suprotne efekte (*Medina i sar., 1978*).

Posebno su interesantni eksperimentalni pristupi fuzije somatskih ćelija, pri čemu se mogu dobiti hibridi između normalnih i malignih ćelija iste ili čak različitih bioloških vrsta. Ispostavilo se da supresiju tumorogenosti u ćelijskim hibridima mogu da izazovu ne samo genetički faktori (npr. prisustvo specifičnih hromozoma) (*Stanbridge i sar., 1981*), već i epigenetički činioci — poreklom iz citoplazme (*Giguere i Morals, 1981*).

Na osnovu svih do sada navedenih podataka jasno je da supresija ili reverzija malignog stanja može biti pod uticajem različitih epigenetičkih uticaja. To, međutim, nije pouzdan dokaz da u razvoju malignih bolesti presudnu ulogu, zaista, igraju epigenetički mehanizmi. Tako se, prema nekim autorima (*Harris, 1979*), nasledna genetička promena može smatrati odgovornom za neoplastičke promene datog tkiva, ali se maligne ćelije ipak mogu da suprimiraju epigenetičkim mehanizmima (rediferencijacija ili neki drugi mehanizmi zaustavljanja nekontrolisanog rasta).

Uticaj epigenetičkih činilaca u fazi promocije kancerogeneze

Mada je nastanak maligne ćelije višestepen, kompleksan i često se ostvaruje tek nakon dugog latentnog vremenskog perioda (kod čoveka se taj period može meriti decenijama), ipak se, uglavnom radi jednostavnije analize, polazi od trostepenog modela kancerogeneze u kome se razlikuju tri osnovne faze: inicijacija, promocija i progresija. Faza inicijacije ogleda se formiranjem stabilnog oštećenja DNK ili neke druge genetičke promene i ovaj proces nije reverzibilan. Interesantno je da fazu promocije mogu da podstaknu agensi koji deluju negenotoksičnim mehanizmima, ali podstiču proliferaciju ćelija. Upravo je faza promocije posebno značajna sa stanovišta relevantnosti epigenetičkih činilaca uključenih u proces maligne transformacije. Treba napomenuti da je faza promocije najčešće reverzibilnog karaktera, što nam dodatno ukazuje da se epigenetički mehanizmi kancerogeneze najčešće ostvaruju u fazi promocije (*Barrett, 1993*). Agensi koji učestvuju u promociji stimulišu mitogenezu i na taj način olakšavaju ispoljavanje prethodno formiranih genetičkih lezija. Proliferacija ćelija utiče na formiranje malignih ćelija putem nekoliko mehanizama. To je i dovelo do hipoteze da sama stimulacija proliferacije ćelija već ima kancerogeni efekat, odnosno da kancerogeni koji podstiču ćelijsku proliferaciju mogu da deluju

isključivo ovim mehanizmom (*Ames i Gold, 1990*). U svakom slučaju, odsustvo mutagenih efekata negenotoksičnih kancerogenih agenasa ukazuje da oni deluju nekim drugim mehanizmima, pri čemu je povećanje proliferacije ćelija jedan od mogućih mehanizama njihovog dejstva. U prilog ovakvom shvatanju idu eksperimentalna zapažanja da većina oblika kancera može nastati spontano, bar kod nekih do danas ispitanih vrsta. Naime, normalna deoba ćelija rezultuje pojavom spontanih oštećenja DNK (npr. usled deaminacije citozina koja se normalno može očekivati pri fiziološkim temperaturama, oksidativna oštećenja proistekla usled uobičajenih fizioloških procesa, mutageni agensi hrane, vode i si.). Prema tome, mutacije nastaju „spontano“ usled normalnih citobiohemijskih procesa (*Loeb, 1989*). Ipak, mora da se naglasi, ne mogu se svi toksični i/ili hiperplastički stimuli smatrati kancerogenim (*Hoel i sar., 1988; Melnick, 1992*). Čelijske deobe se normalno odvijaju u svim organizmima, ali brzina ćelijske deobe može da se poveća kod ćelija na putu ka malignoj transformaciji. Konačno, zapažanja da je za nastanak maligne ćelije potrebno bar nekoliko nezavisnih genetičkih lezija u istoj ćeliji, sugeriše da bi i slab mutagen, nedetektabilan trenutno raspoloživim testovima, mogao da bude dovoljan za razvoj maligne ćelije u specifičnom ciljnom tkivu (*Barrett, 1993*).

Hormoni kao epigenetički kancerogeni

Kao faktori rizika za nastanak kancera kod čoveka koji, pored ostalog, deluju na nivou stimulacije ćelijske deobe često se navode hormoni (*Preston-Martin i sar., 1990; Yager i Liehr, 1996*). Mnogi hormoni ispoljavaju snažne efekte na procese razvića i diferencijacije. Stoga ne iznenađuje da hormoni mogu uticati na nastanak i/ili održavanje malignih bolesti. Proučavanjem procesa kancerogeneze u različitim eksperimentalnim modelima in vitro i in vivo, kao i na osnovu epidemioloških analiza, utvrđeno je da oko 30% malignih bolesti kod čoveka nastaje pod uticajem hormona (*Henderson i sar., 1982*).

Eksperimentalni modeli kancerogeneze na različitim vrstama laboratorijskih životinja doprineli su osvetljavanju moguće uloge hormona u tumorogenezi. Incidencija tumora može se povećati prekomernom hormonskom stimulacijom target-organa. Najčešće se zapaža postepen prelazak sa normalnog rasta, preko hiperplazije do neoplazije. U početku su formirani tumori najčešće zavisni od relevantnog hormonskog stimulusa, da bi u kasnijoj fazi bolesti postali autonomni (*Henderson i sar., 1982*). Može se uzeti kao opšte pravilo da skoro svi hormoni mogu indukovati tumore ukoliko su prisutni u povišenim koncentracijama tokom dužeg vremenskog perioda u odgovarajućim ciljnim tkivima (*Neumann, 1991*).

Utvrđeno je da hormoni mogu povećati incidencu kancera čak i u odsustvu inicijatora kancerogeneze, kao što su hemijski mutageni ili jonizujuća zračenja. Upravo se zbog toga smatra da hormoni svoje kancerogene efekte ostvaruju uglavnom negenotoksičnim (epigenetičkim) mehanizmima, dok je primarni mehanizam u osnovi tumorogeneze pod uticajem hormona u stvari stimulacija ćelijske deobe (*Delić, 1998*). Povećana mitotska aktivnost olakšava fiksiranje već prisutnih oštećenja DNK u mutacije, usled grešaka tokom replikacije i smanjene mogućnosti da deluju mehanizmi prerekacionog repera (*Barrett i Huff, 1991*). Kancerogeni efekti hormona posebno su izraženi u organima pod snažnim uticajem polnih steroida (dojka, endometrijum, ovarijum, prostata). Najčešće jedan hormon ima dominantnu ulogu u podsticanju kancerogeneze, ali konačan ishod zavisi od kompleksnog međudejstva većeg broja hormona i faktora rasta (*Key, 1995; Capen i sar., 1995*).

Mada su efekti hormona na nivou stimulacije ćelijske deobe verovatno glavni put kojim se normalna ćelija transformiše u malignu nakon dugovremenog dejstva hormona, ima literaturnih podataka koji ukazuju da se neki hormoni (naročito steroidi) ponašaju kao kompletni kancerogeni, tj. da deluju ne samo negenotoksičnim već i genotoksičnim mehanizmima (*Liehr, 1990; Delia i sar., 1994; Delia, 1996; Liehr i Riacci, 1996; Liehr, 2000*). S druge strane, odsustvo efekata u različitim testovima na genotoksičnost hormona ide u prilog shvatanjima da hormoni ipak deluju prevashodno epigenetičkim mehanizmima (*Delia \ sar., 1996, 1997*).

Mehanizmi dejstva epigenetičkih kancerogenih agenasa

Uprkos svim do sada iznetim podacima, koji govore o relevantnosti epigenetičkih mehanizama u procesu maligne transformacije, veoma malo se zna o samim molekularnim mehanizmima dejstva negenotoksičnih kancerogena. Moguće je da ovaj problem proističe iz činjenice da kancerogeneza podstaknuta negenotoksičnim agensima uključuje znatno veći broj varijabli. Primera radi, u slučaju genotoksičnih agenasa direktna „meta“ je upravo molekul DNK, dok negenotoksični kancerogeni mogu svoje efekte da realizuju preko većeg broja ćelijskih sastojaka i produkata. Molekuli, na koje deluju negenotoksični kancerogeni, mogu se nalaziti u sastavu citoplazmatskih membrana, sistema za transdukciju signala kao i faktora uključenih u kontrolu ćelijskog ciklusa. Pored toga, proteinski faktori povezani su kontrolom replikacije, reparacije i transkripcije DNK, takođe, mogu predstavljati ciljne molekule, mada se u tom slučaju finalni efekti često smatraju genotoksičnim (*Yamasaki i sar., 1996*).

Molekularno-biološke analize pokazale su da pored genetičkih promena, u ćelijama kancera često je izmenjen stepen metilacije DNK

(epigenetička promena). Nestabilnost genoma koja potiče od genetičkih i epigenetičkih promena predstavlja prvi korak u kancerogenezi (*Schmutte i Fishel, 1999*). U ranoj tumorogenezi često se primećuje lokalna hipermetilacija DNK sekvenci, uz istovremeno smanjenje opšteg nivoa metilacije u jedarnoj DNK. Hipermetilacija se posebno često javlja u CpG ostrvima (eng. CpG islands) u okviru promotora tumor-supresor gena (antionkogeni). Hipermetilacija promotora uslovljava smanjenu ekspresiju gena na nivou transkripcije, što dovodi do manje količine odgovarajućih proteinskih produkata (*Toyota i Issa, 2000; Sanchez-Cespedes i sar., 2000*). Pored aberantne metilacije citozina, heterohromatinizacija, takođe, predstavlja mehanizam inaktivacije kritičnih gena doprinoseći razvoju i progresiji malignih oboljenja, kao što je pokazano proučavanjem kancera dojke kod čoveka (*Domann i sar., 2000*).

Jedna od najupadljivijih razlika između negenotoksičnih i genotoksičnih kancerogena odnosi se na stepen njihove tkivne specifičnosti. S obzirom da genotoksični kancerogeni mogu da interreaguju sa DNK u različitim tkivima, ukoliko ispoljavaju organotropizam on može biti posledica sekundarnih efekata u datom tkivu kao što je mogućnost metaboličke aktivacije. Genotoksični kancerogeni obično su delotvorni kod nekoliko vrsta i kod oba pola. Nasuprot tome, negenotoksični kancerogeni, uopšteno uzevši, pokazuju markantan organotropizam i to kod jednog pola u okviru jedne biološke vrste (*Ashby i Tennant, 1991*).

Tako postoje markantne razlike u ispoljavanju kancerogenih efekata genotoksičnih i negenotoksičnih agenasa, mora se istaći da je ovakva podela donekle neprecizna s obzirom da hemijski kancerogeni često deluju kombinacijom mehanizama, dok primarni mehanizam može da varira zavisno od tipa ćelije (*Barrett, 1993*). Moguće je npr. da hemijski agens deluje kao kompletni kancerogen u jednom, promotoru drugom i kao inicijatoru trećem tipu ćelija.

Osvetljavanje osnovnih mehanizama maligne transformacije pod dejstvom negenotoksičnih kancerogena svakako će biti olakšano primenom savremenih metoda biohemije i molekularne biologije.

Zaključak

Kancer nastaje usled serije naslednih promena koje dovode do progresivnog narušavanja normalnih mehanizama kontrole ćelijske deobe. Centralni problem u razumevanju kancera odnosi se na osvetljavanje relativnog doprinosa genetičkih i epigenetičkih činilaca u malignoj transformaciji. Mogućnost epigenetičkih mehanizama u razvoju i uspostavljanju malignih bolesti možda se najčešće dovodi u vezu sa činjenicom da je problem

nastanka kancera zapravo suštinski povezan sa izmenama u diferencijaciji ćelija.

Mada je nastanak maligne ćelije višestepen i kompleksan, ipak se, uglavnom radi jednostavnije analize, polazi od modela kancerogeneze u kome se razlikuju tri osnovne faze: inicijacija, promocija i progresija. U procesu inicijacije kancerogeneze dolazi do ireverzibilnih genetičkih promena. Faza promocije se, međutim, karakteriše reverzibilnim promenama koje dovode do proliferativne ekspanzije grupe ćelija sa latentnim genetičkim oštećenjem. Prema danas raspoloživim saznanjima, negenotoksični (epigenetički) kancerogeni ispoljavaju svoje efekte prevashodno u fazi promocije.

Uprkos relevantnosti epigenetičkih mehanizama u procesu maligne transformacije, veoma malo se zna o samim molekularnim mehanizmima dejstva negenotoksičnih kancerogena. Pored toga, mada postoje markantne razlike u ispoljavanju kancerogenih efekata genotoksičnih i negenotoksičnih agenasa, mora se istaći daje ovakva podela donekle neprecizna s obzirom da hemijski kancerogeni često deluju kombinacijom mehanizama, dok primarni mehanizam može da varira zavisno od tipa ćelije.

Poslednjih par decenija sve više se radi na identifikaciji i karakterizaciji dejstva epigenetičkih kancerogena, što će svakako poboljšati opšti nivo saznanja o nastanku maligno transformisane ćelije.

Literatura

Ames, B. N. and Gold, L.S. (1990). Too many rodent carcinogens: mitogenesis increases mutagenesis. *Science*, *249*, 970-971.

Ashby, J. and Tennant, T. W. (1991). Definitive relationships among chemical structure, carcinogenicity and mutagenicity for 301 chemicals tested by the SU NTP. *Mutat. Res.*, *257*, 229-306.

Barret, C.J. (1987). Genetic and epigenetic mechanisms of carcinogenesis, in: *Mechanisms of environmental carcinogenesis* (J. C. Barret, Ed.), CRC Press INC., Boca Raton. Florida, 1-15.

Barrett, J. C. (1993). Mechanisms of multistep carcinogenesis and carcinogen risk assessment. *Environ. Health Perspect.*, *100*, 9-20.

Barrett, J.C. and Huff, J. (1991). Cellular and molecular mechanisms of chemically induced carcinogenesis. *Renal Fail.*, *13*, 221-225.

Boveri, T. H. (1914). Zur frage der entstehlung maligner tumoren. Gustave Fischer. Jena.

Capen, C.C., Dayan, A.D. and Green, S. (1995). Receptor-mediated mechanisms in carcinogenesis. *Mutat. Res.*, *333*, 215-224.

Domann, F.E., Rice, J.C, Hendrix, M.J. and Futscher, B.W. (2000). Epigenetic silencing of masprine gene expression in human breast cancers. *Int. J. Cancer*, *85*, 805-810.

Delić, N. (1996). Genotoksičnost steroidnih hormona. *Vet. Glasnik*, *50*, 855-863.

Delić, N. (1998). Steroidni hormoni i kancer. *Vet. Glasnik*, *52*, 3-14.

Delić, N. i *Soldatović, B.* (1998). Molekularni mehanizmi kancerogeneze. *Vet. Glasnik*, *52*, 131-139.

Delić, N., Anđelković, M., Soldatović, B. and *Cvetković, D.* (1997). In vitro and in vivo cytogenetic analysis of the effects of cloprostenol on mammalian cells. *Acta Vet.*, *47*, 151-158.

Delić, N., Soldatović, B. and *Anđelković, M.* (1994). Effect of cloprostenol on the mitotic index and SCE frequency in cultures of human lymphocytes. *Acta Vet.*, *44*, 337-344.

Belie, M., Soldatović, B., Anđelković, M. and *Cvetković, D.* (1996). In vitro cytogenetic analysis of the effects of oxytocin on human peripheral blood lymphocytes. *Mutat. Res.*, *356*, 265-268.

Fialkow, P. J. (1976). Clonal origin of human tumors. *Biochim. Biophys. Acta*, *458*, 283-321.

Furth, J. and *Kahn, M. C.* (1937). The transmission of leukemia of mice with a single cell. *Am. J. Cancer*, *31*, 276-281.

Giguere, L. and *Morais, R.* (1981). On suppression of tumorigenicity in hybrid and cybrid mouse cells. *Somat. Cell Genet.*, *7*, 457-471.

Goldstein, M. N., Burdman, J. A. and *Journey, L. J.* (1964). Long-term tissue culture of neuroblastomas: morphological evidence for differentiation and maturation. *T. Natl. Cancer Inst.*, *32*, 165-199.

Harris, H. (1979). Some thoughts about genetics, differentiation and malignancy. *Somat. Cell. Genet.*, *5*, 923-940.

Henderson, B. E., Ross, R. K., Pike, M. C. and *Casagrande, J. T.* (1982). Endogenous hormones as a major factor in human cancer. *Cancer Res.*, *42*, 3232-3239.

Hoel, D. G., Haseman, J. K., Hogan, M. D., Huff, J. and *McCoimel, E.* (1988). The impact of toxicity on carcinogenicity studies: implications for risk assessment. *Carcinogenesis*, *9*, 2045-2052.

Jeffery, W. R. (1985). Specification of cell fate by cytoplasmic determinants in Ascidian embryos. *Cell*, *41*, 11-12.

Key, T.J.A. (1995). Hormones and cancer in humans. *Mutat. Res.*, *333*, 59-67.

Lewin, B. (1994). *Genes*, Fifth Edition, Oxford University Press Inc., New York, Oxford University Press and Cell press, 1181-1228.

Liehr, J. G. (1990). Genotoxic effects of estrogens. *Mutat. Res.*, *238*, 269-276.

Liehr, J.G. (2000). Is estradiol a genotoxic mutagenic carcinogen? *Endocr. Rev.*, *27*, 40-54.

Liehr, J. G. and *Ricci, M. J.* (1996). 4-hydroxylation of estrogens as marker of human mammary tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *93*, 3294-3296.

Loeh, L. A. (1989). Endogenous carcinogenesis: molecular oncology into the twenty-first century - presidential address. *Cancer Res.*, *49*, 5489-5496.

Marker, C. L. (1968). Neoplasia: a disease of cell differentiation. *Cancer Res.*, *28*, 1908-1914.

Medina, D., Shepherd, F. and Gropp, T. (1978). Enhancement of the tumorigenicity of preneoplastic mammary nodule lines by enzymatic dissociation. *J. Natl. Cancer Inst.*, *60*, 1121-1126.

Melnick, R. L. (1992). An alternative hypothesis on the role of chemically induced protein droplet (alpha-2u-globulin) nephropathy in renal carcinogenesis. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, *116*, 111-125. /

Mintz, B. and Illmensee, K. (1975). Normal genetically mosaic mice produced from malignant teratocarcinoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *72*, 3585-3589.

Neumann, F. (1991). Early indicators for carcinogenesis on sex-hormone-sensitive organs. *Mutat. Res.*, *248*, 341-356.

Pierce, G. B. and Wallace, C. (1971). Differentiation of malignant to benign cell. *Cancer Res.*, *32*, 127-134.

Prasad, K.N., Sinha, P. K., Ramanujam, M. and Sakamoto, A., (1979). Sodium ascorbate potentiates the growth inhibitory effect of certain agents on neuroblastoma cells in culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *76*, 829-832.

Preston-Martin, S., Pike, M. C., Ross, R. K., Jones, P. A. and Henderson, B.E. (1990). Increased cell division as cause of human cancer. *Cancer Res.*, *50*, 7415-7421.

Sanchez-Cespedes, M., Esteller, M., Wu, L., Nawroz-Danish, H., Yoo, G. H., Koch, W. M., Jen, J., Herman, J. G. and Sidransky, D. (2000). Gene promoter hypermethylation in tumors and serum of head and neck cancer patients. *Cancer Res.*, *60*, 892-895.

Schmutte, C. and Fishel, R. (1999). Genomic instability: first step to carcinogenesis. *Anticancer Res.*, *19*, 4665-4696.

Seilern-Aspang, F. and Kratochwil, K. (1962). Induction and differentiation of an epithelial tumor in the newt (*Triturus cristatus*). *J. Embryol. Exp. Morphol.*, *10*, 337-356.

Sporn, M. B. and Roberts, A. B. (1983). Role of retinoids in differentiation and carcinogenesis. *Cancer Res.*, *43*, 3034-3040.

Stanhridge, E. J., Flandemeyer, R. R., Daniels, F. W. and Nelson-Rees, W. A. (1981). Specific chromosome loss associated with the expression of tumorigenicity in human cell hybrids. *Somat. Cell Genet.*, *7*, 699-712.

Topping, D. C., Greisemer, R. A. and Nettesheim, P. (1979). Development and fate of focal epithelial lesions in tracheal mucosa following exposure to 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene. *Cancer Res.*, *39*, 4829-4836.

Toyota, M. and Issa, J. P. (2000). The role of DNA hypermethylation in human neoplasia. *Electrophoresis*, *21*, 329-333.

Waddington, C. H. (1939). An introduction to Modern Genetics. Allen and Urwin. London.

Waddington, C. H. (1940). Organizers and genes. Cambridge University press. London.

Yager, J. D. and Liehr, J. G. (1996). Molecular mechanisms of estrogen carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, *36*, 203-232.

Yamasaki, H., Ashby, J., Bignami, M., Jongen, W., Linnainmaa, K., Newbold, R. F., Nguyen-Ba, G., Parodi, S., Rivedal, E., Schiffmann, D., Simons, J. W. I. M. and Vasseur, P. (1996). Nongenotoxic carcinogens: development of detection methods based on mechanisms: a European project. *Mutat. Res.*, *353*, 47-63.

MECHANISMES EPIGENETIQUE DE LA CANCEROGENESE

Ninoslav ĐELIĆ

Faculte veterinaire de Belgrade

Activite biologique des agents cancero genes se realise par les mecanrsmes genotoxiques par le changement de l'information codecs dans les molecules de DNK. Il est de plus en plus clair, pourtant, qu'il existe des cancerigenes nongenotoxiques (epigenetiques) qui agissent par les changements de l'activite des genes sans provoquer des mutations. Pour la transformation de la cellule normale en maligne il est necessaire plus grand nombre des changements genetiques et/ou epigenetiques et c'est alors qu'on differe trois phases: initiation, promotion et progression. Les cancerigenes epigenetiques realisent leurs effets d'abord dans la phase de la promotion, avant tout par la stimulation de la division des cellules (mitogenese). En difference des agent genotoxiques qui agissent sur le molecule DNK les cancerigenes nongenotoxiques peuvent agir sur significativement plus grand nombre des composants de cellules et des produits: les composants du systeme pour la transduction des signals des facteurs de protides inclus dans la regularisation des repliquations, des reparations et des transcriptions DNK. Outre cela, les cancerigenes nongenetiques peuvent changer la degre de la metiation de DNK de noyau et de la conformation de la chromatine malgre les differences marquantes parmi les cancerigenes genotoxiques et nongenotoxiques, il est necessaire de souligner que telle maniere de la division est un peu imprecise, vu que les cancerigenes chimiques agissent souvent par la combinaison des mecanismes, tandis que le mecanisme primaire de l'effet peut varier en dependance du type de la cellule.

Les mots cles: Cancer, epigenetique, genetique, mitogene

EPIGENETIC MECHANISMS OF THE CANCEROGENESIS

Ninoslav ĐELIĆ

Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade

The biological acitivity of many cancerogenic agents is manifested in geno-toxic mechanisms by changing the information encoded in the DNA molecules. However, it becomes much clearer that there are non-genotoxic (epigenetic) cancerogens whose action is manifested through changes of the genes'activity without causing mutations. The transfonnation of the normal cell into a malign one requires a greater number of genetic and/or epigenetic changes that undergo at least three phases, namely, initiation, promotion and progression. The epigenetic cancerogenes

realize their effect primarily in the promotion phase, primarily, by stimulating the cell division (mitogenesis). Unlike the genotoxic agents affecting the DNA molecule, the non-genotoxic cancerogenes can affect a considerably greater number of cell constituents and products, that is, the components of the signal transduction system, the protein factors involved in the regulation of replication, reparation and transcription of the DNA. Besides, the non-genotoxic cancerogenes can change a degree of methylation of the nucleus DNA and chromatin conformation. Despite prominent differences between the genotoxic and the non-genotoxic cancerogenes, it is necessary to stress that such a way of division is somewhat imprecise regarding the fact that the chemical cancerogenes often exert their effect through a combination of mechanisms while the primary mechanisms of effect can vary depending on the type of the cell.

Key words: Cancer, epigenetic, genetic, mitogen

Autor: Doc. dr sci Ninoslav Đelić, biolog, Fakultet veterinarske medicine u Beogradu; kućna adresa: Beograd, Kralja Milutina 35.

(Rad je Uredništvo primilo 13. aprila 2000. godine)