Osebujnost djelovanja imunološkog sustava onkoloških bolesnika

Jurčević, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:110756

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Iva Jurčević

Osebujnost djelovanja imunološkog sustava onkoloških bolesnika

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Iva Jurčević

Osebujnost djelovanja imunološkog sustava onkoloških bolesnika

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Klinici za onkologiju i nuklearnu medicinu
Kliničkog bolničkog centra Sestre milosrdnice
Katedra za kliničku onkologiju
Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2015./2016.

Mentor rada: prof.dr.sc. Nikola Đaković

Popis kratica

NK	natural killer
MHC	major histocompatibility complex
TCR	T cell receptor
CD	cluster of differentiation
APC	antigen presenting cell
Th	T helper
IFN	interferon
TNF	tumor necrosis factor
IL	interleukin
TSA	tumor specific antigen
TAA	tumor associated antigens
TRA	tumor rejection antigen
TAP	transporter associated with antigen (transportni protein)
BCG	bacille calmette guerin
TGF	transforming growth factor
P53, p21	tumor suppressor gene
DNK	deoksiribonukleinska kiselina
MPF	maturation promoting factor
Cdc	cell division cycle
Cdk	cyclin-dependent kinase (kinaze ovisne o ciklinima)
Rb	retinoblastoma protein
E2F	E 2 transcription factor
Bcl	B-Cell CLL/lymphoma
TAF	tumorski angiogeni faktor
ROS	reactive oxygen species
RNS	reactive nitrogen species
VEGF	vascular endothelial growth factor
FGF	fibroblast growth factor
TIL	tumor infiltrating lymphocytes
MSC	myeloid-derived suppressor cells
TLR	Toll like receptor
DNCB	dinitrochlorobenzene
PHA	phytohemagglutinin

ConA	konkavalin A
PWM	pokeweed mitogen
EAC	erythrocyte rosetting
Ig	immune globulin
HPV	humani papiloma virus
NFκB	nuclear factor kappa B
HIV	humani virus imunodeficijencije
EBV	Epstein-Barr Virus
EMT	epithelial-mesenchymal transition (epitelno mezenhimalna tranzicija)
TPA	tetradecanoylphorbol-13-acetate
Gp	glikoprotein
LINE	long interspersed nuclear element
IFP	Interstitial fluid pressure
HCT	human colon carcinoma cell line
AIDS	acquired immune deficiency syndrome

Sadržaj

1. Sažetak ..... **I**
2. Summary ..... **II**
3. Uvod **1**
4. Imunološki sustav **3**
   4.1 Stanice i reakcije imunološkog sustava 3
   4.2 Imunološki sustav i tumorske stanice 5
5. Neoplazma **7**
   5.1 Rast i razvoj tumora 7
   5.2 Imunosupresija, upala i karcinom 9
   5.3 Imunološki status onkološkog bolesnika 11
6. Kronična upala i neoplazma **14**
   6.1 Upala kao poticaj razvoja tumora 14
   6.2 Mikrookoliš tumorskog tkiva 16
   6.3 Stres i razvoj karcinoma 18
7. Zaključak **22**
8. Zahvale **23**
9. Literatura **24**
10. Životopis **27**

1. Sažetak

Osebujnost djelovanja imunološkog sustava onkološkog bolesnika

Iva Jurčević

Ovaj rad razmatra interakcije imunološkog sustava i neoplastičnih stanica, s naglaskom na neočekivane utjecaje imunosti i imunosupresije na nastanak, progresiju i metastaziranje karcinoma. Mnoga su istraživanja rađena, tijekom povijesti i u novije vrijeme u svrhu objašnjenja međuovisnosti imunoloških reakcija i tumora, s naglaskom na upalu kao zajedničkom nazivniku. Iako se čini da stanice imunosti imaju jasan utjecaj na homeostazu organizma i mikrookoliš tumora, njihova je uloga višeslojna i osebujna. Još jedna od tema o kojoj će biti riječi je imunosupresija, vezana uz upalu ili stres, kao posljedica ili uzrok nastanka karcinoma.

Prvi dio se bavi izlaganjem glavnih stanica i interakcija imunološkog sustava, te utjecajem imunološkog sustava na tumorske stanice. Ovdje će biti spomenute razlike stečene i urođene imunosti i neki od glavnih načina komunikacije imunoloških stanica u dinamičnom mikrookolišu zdravog ili neoplastično promijenjenog tkiva.

Drugo, potrebno je razjasniti nastanak neoplastičnih stanica i njihove karakteristike u odnosu na zdrave stanice. Također treba izdvojiti utjecaj upale na nastanak imunosupresivnog okoliša i konačno, mogućeg karcinoma. Iako je dokazano da je imunosupresija izazvana liječenjem, nova istraživanja ukazuju na imunosupresiju onkoloških bolesnika primarno kao posljedicu bolesti. Ovdje će biti objašnjen jedan od dokazanih mehanizama indukcije imunosupresije. Dakle, imunološki status možemo mjeriti kao stupanj imunosupresije. Imunološki status onkološkog bolesnika je parametar kojeg bi mogli promatrati kao prognostički čimbenik preživljenja tijekom terapije.

Nadalje, kronična upala se smatra jednom od dokazanih rizika za neke od karcinoma, međutim, stavljanjem kronične upale u okvire imunosupresivnog mikrookoliša, stresa kao poticaja za upalu i imunosupresiju, možemo govoriti o širem i većem značenju upalnih stanica i medijatora upale u patogenezi nastanka i progresije karcinoma.

Ključne riječi: karcinom, upala, imunosupresija, tumorski mikrookoliš

2. Summary

Distinctive role of the immune system in oncology patients

Iva Jurčević

Interactions of the immune system and cell microenvironment has been a topic of discussion, and of many researches through the history and still today. In this paper the focus is on the interactions of immune and cancer cells. Although it seemed that the immune system has a very straightforward role in a human organism, new findings show a much more complex function, and the outcome of some of the immunological reactions is surprising. The main focus of my paper is to discuss some of the paradoxical and unexpected results of interactions of the immune system and cancer cells. Another problem addressed in my thesis is concerning immunosuppression and chronic inflammation as stimulation of cancer growth.

First, to understand the complex interactions of the immune system and cells, which could represent a possible threat for the dynamic balance of the organism, some of the main principles of immune reactions and the cells, which play a main role in these processes, need to be explained. Also, in this part the difference between innate and specific immunity is explained, and their effect in a dynamic microenvironment.

Secondly, neoplasm and carcinogenesis will be mentioned in order to understand the processes that take place in a tumor host. Although, it has been proven that immunosuppression is a consequence of cancer treatment, chemotherapy and radiotherapy, new researches point out the fact that some of the patients are primary immunosuppressed due to their disease and perhaps the neoplasm is partly a result of the immunosuppression One of the examples of the interactions of the immune system of oncology patients is the evaluation of the immunologic status, which is also going to be discussed.

The third part is dealing with immunosuppression and chronic inflammation as one of the causes of tumor growth and consequential metastasis. Chronic inflammation has been recognized as a risk factor for cancer for a long time. However, there is evidence that shows a much greater influence of a chronic inflammatory process on the cell microenvironment. This is especially seen in an early stage of cancer development and could be influenced in order to prevent the disease.

Key words: cancer, inflammation, immunosuppression, tumor microenvironment

3. Uvod

Zdravlje je velika vrijednost ljudskog života, a najvažnije postane onog trenutka kada ga gubimo ili kada je ugroženo. Zdravlje je širok pojam, teško definiran, svatko ima svoje shvaćanje vlastitog zdravlja i koristeći svoja ograničenja i posebnosti, stvara sebi uvijete za ispunjen život. Iako je organizam otporan i naši organski sustavi ulažu napore svaki trenutak, da bi održali ravnotežu, nekada podliježe bolesti.

Karcinom je bolest širokog spektra, ima puno vrsta, zahvaća različite dobne skupine i ima različite prognoze. Za razliku od nekih bolesti, koje su prije predstavljale velike zdravstvene probleme, za pojedinca i zajednicu, a danas se sve uspješnije liječe, neoplazme još uvijek izazivaju veliki strah i često imaju lošiju prognozu. To je djelomično jer se liječenju pristupa, na način uklanjanja i uništavanja promijenjenog tkiva, i to rigoroznog, razumljivo je zašto, dok se nije došlo do korijena problema i liječenja ranijeg stadija maligne pretvorbe. Događaju li se neoplastične promjene zbog neodgovornog ponašanja prema tijelu i zdravlju, zbog izloženosti dokazanim rizičnim čimbenicima ili najvećim dijelom zbog procesa koje se ne može kontrolirati i koji još nisu u potpunosti objašnjeni, ne zna se sa sigurnošću. Bez obzira koji je uzrok karcinoma, slijedi liječenje. Liječenje je mukotrpno i često mutilirajuće, međutim svaki pomak ka ozdravljenju predstavlja veliku sreću i nadu. Sigurno je da bi liječenje ovih bolesti bilo daleko učinkovitije kada bi se više znalo o inicijaciji i promociji karcinogeneze.

Potrebno je prvo shvatiti osnove funkcioniranja imunološkog sustava, njegove osnovne funkcije i glavne reakcije imunoloških stanica i tumorskih stanica. Zatim, razmotriti nastanak neoplazme i imunosupresiju koja se javlja u onkoloških bolesnika. Zanimljivo pitanje jest, koji proces za posljedicu daje imunosupresiju, neoplastična pretvorba ili terapija, za koju se zna da ima imunosupresivno djelovanje. S tim u vezi rađeno je dosta radova koji ocjenjuju imunološki status onkološkog bolesnika i povezuju, upravo taj status s preživljenjem bolesti. Nadalje, jedno od glavnih tema ovog rada i brojnih znanstvenih radova je povezanost kronične upale i karcinoma. Kakav je mikrookoliš tumorskog tkiva i na koji način upala djeluje u smislu potencijalne eliminacije ili promocije tumora, također predstavlja predmet rasprave. Tumorske stanice su izrazito invazivne i razvoj neoplazme uvelike ovisi o njihovoj sposobnosti iskorištavanja fizioloških procesa i hranjivih tvari domaćina. Je li moguće da aktivacija imunološkog sustava pomaže karcinomskim stanicama u njihovom rastu, odnosno da stanice karcinoma imaju veliku korist od interakcije sa stanicama imunološkog sustava? Ova teorija zvuči neobično, no istraživanja iznesena u mnogim radovima govore da je to moguće. Ono što je također začuđujuće jest podrijetlo tumorskih stanica, koje nisu strani

patogeni, nego vlastite stanice. U nizu ovih pitanja, koja navode na razmišljanje, a teško nalaze odgovore, treba imati na umu da jedino upornim traženjem odgovora možemo pomoći onima koji, možda i gube bitku, a i nama samima, jer je zasigurno neizmjerna sreća nekome pomoći u ozdravljenju.

4. Imunološki sustav

4.1 Stanice i reakcije imunološkog sustava

Otpornost organizma ima svoje uporište u imunosti. Imunoreakcija je nužna za preživljenje, a njezina je zadaća obrana od infekcije, tumora i općenito održavanje homeostaze organizma. Obrambeni mehanizmi na kojima se temelji djelovanje imunološkog sustava jesu nespecifična, odnosno urođena i specifična odnosno stečena imunost. Karakteristika urođene imunosti jest mogućnost reagiranja bez prethodnog dodira organizma s antigenom, dok specifična imunost djeluje nakon što se organizam susreo s određenim antigenom i tada djeluje specifično protiv njega. Obrana organizma prema djelovanju imunosti može biti humoralna i stanična, potonja je posredovana stanicama dok je humoralna imunost posredovanja topljivim tvarima u tekućinama.

Stanice imunološkog sustava potječu od pluripotentnih krvotvornih matičnih stanica, svi leukociti potječu od zajedničke adultne multipotentne krvotvorne matične stanice u koštanoj srži. Od svih leukocita samo limfociti posreduju antigen specifičnu imuno reakciju. Međutim neke skupine limfocita kao što su NK stanice ne pripadaju adaptivnoj imunosti nego imaju važnu ulogu u urođenoj imunosti. Nadalje, fagociti, kojima pripadaju neutrofilni i eozinofilni granulociti te makrofagi, djeluju proždiranjem stranih čestica, što je jedan od mehanizama nespecifične imunosti. Posredničke stanice, lučenjem medijatora upale, podržavaju upalu i djelovanje drugih stanica u tijeku imuno reakcije. Aktivacija stanica imunološkog sustava se događa prepoznavanjem antigena. Antigeni su molekule koje imunosni sustav prepoznaje kao tuđe, može se reći da antigeni imaju svojstvo antigenosti i imunogenosti, od kojih potonje predstavlja višu kategoriju aktivacije imunosti, odnosno može potaknuti humoralnu i staničnu imunoreakciju.

Važnu ulogu prepoznavanja antigena ima kompleks gena tkivne podudarnosti. Ovaj sustav spada u jake tkivne antigene, i na 6. kromosomu se nalaze geni koji kodiraju za ove antigene. Limfocit T prepoznaje antigenske molekule spregnuto odnosno, jednim dijelom receptora prepoznaje antigen, a drugim vlastitu molekulu MHC. Preduvjet za specifičnu imuno reakciju jest predočenje antigena u sklopu MHC sustava molekula. Afinitet vezanja receptora TCR i kompleksa MHC-antigen je nizak i zato je za aktivaciju limfocita T potrebno sudjelovanje drugih molekula koje će učvrstiti međudjelovanje stanica i provedbu signala. Geni i molekule MHC se dijele u tri skupine, od kojih antigene predočene u sklopu molekula MHC I prepoznaju citotoksični limfociti CD8+, dok antigene u sklopu MHC II prepoznaju pomagački CD4+ limfociti. Molekule razreda 1 izražavaju na svojim membranama gotovo

sve nukleirane somatske stanice, a molekule razreda 2 samo imunosne stanice, ponajprije monociti-makrofagi i druge stanice koje prezentiraju antigen (APC), limfociti B i neki aktivirani limfociti T.

Limfociti se mogu aktivirati djelovanjem jednog, specifičnog antigena ili poliklonskim aktivatorima limfocita koji istodobno mogu podražiti velik broj limfocita, odnosno i do 60% limfocita, za razliku od antigena koji aktiviraju 0,02 do 0,1% limfocita. Primjeri poliklonskih aktivatora su iz skupine biljnih mitogena (lektini) i bakterijskih mitogenetika.

Dakle, od limfocita razlikujemo T i B subpopulacije, prema izražaju specifičnih molekula na površini stanica, CD. Za razliku od njih NK stanice, su dio urođene imunosti, te razaraju vlastite zaražene ili neoplastične stanice bez prethodne senzibilizacije. Fagociti, također predstavljaju modul nespecifične imunosti, te djeluju endocitozom, fagocitozom te posljedičnom enzimskom razgradnjom tvari. Još neke od stanica bez kojih se imunoreakcija ne bi mogla odvijati jesu predočne stanice, od kojih postoje profesionalne predočne stanice koje predočuju pomagačkim CD4+ limfocitima, te dendritičke stanice, čije su djelovanje i lokalizacija raznovrsni, te također djeluju kao predočne stanice.

Prepoznavanjem antigena i djelovanjem aktivacijskog signala naivni limfocit T će postati nezreli pomagački limfocit ThO, koji će se dalje s obzirom na mikrookoliš u kojem djeluje odnosno citokine koje djeluju na njega diferencirati u Th1 ili Th2 limfocit. Tako su limfociti Th1 povezani sa staničnim imunosnim odgovorom, luče IFNγ, TNFα, TGFβ i IL2, te aktiviraju makrofage i NK stanice, a njihovu diferencijaciju potiču IL12, IL18, te IFNγ tipa 1. Dok se limfociti Th2 diferenciraju kao odgovor na antigene koji uzrokuju trajnu ili opetovanu aktivaciju limfocita T, bez razvoja nespecifične imunosti i aktivacije makrofaga, te potiču proizvodnju protutijela i IL4, IL5, IL9,IL6 i IL13. Postoji recipročna regulacija ovih podvrsta – limfociti Th1 koče odgovor Th2 putem IFNγ i poticanjem makrofagne sinteze IL12, limfociti Th2 koče odgovor Th1 djelovanjem IL4 i IL10. Još jedan od primjera međuovisnosti djelovanja određenih imunoloških stanica jest suradnja CD4+ limfocita koji lučenjem IL2 potiču sazrijevanje citotoksičnih CD8+ limfocita (1).

4.2 Imunološki sustav i tumorske stanice

Prepoznavanje tumorskih stanica omogućeno je pomoću antigena koji su izraženi na stanicama, koje imunološki sustav pronalazi, prepoznaje i predočuje međudjelovanjem imunoloških stanica. Tumorske stanice na površini izražavaju molekule (tumorske antigene) koji mogu biti specifični za tumor (TSA) ili antigeni pridruženi tumoru (TAA) što znači da je taj antigen izražen i na drugim stanicama organizma u većoj ili manjoj mjeri. Neki tumorski antigeni mogu prouzročiti reakciju odbacivanja, u novije vrijeme TRA (tumor rejection antigene). Imunoterapija se temelji na postojanju ovih antigena jer bi se manipulacijom imunoreakcije usmjerene na ove antigene mogao inhibirati rast tumora.

U imunosti na maligne tumore dominantna je uloga CD8+ limfocita, razlog tomu jest što tumorske stanice antigene na svojoj površini predočuju putem MHC I molekula, koje prepoznaju citotoksični limfociti. CD8+ limfociti djeluju izravno citotoksično na stanicu koja ima tuđi antigen i MHC kao i stanica na koju su senzibilizirani. Unatoč tome, smatra se da CD4+ limfociti također imaju svoju ulogu u imunoreakciji na tumor, osobito kod leukemija, gdje maligne stanice izražavaju i molekule razreda MHC II. Također se djelovanjem gama interferona može potaknuti nastanak MHC II molekula što bi bio poticaj za djelovanje pomagačkih CD4+ limfocita. Osim prepoznavanja antigena u sklopu MHC kompleksa molekula, za tijek imunoreakcije posredovane CD4+ limfocitima potreban je i sekundarni signal kojeg mogu dati samo profesionalne predočne stanice odnosno monociti-makrofagi i dendritičke stanice. Prilikom izostanka sekundarnog signala umjesto klonalne aktivacije, dolazi do inaktivacije klona limfocita, odnosno specifične imunološke tolerancije. Imuno rekacija na tumor vrlo je različita i varira od otpornosti na tumor do imunološkog pospješenja rasta.

Genomska nestabilnost tumorskih stanica djeluje s jedne strane na apoptozu, koju imunosne stanice mogu koristiti kao mehanizam obrane, uzimanjem tumorskih antigena i njihovim predočavanjem u sklopu APC stanica. S druge strane nestabilnost pridonosi slabijem izražavanju antigena na površini stanica, gdje gubitak transportnih proteina (TAP1/TAP2), rezultira smanjenom aktivacijom imunološkog sustava . Osim limfocita u imunoreakciji na tumor sudjeluju i NK stanice, koje mogu pri izravnom dodiru, ali bez prethodne senzibilizacije ubiti tumorske stanice (2). Također treba spomenuti makrofage i monocite čija se protutumorska aktivnost temelji na djelovanju litičkih enzima i metabolita reaktivnog kisika i dušikova oksida. Nadalje, makrofagi postaju nespecifično citotoksični nakon obrade životinja s nespecifičnim stimulatorima retikuloendotela (npr. BCG), tako aktivirani makrofagi selektivno prepoznaju i uništavaju samo stanice sa značajkama zloćudnog rasta, te se mogu

izolirati iz tumora. Zatim, makrofagi djeluju izravno protutumorski lučeći TNFα, pokusi na životinjskim modelima pokazuju da TNFα uštrcan životinjama s tumorom uzrokuju krvarenje i nekrozu u tumorskom čvoru. (1)

Unatoč postojanju imunoreakcije na tumor, spontana imunosna reakcija na tumore je slaba. Na primjer, klonovi citotoksičnih limfocita mogli su se dokazati u bolesnika s neliječenim tumorom tek nakon multiplih imunizacija. Jedan od razloga slabosti imunosne reakcije na tumor može biti slaba prerada, predočavanje ili prepoznavanje tumorskih antigena, slaba aktivacija T limfocita ili razvitak tolerancije. Već spomenuta genetska nestabilnost također pridonosi, slabosti i nedostatnosti imunosne reakcije na tumor, te eliminacije tumorskih stanica.

Jedan od čimbenika, neuspješnosti obrane od tumora je i slabija imunogenost antigena izraženih na membranama tumorski stanica, s obzirom da je organizam na vlastite antigene već stvorio toleranciju. Osim toga, kod mutiranih antigena, često je mutirana samo jedna aminokiselina, što opet ne potiče aktivaciju dovoljnog broja klonova T limfocita. Bitno za spomenuti jest i mogućnost da tumorske stanice luče lokalne supresijske faktore na primjer TGFβ, koji koče funkciju limfocita T. Tumorske stanice mogu skrenuti imunosnu reakciju od reakcije staničnog tipa, odnosno Th1 imunosti, prema humoralnoj imunosti, lučenjem Th2 citokina (IL-4, IL-10). Još jedan od zanimljivih mehanizama obrane tumora od nadzora imunološkog sustava je imunoselekcija, odnosno uništavanje onih tumorskih stanica koje imaju izraženije antigene, nasuprot onih koje su slabije imunogene i koje preživljavaju (2).

5. Neoplazma

5.1 Rast i razvoj tumora

Karcinogeneza je stupnjevit proces i smatra se da je potreban veći broj promjena da bi se zdrava stanica pretvorila u tumorsku. Iako su unutar tumorske nakupine stanice jedinstvenog podrijetla, stanice se razlikuju s obzirom na morfološke osobine, sposobnost proliferacije, površinske biljege, osjetljivost na terapiju itd. Jedna od glavnih karakteristika tumorskih stanica je genetska nestabilnost. Stupnjevi tumorske progresije povezuju se s mutacijama koje aktiviraju onkogene ili inaktiviraju specifične tumor supresorske gene. Vjeruje se da je potrebno barem 6 do 7 promijenjenih gena, da bi došlo do neoplastične pretvorbe. U ovoj je kaskadi događaja gubitak funkcije p53 kasniji događaj koji uvelike pridonosi genetskoj nestabilnosti.

Geni koji su uključeni u nastanak raka su tumorsupresorski geni i onkogeni, potonji su geni proliferacije, čija pojačana aktivnost nastaje mutacijom samo jednog alela, dok je za inaktivaciju tumor supresorskih gena potrebna mutacija oba alela. Uloga ovih gena je kontrola staničnog ciklusa, koja je ključna da bi stanica stvarala jednako potomstvo, bez oštećenja DNA i tako pridonosila održavanju vrste.

Prijelaz stanica kroz stanični ciklus reguliraju izvanstanični i unutarstanični signali. Točna regulacija staničnog ciklusa postiže se kontrolnim točkama, na prijelasku G1 u S fazu, G2 u M i posljednjoj u metafazi mitoze. Ukoliko se pojavi oštećenje DNA ovakvom regulacijom ciklusa sprječava se prijelaz u sljedeću fazu. Glavna kontrolna točka je na prelasku G1/S, gdje pod utjecajem faktora rasta stanice prelaze tu točku i ulaze u S fazu staničnog ciklusa. Ako faktori rasta nisu prisutni stanica će se zaustaviti na kraju G1 faze i ući u fazu G0. Drugi način regulacije je aktivacijom faktora koji izaziva ulazak u mitozu, nazvan faktorom koji potiče sazrijevanje MPF. MPF regulira prijelaz iz G2 faze u M fazu staničnog ciklusa i sastoji se sastoji od dvaju proteina: ciklin B i protein kinaze ovisne o ciklinu (Cdc2). U stanicama sisavaca postoje obitelji Cdc2 srodnih protein kinaza kao i ciklina koji u različitim kombinacijama kontroliraju prijelaske iz jednog dijela ciklusa u drugi, to su Cdk kinaze ovisne o ciklinima. Cdk imaju središnju ulogu u regulaciji staničnog ciklusa i višestruko su kontrolirani. Najdulje poznati protein Cdkl je p21 koji se aktivira nakon oštećenja DNA. P53 aktivira p21, koji će svojim djelovanjem inhibirati kompleks Cdk4 ili Cdk6 ciklin D, koji uzrokuje smanjenu fosforilaciju proteina Rb, to sprječava otpuštanje faktora E2F, čime se koči prijelazak iz faze G1 u S fazu staničnog ciklusa.

Od izvanstaničnih inhibitora stanične proliferacije treba spomenuti TGFβ koji koči prijelaz G1/S, vjerojatno inaktivacijom kompleksa Cdk4/ciklinD. Ciklin D povezuje faktore rasta i unutarstanični signalni sustav, te se sintetizira u prisutnosti faktora rasta. Dakle ako faktora rasta nema ciklin D se razgradi i stanica ulazi u G0 fazu.

Nadalje, jedan od mehanizama besmrtnosti tumorskih stanica je održavanje duljine telomera djelovanjem enzima telomeraze. Normalne stanice imaju ograničen broj dioba, određen duljinom telomera, koje se tijekom svake replikacije u S fazi pomalo skraćuju. U tumorskoj stanici, zbog nepromijenjene duljine telomera, dolazi do nagomilavanja mutacija povećanjem broja dioba što pridonosi invazivnosti i metastaziranju.

Još jedna bitna značajka tumorskih stanica je poremećena ravnoteža između proliferacije i ugibanja stanica. Apoptoza je prijeko potrebna u održavanju homeostaze jedinke, tim se procesom održava stalan broj stanica u tkivu. Preživljenje stanica ovisi o faktorima rasta, dodiru stanice ili o izvanstaničnom matriksu. Apoptozom se mogu ukloniti stanice koje su potencijalno opasne za okolinu. Proces je reguliran s jedne strane cisteinskim proteazama i kaspazama, a za drugu skupinu proteina kodiraju članovi obitelji bcl-2, od kojih neki koče, dok drugi potiču apoptozu. Članovi obitelji Bcl-2 su pojačano eksprimirani u nekim tumorskim stanicama.

Istraživanjem molekularnog senzora odnosno okidača apoptoze, najviše se ističe tumor supresorski gen p53. P53 može djelovanjem na p21 zakočiti stanice u G1 fazi i tako omogućiti popravak DNA (3).

Osim genetske nestabilnosti i oštećenja DNA u regulacijskim regijama, rast tumora je bitno uvjetovan prehranom. U početku svojeg rasta tumor se hrani difuzijom i ovakva lezija se teško dijagnosticira. Ovaj stadij može trajati godinama te se rast odvija sporo. Ova mala populacija stanica je otporna na imunološki sustav i koristi neki od mehanizama, o kojima je bilo govora, da bi prekrila svoj rast i razvoj. Potrebno je 5 godina da tumor naraste do klinički vidljive mase od 1g. Promjena u načinu prehrane nastane kada tumor počinje izlučivati tumorski angiogeni faktor (TAF). Tada počinju procesi vaskularizacije i angiogeneze koji će biti temelj daljnjeg rasta i metastaziranja tumora. Indukcija angiogeneze je jedno od svojstava tumorskog fenotipa, te se intenzitet angiogeneze može upotrijebiti kao prognostički čimbenik. Angiogeneza se određuje imunohistokemijskim bojenjem na CD34 i faktor VIII, monoklonskim protutijelima koji se vežu na endotelne stanice. U fiziološkim uvjetima održava se ravnoteža između pro-antiangiogenskih i antiangiogenskih čimbenika, dok je djelovanjem hipoksije ili recimo gubitkom tumor supresorskog gena p53 narušena ova ravnoteža.

Tumorska invazivnost uzima maha kada tumorske stanice prestanu poštivati odnose u mikrookolišu tkiva u kojem se razvijaju. Tumorske stanice prodiru kroz bazalnu membranu,

odnosno izlaze iz svog prvobitnog staničnog odjeljka. Ovaj proces se odvija preko adhezijskih molekula, te su istraživanja pokazala da tumorske stanice imaju promijenjena adhezivna svojstva. Nakon adherencije stanica na bazalnu membranu počinje proces lize bazalne membrane, te ulazak u limfotok i cirkulaciju. Tumorska invazivnost ovisi o aktivnosti metaloproteinaza, čijom se inaktivacijom može spriječiti tumorska invazivnost.
Klinička istraživanja upućuju da se karcinomi najprije šire limfnim sustavom, a mezenhimalni tumori krvlju. Mjesto metastaziranja je određeno anatomskim položajem žilja i sklonošću za razvojem metastaza. Ta sklonost ovisi o više faktora, o endotelnim stanicama, receptorima, sekreciji čimbenika rasta itd. Smatra se, da se za vrijeme hematogenog metastaziranja brzo eliminira većina tumorskih stanica. Za to su odgovorni vrtložni tok krvi, niska deformabilnost tumorskih stanica, te njihovo liziranje od strane endotelnih stanica. Dok se uspješnost povećava stvaranjem agregata između tumorskih stanica i drugih krvnih stanica, a smatra se da su tumorske stanice aktivne i u sintezi prokoagulantnih molekula (4).

5.2 Imunosupresija, upala i karcinom

Zajednički nazivnik razvoja karcinoma i kronične upale je imunosupresivni okoliš. Ovi procesi se međusobno prožimaju i ovise jedan o drugome. Upala i imunosupresija se pojavljuju kao patogenetski čimbenici ne samo u razvoju karcinoma već i u patogenezi autoimunih bolesti, te bolesti povezane s dobi. Inhibitorni okoliš je uvelike postignut djelovanjem upalnih stanica. Karcinom može nastati kao posljedica upale, ali i sam djeluje producirajući upalne medijatore i upalno mijenja tkivo. Imunosupresija nastaje ili kao posljedica karcinoma, ili u nekim slučajevima imunosupresija inducira karcinogenezu. Medijatori upale transformiraju normalne stanice aktivacijom onkogena ili gubitkom anti-onkogene aktivnosti, te induciranjem tumorske progresije preneoplastične lezije, otpornosti apoptozi i ponovne diferencijacije.

Na primjer reaktivni produkti kisika i dušika ROS i RNS u reakcijama u upaljenom tkivu stvaraju još potentnije reaktivne spojeve koji služe za napad agensa koji je strani i koji nas ugrožava. Iako, upala kao takva služi svojoj svrsi, velike količine reaktivnih spojeva djeluju oštećujući stanice domaćina, DNA, proteine i uzrokujući mutacije. U tijeku upale osim lučenja citokina, luče se i angiogeni faktori VEGF, βFGF, IL8 i matriks metaloproteinaze koji uz oštećenje tkiva pridonose tumorskoj progresiji. U mnogo slučajeva, ovo je uzrokovano tumorskim stanicama koje prisvajaju neke receptore i signalne molekule nespecifičnog imunološkog sustava, kao što su selektini, kemokini i njihovi receptori za invaziju, migraciju i metastazaciju.

Kronične upalne bolesti, kao što je već napomenuto stvaraju povoljan okoliš za razvoj tumora, podržavajući nekontrolirani rast stanica i inducirajući lokalnu imunosupresiju što rezultira rastom tumora bez snažnog imunološkog odgovora. Imunosupresija u domaćina s tumorom je uočena u smanjenoj aktivnosti nespecifične i specifične imunosti. Limfociti T i NK stanice postaju nefunkcionalni zbog gubitka ζ lanca TCR receptora. U normalnim uvjetima ζ lanac igra ključnu ulogu u ekspresiji i signalizacijskoj funkciji receptora s kojima je povezan. Tijekom istraživanja promjena u pojedinaca s malignim tumorom, rezultati su ukazivali na pad funkcije T stanica što je u najvećem broju slučajeva bilo zbog gubitka ζ lanca. U početnim fazama razvoja tumora ova pojava je zamijećena u limfocita koji infiltriraju tumor (TIL), a s razvojem bolesti i u T stanicama periferne krvi. Neka od istraživanja upućuju na istu pojavu NK stanicama. Smatra se da su faktori koje luči tumor oni koji utječu na smanjenu ekspresiju ζ lanca receptora. U većini patologija iako je ζ lanac pogođen, odnosno razina ekspresije je smanjena ili ne postoji, na površini T stanica se nalaze normalne razine TCR receptora. Ovo je sasvim suprotno ekspresiji TCR na normalnim stanicama, gdje će ukoliko nedostaje ζ lanac, TCR biti meta lizosomalne degradacije i razgrađen. Ovo je dokazano u in vivo eksperimentalnom sistemu koji imitira kroničnu upalu kao odgovor na patogeni agens ili pročišćeni antigen, gdje je došlo do „down regulacije ζ lanca“ i disfunkcije T i NK stanica. Stanice koje su u velikoj mjeri odgovorne za nastanak imunosupresije, odnosno utjecaja na TCR T i NK stanica su MSC mijeloidne supresivne stanice. MSC stanice su heterogena populacija koja je uočena u limfatičkim organima tijekom tumorskog rasta, tijekom akutnih infekcija i u reakcijama „graft versus host“. MSC stanice imaju jednu od ključnih uloga u regulaciji upalnog procesa ii kontroli T staničnog odgovora. Broj MSC stanica u limfatičkim organima tijekom akutne upale ili imunizacije je prolazno povišen, za razliku od uvjeta kronične upale tijekom tumorskog rasta, gdje razine ostaju duže vremena povišene. Dakle, smanjenje ekspresije ζ lanca započinje nevino, upalnim procesom, nakon prepoznavanja antigena, aktivacije T stanica koje luče proupalne citokine i dalje se diferenciraju u pomagačke i efektorske stanice. Aktivacija APC stanica se događa ovim mehanizmom ili direktnom aktivacijom njihovih TLR (toll like receptors) endogenim ili patogenim antigenima. Nakon eliminacije stranog agensa, odnosno antigena sustav se vraća u prijašnje stanje. Za razliku od toga ako je antigen kontinuirano prisutan u tkivima i upalni okoliš perzistira, imunološke reakcije neovisne o antigenu će progredirati, a cijeli proces će podržavati oštećenje tkiva i osjetljivost domaćina. U ovakvim ekstremnim uvjetima, T stanice mogu biti pogođene, postati nisko reaktivne sa smanjenom ekspresijom ζ lanca (5).

5.3 Imunološki status onkološkog bolesnika

U sklopu razmišljanja i istraživanja poveznica imunosti i neoplazmi odnosno tijeka imunoreakcije na tumor koja nije u potpunosti shvaćena, možemo se osvrnuti i na imunološki status onkoloških bolesnika. Naime, potvrdila se već ranije poznata činjenica, da je imunološka reakcija u onkoloških pacijenata oslabljena, govori se o imunosupresiji nastaloj zbog malignog tumora. Kako bi se procijenio imunološki status osobe, koriste se kožni testovi: tuberkulinski test i DNCB test. Princip rada u izvođenju tuberkulinskog testa jest intradermalna injekcija određenog antigena, te nakon toga procjena reakcije osobe na temelju mjerenja eritema koji je nastao na tome mjestu. Također, imunološki status se može proučavati promatranjem reakcije limfocita na PHA. Fitohemaglutinini su inicijatori mitoze, što se može dokazati i in vitro u uzorku humanih leukocita. Reakcija koja se promatra jest blastična transformacija, nakon inkubacije otopine PHA i leukocita. Zatim se mjeri radioaktivnost, prethodno ugrađenog radioaktivnog elementa u DNA stanice, na primjer timidina. Izmjerena radioaktivnost se prikazuje kao reaktivni odgovor i uspoređuje se s kontrolnom skupinom leukocita. Za određivanje reaktivnosti leukocita, osim spomenutih fitohemaglutinina, može se koristiti i ConA i PWM, odnosno neki drugi biljni mitogeni. Osim spomenutih načina procjene imunološkog statusa, određivanje broja T i B limfocita te B limfocitni test EAC rozete i za T limfocite test E i A rozete također se koriste u procjenjivanju imunološkog statusa. Ovisno o rezultatima ovih testova, dolazimo do zaključaka o međusobnom odnosu imunosupresije i tumora. Nastaje li imunosupresija zbog malignog tumora ili se tumor razvija zbog imunološkog deficita s naglaskom na posebnosti specifične i nespecifične imunosti odnosno njihovih reakcija, gdje se za potonju smatra da je povezana s progresijom neoplastičnog rasta? Prema Orita (6), odgovor na tuberkulinski test se smanjivao s progresijom bolesti, blastična transformacija se progresivno smanjivala, te je postotak T stanica bio niži u uznapredovali stadijima raka. Spoznaja o stupnju blastične transformacije, koja je ovdje mjerena brojenjem velikih limfocita, može se koristiti u određivanju terapije za pojedinačnog pacijenta, odnosno oni pacijenti čija je razina blastične transformacije preko 40% preoperativno su bili kandidati za radikalnu operaciju. Smatra se da reakcija na fitohemaglutinine govori, o prognozi pacijenta, i da je viša razina blastične transformacije povezana s brže progresivnim tumorima. Nadalje možemo tvrditi da je specifična stanična imunost bila oslabljena u progresivnom karcinomu želuca, kao i u nekim drugim karcinomima, ali najveći pad je očitovan u padu funkcije T limfocita, radije nego u padu njihovog broja, prema novim saznanjima zbog disfunkcije TCR receptora.

Do sličnih rezultata se došlo proučavanjem karcinoma pluća i imunološkog statusa pacijenata. Brugarolas (7) zaključuje da je smanjena kožna preosjetljivost povezana s uznapredovalim karcinomom i kraćim preživljenjem, no ovo ne potvrđuje ideju o nedostatnoj imunosti koja posljedično uzrokuje nastanak karcinoma, jer je u ranom karcinomu bronha imunološki odgovor na kožni test bio očuvan. Suprotno tomu, neki autori su našli snižen broj T limfocita već kod lokalizirane bolesti (8). Istaknuti rezultat, bila bi potvrda povezanosti odgovora na kemoterapiju i reakcije na kožni test. Zapravo iz toga slijedi da kemoterapija nije jednako djelotvorna u ranijim fazama i u terminalnim fazama bolesti. Također bitno za zaključiti jest da pacijenti s istim stadijem bolesti i vrstom karcinoma imaju različite reakcije na kožni test, time i različit imunološki status te se konačno razlikuju i u prognozi. Mladen Ćepulić (9) u svojoj disertaciji proučava imunološki status djece s malignim oboljenjima (1999.g). U istraživanje je uključeno 91 dijete od toga 25 pacijenata s nefroblastomom, 16 s mezenhimalnim tumorom, 12 s neuroblastomom i 33 s drugim tumorom. Svakom bolesniku je provedena obrada i specifične pretrage te pretrage koje su bile predmet istraživanja, odnosno broj T i B limfocita, reaktivnost na PHA, ConA i PWM te razina imunoglobulina u krvi. Pretrage su rađene prilikom dolaska pacijenta, tijekom kemoterapije i nakon izvršene kemoterapije te 2-3 godine od postavljanja dijagnoze. U ovom istraživanju ispitanici su djeca, što je značajno jer je pisano dosta radova o imunološkom statusu odraslih s malignim bolestima, dok je kod djece taj broj bitno manji. U usporedbi s imunološkim parametrima bolesne djece i kontrolne skupine našlo se da je u oboljele djece povišen broj leukocita, ali snižen broj limfocita i broj E rozeta (broj T limfocita). U ovom radu je reaktivnost na mitogene bila u granicama normale, što nije bio rezultat u skladu s drugim istraživanjima, ali se slaže s nalazom Abrahamssona (10) koji je također došao do zaključka da je reakcija na mitogene u vrijeme postavljanja dijagnoze nepromijenjena. Jedna od značajnih razlika u imunološkom statusu bila je između skupine djece koja su preživjela i djece koja su umrla tijekom petogodišnjeg praćenja. Djeca koja nisu preživjela imala su značajno snižen udio limfocita, broj E rozeta i sniženu reaktivnost na mitogene. Ti rezultati, govore u prilog teoriji da lošiji imunološki status djeluje negativno na preživljenje. Iako veza imunoreaktivnosti i stadija bolesti koja je u nekim istraživanjima utvrđena u svim stadijima bolesti, rezultati ovog rada ukazuju na to da se imunološki status djece pri dolasku bez obzira na postojanje metastaza ne razlikuje te nije utvrđeno da djeca s naknadnim recidivima prilikom dolaska imaju niže razine T i B limfocita te smanjenu reaktivnost na biljne mitogene. Dakle, rezultati ovdje ukazuju da prije početka terapije, u trenutku postavljanja dijagnoze, ne postoje statistički značajne razlike koje bi upućivale na lošiju prognozu pacijenata sa smanjenom reaktivnosti imunološkog sustava. Za razliku od toga, utvrđen je pad vrijednosti svih parametara imunosti

tijekom terapije te se našlo da je kod djece koja su preživjela, nakon najvećeg pada parametara imunosti, za vrijeme terapije, odnosno nakon najvećeg imunosupresivnog učinka terapije, došlo do postupnog porasta parametara, dok se kod djece koja nisu preživjela nastavio pad funkcije imunosti. Tijekom kemoterapije u vrijeme maksimalne imunosupresije dolazi do pada reaktivnosti na sva tri mitogena i pada broja limfocita te se tek nakon godine dana nakon završetka terapije vrijednosti vraćaju na početnu raznu. Ovo govori o primarno supresivnom učinku terapije na imunološku reaktivnost, radije nego samog tumora. Očit je negativan utjecaj terapije na imunološki sustav, koji zbog slabljenja može rezultirati lošijim ishodom liječenja. Trebali bi se razvijati načini jačanja imunološke reaktivnosti pacijenata koji primaju kemoterapiju ili zračenje, jer bi na takav način došlo do poboljšanja njihovog preživljenja i oporavka. Konačno, daljnjom analizom podataka zaključilo se, da se skupina preživjelih razlikuje od preminulih već u 3 do 6 mjesecu od početka terapije po nižoj razini IgA i IgG, visokom reaktivnosti na PHA i ConA, velikim brojem E i EAC rozeta. Analizom podataka za ove dvije skupine 3 do 6 mjeseci nakon terapije, također se vidi razlika umrlih i preživjelih gdje su potonji imali višu reaktivnost na mitogene, veći broj E i EAC rozeta, niži IgA, te veći broj leukocita. Rezultati pokazuju da procjenom imunološkog statusa pacijenata tijekom terapije možemo znati ponešto o prognozi i usmjeravati terapiju, u nadi za najbolji ishod.

6. Kronična upala i neoplazma

6.1 Upala kao poticaj za razvoj tumora

Na tragu novih spoznaja o ulozi pojedinih vrsta imunosti u borbi s malignim bolestima, treba detaljnije objasniti vezu kronične upale i razvoja malignih tumora. Upala, koja dovodi do uništenja tkiva i nemogućnosti potpunog uključivanja ili isključivanja djelovanja stanica imunološkog sustava, dovodi do oštećenja DNA, proteina te remodeliranja tkiva, što u konačnici stvara povećani rizik za nastanak karcinoma. U usporedbi s činjenicom da je infiltracija tumorskog tkiva NK stanicama, na primjer u kolorektalnom karcinomu povezana s boljom prognozom i pokušajem imunološkog sustava da uništi maligne stanice, infiltracija makrofagima u tkivu karcinoma dojke, prema određenim saznanjima povezana je s lošijom prognozom (11).

Također, od nedavno je poznato da je upala u nekih vrsta karcinoma, izravno povezana s nastankom istih, na primjer hepatitis i nastanak karcinoma jetre ili kronična infekcija Helicobacter pylori i karcinom želuca (12).

Vezano uz upalu i razvoj karcinoma, nedavno je dokazano da je kumulativno velika upotreba antibiotika povezana s povećanim rizikom za razvoj karcinoma dojke (13). Pitanje je tumačenja ove povezanosti, iako je moguće da bakterijska infekcija potencijalno štiti od neoplastičnih promjena ili da antibiotici nekako pozitivno utječu na nastanak karcinoma, najvjerojatnije je da pojedinci kod kojih je dokazana ova povezanost kontinuirano održavaju nisku razinu kronične upale ili su prirodno imunodeficijentni. Jedan od dokaza koji podržava teoriju o pozitivnom utjecaju upale na razvoj karcinoma jest učinak inhibitora ciklooksigenaze, koji dokazano smanjuju rizik za nastanak malignih tumora (14). Dakle, povećane koncentracije COX2 djeluju pozitivno na rast neoplastičnih stanica. COX2 potiče razvoj malignog tkiva regulacijom signalnih putova koji su ključni za angiogenezu, upalu i imunološki nadzor. Stromalne stanice, osobito stanice imunološkog sustava te također maligne stanice dovode do povećanja koncentracije COX2 tijekom maligne pretvorbe i rasta. Prema tome, uistinu bi terapija inhibitorima COX2 usporila razvoj karcinoma, ali ovisno o specifičnom tkivu gdje se proces odvija, s obzirom da su procesi jedinstveni za tip tkiva.

U prilog teoriji da kronična upala zbog specifičnih reakcija i kontinuirane aktivacije stanica imunološkog sustava, pozitivno djeluje na malignu pretvorbu i širenje te remodelaciju tkiva u premalignim lezijama, govore i modeli miševa s HPV16 infekcijom koji su deficijentni za TNFα i TNFα receptor, i zbog te promjene imaju manji rizik za razvoj karcinoma kože,

odnosno manje metastaza istog. Ova pojava se može objasniti posebnošću mikrookoliša tumorskih stanica koji je bogat medijatorima upale, proupalnim citokinima na primjer TGFβ, VEGF, IL-1, IL-2, TNFα te imunološkim stanicama. Iz toga proizlazi ideja o blokadi pojedinih medijatora upale ili pripadajućeg receptora, u ovom slučaju TNFα, koji će direktnim ili indirektnim mehanizmima inhibirati proliferaciju i preživljenje tumorskih stanica. U nizu pokusa na životinjskim modelima, praćen je, razvoj skvamoznog epitelnog karcinoma kože i cerviksa, uzrokovanog infekcijom HPV16 na modelu miša, te se histopatološkom analizom potvrdilo postojanje imunoloških stanica odnosno upale, u malignom tkivu (15). Također, postoji razlika infiltracije premalignih lezija kože, gdje su kožne lezije primarno infiltrirane mastocitima, za razliku od cervikalnih lezija gdje su u najvećem broju nađeni makrofagi (16).

Nadalje, se nađena je veza TNFα i proupalnog transkripcijskog faktora NFκB. Pikarsky i kolege (17) su potvrdili na mišjem modelu kolestatskog hepatitisa koji predisponira miševe na razvoj hepatocelularnog karcinoma, da je preživljenje hepatocita i progresija malignih stanica pod nadzorom NFκB. Vezano uz tu činjenicu inhibicija TNFα ili indukcija Iκb (inhibitor NFκB) u kasnim fazama razvoja neoplazme dovodi do usporenja rasta i nemogućnosti daljnjeg razvoja karcinoma. NFκB ima dvostruku ulogu u tumorskoj progresiji, prevencijom apoptoze stanica s malignim potencijalom i stimulacijom proizvodnje proupalnih citokina.

Još jedno slično istraživanje, vršeno također na modelu miša, u svrhu razjašnjenja dvojake uloge imunosti u nastanku neoplazmi, jest model inficiran HPV16, ali s deficijencijom mastocita. Ovdje se pokazalo da je u miševa s deficijencijom mastocita i infekcijom HPV16 došlo do prigušenja razvoja malignog tumora, u usporedbi s kontrolom, miševima u kojima nije bilo manipulacija s imunološkim sustavom, a bili su inficirani HPV16. Ovo se može objasniti smanjenom angiogenezom i nemogućnošću keratinocitne proliferacije u skupine miševa s deficijencijom mastocita.

Iako postoje dokazi o kroničnoj aktivaciji nespecifične imunosti kao poticaju za rast malignih stanica, još uvijek nije u potpunosti razjašnjena uloga specifične imunosti u razvoju neoplazmi. Imunosuprimirani pojedinci, bilo zbog presađenog organa, neke infekcije, na primjer HIV, imaju povišen relativni rizik za razvoj određenih karcinoma. Naravno ovisno o drugim utjecajima, osobito etiologiji i lokaciji pojedinog karcinoma. Kad govorimo o razvoju karcinoma kod imunosupresije primarno se misli na povišen relativni rizik za razvoj karcinoma uzrokovanih virusnom infekcijom, na primjer Kaposijev sarkom, non Hodgkin limfom vezan uz EBV infekciju i HPV skvamozni karcinom. Također nastanak i sijelo karcinoma ovisi o rizicima koji proizlaze iz načina života. Suprotno tomu, pacijenti koji su pod

imunosupresivnom terapijom imaju niži rizik za nastanak karcinoma dojke, prostate ii mokraćnog mjehura. (15)

Za traženje odgovora na pitanje zašto je rizik za nastanak pojedinog malignog tumora smanjen odnosno povećan kod imunosuprimiranih osoba koriste se epidemiološki podatci o incidenciji karcinoma te životinjski modeli, od kojih neki ukazuju na povezanost imunološkog deficita i kemijski induciranih karcinoma te povišene incidencije određenih tumora ovisno o prisutnosti bakterijske infekcije. Smatra se da je glavna uloga stečene imunosti regulacija aktivacije nespecifične imunosti u neoplastičnom tkivu. Naime pronađeni su depoziti IgG u premalignom i malignom tkivu (18). Međudjelovanje depozita imunoglobulina, stanica imunološkog sustava i komplementa koji se uključuje, zapravo označava aktivaciju nespecifične imunosti koja će dalje podržavati upalu, odnosno doći će do nastanka kronične upale, a time i daljnjeg razvoja malignog tkiva, čiji razvoj kronična upala pospješuje.
U svrhu potvrde ove teorije proučavani su HPV16 inficirani miševi koji imaju deficijenciju T i B limfocita i rezultati uspoređivani s kontrolnom skupinom miševa s HPV16 infekcijom, ali urednog imunološkog statusa. Rezultati su pokazali da je kod miševa s imunološkim deficitom bilo razmjerno manje invazivnih karcinoma, te je utvrđena smanjena infiltracija premalignih lezija sa stanicama nespecifične imunosti (19). Sveobuhvatno, sve studije koje se rade u traganju veze imunološkog sustava i karcinoma, odnosno imunosupresije kod pojedinaca i nastanka karcinoma te u konačnici preživljenja i onkoloških bolesnika doprinose razvoju terapije. Čest uzrok neuspjeha imunoterapije, jest upravo nedovoljna aktivacija ili premali broj aktiviranih T limfocita koji posljedično neuspješno i u nedovoljnoj mjeri infiltriraju tumorska tkiva.

6.2 Mikrookoliš tumorskog tkiva

Kroz rasprave i radove na temu imunologije i nastanka te progresije tumora, mikrookoliš je jedna od kategorije koja se opetovano spominje. Ravnoteža organizma je očuvana svojom dinamičnošću, a stalni procesi apoptoze i angiogeneze na najnižoj razini bitno utječu na homeostazu cijelog organizma i dovode, u stanjima kad postoji neka promjena ili bolest, do eradikacije ili potencijalno do poticanja daljnjeg razvoja bolesti. Upala utječe na progresiju i razvoj karcinoma proizvodnjom bioaktivnih molekula od strane stanica koje infiltriraju tumorski mikrookoliš. Te molekule uključuju: citokine, faktore rasta, kemokine, signale za preživljenje stanica koji inhibiraju apoptozu, proangiogenetske faktore, metaloproteinaze koje promoviraju epitelno mezenhimalnu tranziciju (EMT).

Citokini su proteini niskomolekularne težine koji omogućavaju komunikaciju između stanica. Oni reguliraju proliferaciju, preživljenje stanica, diferencijaciju, aktivaciju imunoloških stanica, migraciju stanica i staničnu smrt. Ovisno o tumorskom mikrookolišu citokini posreduju protutumorsko djelovanje, ali u tijeku kronične upale mogu potaknuti staničnu pretvorbu ii malignost.

Kao što je već prije spomenuto upala koja nije izliječena može dovesti do razvoja malignosti, na primjer TNFα je jedan od medijatora upale kojeg vežemo uz karcinogenezu, primarno je tome zaslužna njegova aktivnost u kroničnim upalnim bolestima. Moore (20) je dokazao da su miševi deficijentni za TNFα otporni na razvoj karcinoma induciranih s TPA. Smatra se da je TNFα najznačajniji u ranim stadijima karcinogeneze, te djeluje inducirajući angiogenezu i invazivnost. Iako je TNFα prototip proupalnog citokina, dokazi upućuju na dvojnu ulogu ovog citokina u karcinogenezi. Vezanjem za jednog od receptora za TNFα, moguća je indukcija četiri različita signalna puta, od koji je jedan proapoptotski, a drugi antiapoptotski. Kontroverznost djelovanja TNFα u tumoru jest ta da u visokim koncentracijama ovaj citokin inducira antitumorski odgovor, što je dokazano u mišjem modelu sarkoma (21). Na tome se temeljila ideja o terapiji TNFα, gdje se sustavna primjena TNFα pokazala opasnom, jer izaziva hipertenziju i zatajenje organa, ali se lokalno primijenjen TNFα pokazao uspješnim u svom protutumorskom djelovanju. Suprotno tomu, niske koncentracije TNFα induciraju tumorski fenotip, to je temeljeno na produkciji reaktivnih radikala kisika i dušika. Također je dokazano da bolesnici s povišenim koncentracijama TNFα u tumorskim otočićima ne-malih stanica karcinoma pluća imaju bolje preživljenje za razliku od bolesnika s povišenjem TNFα u stromalnim stanicama, koji imaju lošiju prognozu. U skladu s ovim saznanjima slijedi da pro- ili antitumorska aktivnost TNFa ovisi o lokalnoj koncentraciji te o mjestu ekspresije u tumoru.

IL-6 je također proinflamatorni citokin, s tipičnim protumorskim efektom. Dokazane su povišene razine IL-6 u bolesnika sa sistemskim tumorima, za razliku od zdravih kontrola. IL-6 se predlaže kao prediktor malignosti, s osjetljivosti i specifičnosti od oko 60-70% i 58-90%. Smatra se da ima važnu ulogu u poticaju proliferacije i inhibiciji apoptoze, vezanjem za svoj receptor (IL-6Rα) i koreceptor gp130 i aktivacijom signalnih putova kojima IL-6 inducira tumorogenezu hipermetilacijom tumor supresor gena i hipometilacijom retrotranspozona dugog nuklearnog elementa 1 (LINE-1) u stanicama skvamoznog oralnog karcinoma in vitro. Ove spoznaje ukazuju na IL-6 kao terapeutski cilj u karcinomima.

TGFβ ima imunosupresivno i protuupalno djelovanje. U fiziološkim uvjetima TGFβ ima ulogu u embriogenezi, proliferaciji stanica, diferencijaciji, apoptozi, adheziji i invaziji. Uloga TGFβ u karcinomu je višestruka i proturječna, te ovisi o stadiju tumorogeneze. U ranim stadijima,

TGFβ se ponaša kao tumor supresor, inhibirajući progresiju staničnog ciklusa i potičući apoptozu. Kasnije, TGFβ potiče invaziju i metastaziranje inducirajući epitelno-mezenhimalnu tranziciju (EMT). U tumorskom mikrookolišu, izvor TGFβ su stanice karcinoma i stromalne stanice, uključujući stanice imunološkog sustava i fibroblaste. Koštana srž je također izvor TGFβ i često je mjesto metastaziranja mnogih karcinoma, što je vezano uz tumor-promovirajuće karakteristike ovog citokina. (22)

IL-10 je poznat kao jak protuupalni citokin, te ga luče skoro sve stanice imunološkog sustava. Osim imunoloških stanica, IL-10 luče i stanice tumora te makrofagi koji infiltriraju tumor. Međutim istraživanja su ukazala na anti i protumorski utjecaj ovog citokina. IL-10 inhibira NFκB signalizaciju, te tako smanjuje ekspresiju proupalnih citokina i djeluje antitumorski. U skladu s ovime, Berg (23) je dokazao da su miševi deficijentni za IL-10 skloniji razvijanju tumora induciranih bakterijskom upalom. Za razliku od toga, svojim imunosupresivnim učinkom na makrofage i dendritičke stanice IL-10 djeluje negativno na prezentaciju antigena, sazrijevanje i diferencijaciju stanica, omogućujući malignim stanicama bijeg od mehanizama imuno nadzora (22).

6.3 Stres i razvoj tumora

U otkrivanju patogeneze nastanka karcinoma, treba razmišljati i o utjecaju stresa na fiziološke procese i organizam u cijelosti. Smatra se da je stres značajan čimbenik ne samo u procesu karcinogeneze nego i u patogenezi drugih bolesti, osobito onih čiji je rizični faktor dob. Na primjer jedna od poveznica razvoja i nastanka karcinoma i Alzheimerove bolesti je stres. Kada govorimo o stresu, treba definirati što je stres. Prema trajanju stres može biti akutni i kronični, a prema utjecaju na čovjeka može biti pozitivni i negativni. Od začeća se događaju procesi koje možemo okarakterizirati riječju stres, na primjer oplodnja, u kojoj spermij koristi veliku energiju i konačno žrtvuje život da bi se fuzionirale dvije stanice, taj proces može izazvati stres u toj stanici, znači li to i stres za cijeli organizam? Možemo li to tumačiti kao pozitivni stres, koji ne škodi, slično stresu prije ispita koji nas ujedno i motivira?

Osim toga stres može biti mehanički, raspored sila na određenu površinu. Ovaj stres se tijekom vremena zanemario kao potencijalni faktor u patogenezi nekih bolesti, uključujući i karcinome. Zapravo, mehanički stres možemo izjednačiti intersticijalnom pritisku u tkivima koji je i posljedica upala. Upala kao što je prije naglašeno, povezana je s različitim bolestima, osobito bolestima čiji su rizični faktori dob i spol, najviše zato jer je starenje izravno povezano

s kroničnim upalom i medijatorima koji su proizišli iz upalnog procesa. Upala je karakterizirana, već prije 2000. godina riječima rubor, tumor, calor, dolor. Dakle, upala uzrokuje mehanički pritisak. Kapilarni hidrostatski tlak vuče tekućinu iz žila u intersticij, a osmotski tlak unutar kapilara ovisi o koncentraciji plazmatskih proteina, te on vuče tekućinu natrag u kapilare. Upala uzrokuje ekstravazaciju proteina u izvanstanični prostor, u kojem je sada povišen osmotski tlak. In vivo i in vitro je dokazano da hiperosmolarnost inducira odgovor epitelnih stanica lučenjem proinflamatornih citokina (24). Moglo bi se reći upala je sinonim za povećani osmolarni tlak. Mnogi solidni tumori imaju povišen intersticijalni tlak tekućine (IFP). To tvori barijeru u liječenju tumora, zbog slabijeg unosa lijeka. Uloga povišenog tlaka je skromno proučavana u karcinogenezi. Učinak povišenog tlaka se najbolje vidi u razvoju hepatocelularnog karcinoma. Parenhim jetre ima tlak od 4 mmHg, cirotična jetra od 13 mmHg, a primarni ili metastatski karcinom ima tlak između 15 i 25 mmHg. Povećani tlak uzrokuje depoziciju kolagena ili stanični odgovor u smislu smrti stanica ili proliferacije. Povećani je tlak, odgovoran i za invazivnost karcinoma, zbog povećanja tlaka stanice mogu dospjeti do krvnih žila i stvarati udaljene metastaze. Mehanička deformacija uzrokuje staničnu proliferaciju, na primjer u liniji stanica karcinoma kolona, HCT116, proliferacija stanica porasla je za 30% nakon dva dana od deformacije (25). Još jedno od svojstava koje je redovito promijenjeno tijekom karcinogeneze je polaritet stanica. Konkretno, mehaničke sile koje stvaraju susjedne stanice mogu inducirati polaritet stanice, i utjecati na stanično dijeljenje (26).

Nadalje, psihički stres također utječe na homeostazu organizma. I stres i depresija su povezani sa smanjenim brojem citotoksičnih limfocita T i NK staničnom aktivnosti, što utječe na imunološki nadzor tumora. U stresu se aktivira osovina hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda, te se zna da neuroendokrini i imunološki sustav dijele zajedničke receptore i signalne molekule, što upućuje da i mozak ima imuno-regulacijsku ulogu, a imunološki sustav senzornu ulogu. U stresu se otpuštaju veće količine kateholamina i opijata, za koje se smatra da imaju imunosupresivno djelovanje. Kortkosteroidi, nađeni u velikim koncentracijama za vrijeme stresa, imaju imunosupresivno djelovanje na funkciju makrofaga i limfocita. Za vrijeme stresa, dolazi do promjena ravnoteže Th1 i Th2 imunog odgovora. O razlikama Th1, odnosno tipa 1 pomoćničkih limfocita, koji induciraju staničnu imunost i tipa 2 limfocita koji potiču reakciju posredovanu protutijelima već je bilo govora. Ova dva puta imunosti se mogu međusobno inhibirati, Th2 stanice luče IL4 i IL10 koji suprimiraju aktivnost Th1 stanica, dok je smanjenje lučenja IFNγ od strane Th1 stanica inhibirano prisutnošću IL10 koji suprimira sintezu IL12. IL12 je ključni regulator stanične imunosti, on je stvoren u ranom nespecifičnom imunom odgovoru, te potiče stvaranje IFNγ. Smatra se da neuroendokrini

medijatori, selektivno suprimiraju Th1 imuni odgovor, za kojeg se misli da ima glavnu ulogu i imuno reakcijama prema karcinomskim stanicama. Ova inhibicija se događa inhibicijom stvaranja IL12 koji je jedan od citokina uključenih u Th1 imuni odgovor. Ovo je kratki opis mehanizama na staničnoj razini, a pokusi na životinja potvrđuju ulogu stresa u patofiziologiji imunosupresije i karcinogeneze.

Na primjer, stanice slezene uzete iz miša koji je dnevno bio izložen stresu imaju smanjeni odgovor na mitogene (27). Stresni uvjeti mogu uvelike smanjiti imuni odgovor krvi i limfocita slezene, uključujući dijeljenje T stanica, proizvodnju IgG2a (kontrolirana Th1 stanicama), ali ne i IgG1 (kontrolirana Th2 stanicama), NK staničnu aktivnost, proizvodnju IL2 i IFNγ. Nasuprot tomu, druga istraživanja pokazuju smanjenje Th1 i Th2 stanične aktivnosti, kao odgovor na stres, ali bez utjecaja na NK staničnu aktivnost i koncentracije citotoksičnih limfocita. Ovakvi kontradiktorni rezultati govore najviše o osebujnosti i kompleksnosti reakcije ponašanja, signala koje šalje mozak, imunološkog sustava i stresora.

Još jedna od varijabli koja se može promatrati jest nedostatak socijalnih interakcija u odnosu na imunološki sustav. Studije su pokazale da se nedostatak socijalnih interakcija između životinja može povezati sa smanjenom NK aktivnošću i povećanom sklonošću metastaziranju. Vezano uz ova istraživanja može se zaključiti da bi stresni uvjeti mogli potaknuti inicijaciju i progresiju karcinoma, slabeći imuno nadzor, te primarno NK staničnu aktivnost.

Studije na ljudima pokazuju sljedeće rezultate, depresivni bolesnici imaju promjene u imunološkom statusu, leukocitozu, malo smanjenje broja NK stanica, povećanje omjera CD4+ i CD8+ limfocita, smanjen odgovor limfocita na stimulaciju mitogenima, veće koncentracije neutrofila i pad funkcije NK stanica i T stanica. Ovo može biti značajan nalaz, osobito jer se vidi pad u funkciji pojedinih stanica, međutim neće svi bolesnici s depresijom razviti karcinom, što opet govori o mnogo čimbenika koji utječu na razvoj neoplazme. Također, neke studije ističu razliku akutnog i kroničnog stresa, gdje akutni stres poboljšava funkciju imunološkog sustava preko hormona otpuštenih u stresu, a kroničnost djeluje iscrpljujuće, uzrokujući bolest. Još jedan od podataka povezanosti imunosti i emocionalnog života čovjeka je nalaz sniženog odgovora T limfocita na PHA kod osoba netom nakon smrti supružnika. U drugoj studiji, žene su nakon smrti supruga imale smanjenu NK staničnu aktivnost i više razine kortizola u plazmi. Iako neke studije potvrđuju ove nalaze, postoje one u kojima nisu nađene značajne promjene, možda zbog drukčijih metoda rada ili zbog nekih čimbenika osobe na koje se ne može utjecati.

Smanjen stanični imuni odgovor je povezan s većom incidencijom nekih karcinoma, osobito EBV limfoma, kod bolesnika s transplantiranim organom i Kaposijevog sarkoma kod oboljelih od AIDS-a. Stres je povezan s povećanom ekspresijom IL1, IL6 i TNFα, otpuštenih iz makrofaga i mastocita, te sa sniženim razinama IL2, IFNγ, smanjenom NK aktivnošću i ekspresijom MHC II. Velik broj tumora ima povećane koncentracije TNFα, koji inhibicijom aktivnosti tirozin fosfataze smanjuje ekspresiju MHC I molekula, pomažući tumorskim stanicama u bijegu od nadzora imunološkog sustava. Dakle, stres i depresija pomažu progresiju tumora inhibicijom ekspresije MHC I i MHC II molekula, te smanjenjem NK stanične aktivnosti. Ova bi teza mogla objasniti povećanu incidenciju limfatičkih i hematoloških oboljenja u kohorti 6284 Izraelska Židova koji su izgubili odraslog sina (28).

Jedno je sigurno, stres utječe na razvoj loših životnih navika, na primjer pušenje, nedostatak sna i odmora za koje se zna da mogu biti čimbenik razvoja karcinoma, ono što ostaje pitanje jest što je s ostatkom osoba sa sličnim životnim navikama kod kojih nije došlo do bolesti, koji se mehanizam obrane razvio kod njih?

7. Zaključak

Ovdje se raspravljalo o pitanjima djelovanja različitih imunoloških stanica i vrsta imunosti na maligni tumor, o kroničnoj upali kao rizičnom faktoru za nastanak i progresiju karcinoma, te o praćenju imunološkog statusa i odgovaranju na pitanje odakle dolazi imunosupresija u onkoloških bolesnika i zbog kojih faktora su imunosuprimirani pojedinci više izloženi riziku za nastanak pojedinih karcinoma. Problem je u kontradiktornosti pojedinih istraživanja, nedovoljnom znanju o tijeku imunološke reakcije na tumor, razlučivanju granice imunosupresije nastale zbog samog tumora ili terapije. Kao i svi prirodni i patološki procesi, nastanak tumora i obrana od strane imunološkog sustava je kompleksna i teško je govoriti o konkretnim pravilima koji bi se mogli primijeniti na široku populaciju, s obzirom da je individualnost ovdje osobito naglašena komponenta svake jedinke. Naravno, kada bi se znali odgovori na neka od ovih pitanja i problema, daleko bi više znali o nastanku i razvoju malignih bolesti, koje zahvaćaju veliki dio populacije, čak i sve mlađe dobi, a rezultiraju velikim gubicima i tjelesnim i psihičkim za pacijente te financijskim za zdravstveni sustav. Također, većim shvaćanjem patogeneze i interakcija imunosti i malignih stanica, pridonijelo bi se uvelike liječenju ovih bolesti. Bolje liječenje i razumijevanje imunoreakcije na tumor, poboljšalo bi preživljenje, skrb i očuvalo višu kvalitetu života bolesnika s malignim tumorima. Dakako, velik je put koji treba proći, ali je potrebitost osoba koje boluju od maligne bolesti još veća, a osim liječenja, potrebno je i skinuti stigmu i naći rješenja koja će njima pomoći u suočavanju s bolesti, potrebno im je pružiti nadu koja im treba, i predočiti racionalna objašnjenja dokazana znanstveno koja će ih voditi pravim putem, bez skretanja u varljive i i nepoznate prečace koji mogu završiti tragično. Njima će potpuna demistifikacija ovih procesa, s velikim poštovanjem prema prirodi i životu na razinama od stanice do cjelokupnog organizma, pružiti mir i snagu za borbu s bolesti.

8. Zahvale

Zahvalnost u prvom redu dugujem svom mentoru prof.dr.sc. Nikoli Đakoviću, na pomoći i savjetima u izradi ovog diplomskog rada te poticaju za usvajanjem novih znanja i izražavanjem vlastitog stava i osjećaja kroz pisanje, učenje i svaki rad.
Zahvaljujem se svim prijateljima s kojima sam prolazila lake i teške trenutke studiranja.
Također, posebnu zahvalnost iskazujem svojoj obitelji, roditeljima, Andriji, Anti i teti koji su me uvijek podržavali i usmjeravali na pravi put.
Najveća zahvala je upućena mojim roditeljima, vi ste mi uzor i oslonac!

9. Literatura:

1. Taradi M. Imunoreakcija na tumor. U Andreis I, ur. Imunologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2010. Str. 362-387
2. Čulo F. Imunosno prepoznavanje tumorske stanice. U Šamija M, ur. Onkologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2000. Str. 29-40
3. Ban J, Matulić M, Osmak M. Molekularna biologija proliferacije zloćudnih tumora. U Mršić- Krmpotić Z, ur. Internistička onkologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2004. Str. 3-32
4. Juretić A. Metastaziranje i angiogeneza. U Šamija M, ur. Onkologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2000. Str.41-45
5. Baniyash M. Chronic inflammation, immunosuppression and cancer: New insights and outlook. Semin Cancer Biol. 2006; 16(1):80-88
6. Orita K, Miwa H, Fukuda H, Yumura M, Uchida Y, Mamnami T. Preoperative Cell-Mediated Immune Status of Gastric Cancer Patients. Cancer.1976; 38 (6): 2343-2348
7. Brugarolas A, Takita H. Immunologic Status in Lung Cancer. Chest. 1973; 64(4): 427-430
8. Pillai MR, Balaram P, Padmanabhan TK, Abraham T, Hareendran NK, Nair MK. Immunocompetence in lung cancer, Cancer.1989; 64 (9): 1853-1858
9. Ćepulić M. Imunološki status u djece sa solidnim malignim tumorima (disertacija). Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet, 1999.
10. Abrahamsson J, Marky I, Mellander L. Immunoglobulin levels and lymphocyte response to mitogenic stimulation in children with malignant disease during treatment and follow up. Acta Pediatr.1995; 84(2):177-82.
11. Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, Greenall M, Clarke J, Harris AL. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. Cancer Res. 1996; 56(20): 4625-4629.
12. Finch CE & Crimmins EM. Inflammatory exposure and historical changes in human life spans. Science. 2004; 305(5691):1736-9.

13. Velicer CM, Heckbert SR, Lampe JW, Potter JD, Robertson CA, Taplin SH. Antibiotic use in relation to the risk of breast cancer. JAMA. 2004; 291(7): 827-35.

14. Dannenberg AJ, Subbaramaiah K. Targeting cyclooxygenase-2 in human neoplasia: rationale and promise. Cancer Cell 2003; 4(6):431-436.

15. de Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. Nat Rev Cancer. 2006; 6(1):24-37.

16. Giraudo E, Inoue M, and Hanahan D. An aminobisphosphonate targets MMP-9-expressing macrophages and angiogenesis to impair cervical carcinogenesis. J Clin Invest. 2004; 114(5): 623–633.

17. Pikarsky E, Porat RM, Stein I, Abramovitch R, Amit S, Kasem S, et al. NF-κB functions as a tumor promoter in inflammation-associated cancer. Nature.2004; 431(7007):461-466

18. Stuart LM, Ezekowitz RA. Phagocytosis: elegant complexity. Immunity. 2005; 22(5):539-550

19. de Visser KE, Korets LV, Coussens LM. De novo carcinogenesis promoted by chronic inflammation is B lymphocyte dependent. Cancer Cell. 2005; 7(5):411-423

20. Moore RJ, Owens DM, Stamp G, Arnott C, Burke F, East N et al. Mice deficient in tumor necrosis factor alpha are resistant to skin carcinogenesis, Nat Med. 1999; 5(7):828-831

21. Havell EA, Fiers W, North RJ. The antitumor function of tumor necrosis factor (TNF), I. Therapeutic action of TNF against an established murine sarcoma is indirect, immunologically dependent, and limited by severe toxicity. J Exp Med. 1988; 167(3):1067-1085

22. Landskron G, De la Fuente M, Thuwajit P, Thuwajit C, Hermoso AM. Chronic Inflammation and Cytokines in the Tumor Microenvironment. Journal of Immunology Research. 2014; 1-19

23. Berg DJ, Davidson N, Kühn R, Müller W, Menon S, Holland G et al. Enterocolitis and colon cancer in interleukin-10-deficient mice are associated with aberrant cytokine production and CD4(+) TH1-like responses. J Clin Invest. 1996;98(4):1010-1020.

24. Schwartz L, Guais A, Pooya M, Abolhassani M. Is inflammation a consequence of extracellular hyperosmolarity. J Inflamm (Lond). 2009; 6:21

25. Johnson FE, Zhou M, Collins BT, Huang JS. Mechanical deformation induces proliferation of human colorectal carcinoma cells. Int J Oncol. 2000; 16(3): 617-622

26. Levy Nogueira M, da Veiga Moreira J, Baronzio GF, Dubois B, Steyaert JM, Schwartz L. Mechanical stress as the common denominator between chronic inflammation, cancer, and Alzheimer`s disease. Front Oncol. 2015; 5:197

27. Monjan AA, Collector MI. Stress- induced modulation of the immune response, Science. 1977; 196(4287):307-308

28. Reiche EM, Nunes SO, Morimoto HK. Stress, depression, the immune system and cancer. Lancet Oncol. 2004; 5(10):617-625

10. Životopis

Zovem se Iva Jurčević, rođena sam 30.7.1991. u Zagrebu.

Nakon osnovne škole završila sam IV.gimnaziju u Zagrebu. Tijekom srednjoškolskog školovanja bila sam na Floridi, u sklopu učeničke razmjene. Medicinski fakultet sam upisala 2010. godine. Tečno se služim engleskim jezikom, a dobro razumijem i španjolski jezik.