

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK**

EVOLUCIJA TUMORA

TUMOR EVOLUTION

ZAVRŠNI SEMINAR

Matko Tudor
Preddiplomski studij molekularne biologije
Mentor: izv. prof. dr. sc. Maja Matulić
Zagreb, 2019.

SADRŽAJ

UVOD	3
MONOKLONSKO PORIJEKLO TUMORA I MATIČNE STANICE	4
MONOKLONSKO PORIJEKLO TUMORA	4
MATIČNE STANICE.....	5
POSTUPNOST RAZVOJA TUMORA	5
GENOMSKE PROMJENE U KARCINOGENEZI	8
METABOLIČKE PROMJENE U TUMORIMA.....	9
HETEROGENOST TUMORA	10
INTERAKCIJE MEĐU TUMORSKIM STANICAMA I SA NORMALNIM STANICAMA.....	14
SAŽETAK.....	18

UVOD

Nastanak višestaničnosti je jedan od najvećih koraka evolucije, pri kojem su stvorene jedinice sagrađene od tkiva čije su stanice organizirane nalik ekosustavu (Alberts i sur., 2019.). Stanice u organizmu se dijele i organiziraju tako da omogućuje održanje homeostaze u organizmu (somatske stanice) ili uspjeha u reprodukciji (germinativne stanice) (Alberts i sur., 2019.). Kako bi takav sustav bio održiv, stanice moraju međusobno surađivati. Suradnja se odvija putem signalnih molekula odgovornih za kontrolu razvoja i ponašanja stanica (Alberts i sur., 2019.). Diobom stanica te djelovanjem vanjskih utjecaja, u stanicama se nakupljaju nasumične genomske promjene te kad se nakon nekog vremena nakupi dovoljno mutacija u genima koji sudjeluju u kontrolnim mehanizmima, pojedine stanice prestaju podržavati homeostazu organizma (Hannahan i sur., 2011., Weinberg, 2013.). Mutacije pojedinoj stanici daju selektivnu prednost u obliku povećane proliferacije te boljeg preživljavanja i takva stanica postaje osnivačica tumora (Alberts i sur., 2019.). Povećanom proliferacijom i nastankom mutatorskog fenotipa, povećana je mogućnost nakupljanja novih mutacija i zato nastaje genetski vrlo heterogena nakupina stanica koju nazivamo tumor ili novotvorevina (Alberts i sur., 2019.). U heterogenoj populaciji tumorskih stanica, stanice sa najvećom sposobnosti preživljavanja i proliferacije imaju prednost pred ostalim stanicama u specifičnim okolišnim uvjetima (Alberts i sur., 2019.). Taj proces uzrokuje stalne promjene u genskoj zalihi populacije pa zato tumore možemo promatrati kao mikroevolucijski proces koji se odvija u tijelu organizma (Alberts i sur., 2019.). Tumori mogu biti benigni (dobročudni) ili maligni (zloćudni, rak), a neki benigni tumori mogu proći kroz transformaciju te postati maligni, pri čemu vjerojatnost transformacije ovisi o tipu tumora (Alexander i sur., 2017., Martinez i sur., 2017.). Maligni tumori se svojim rastom šire u okolna tkiva, što se naziva invazija, a ulaskom u krvnu ili limfnu žilu šire se po čitavom organizmu, tj. metastaziraju. Za razliku od malignih tumora, benigni tumori ostaju ograničeni na područje u kojem nastaju. Tumori nastaju u različitim tkivima organizma te se prema tome i klasificiraju. Maligni tumori najčešće nastaju iz epitelnih tkiva te se nazivaju karcinomi (Weinberg, 2013.). Sarkomi su tumori koji nastaju iz vezivnog tkiva, a među njih spadaju liposarkomi (iz masnog tkiva), hondrosarkomi (iz hrskavičnog tkiva), rabdomiosarkoma (poprečno prugasti mišići), angiosarkoma (iz endotelnih stanica krvnih žila) (Weinberg, 2013.). Zanimljiv tip neepitelnih tumora su hematopoetske malignosti koji nastaju iz stanica hematopoetske loze. Među tim stanicama su stanice progenitori mijeloidne te limfoidne hematopoetske loze. Stanice hematoloških malignosti mogu se cirkulirati krvlju ili se mogu naći vezane za limfne čvorove (Weinberg, 2013.). Treći tip neepitelnih tumora su neuroektodermalne malignosti koje zahvaćaju centralni i periferni živčani sustav, a među njih spadaju švanomi, neuroblastomi, gliomi, glioblastomi te meduloblastomi (Weinberg, 2013.). Neki tumori ne spadaju u gore navedene skupine. Na primjer, teratomi su tumori koji nastaju iz stanica progenitora germinativne loze, koji tijekom razvoja ne uspijevaju doputovati do konačne destinacije (primitivni testis i jajnik) te ostaju zarobljene negdje unutar tijela (Weinberg, 2013.). Na taj način, ove stanice se ne diferenciraju u prirodnom mikrookolišu. Takve stanice zadržavaju potencijal embrionalnih matičnih te kasnijim razvojem u neuobičajenom mikrookolišu mogu stvarati sva tkiva organizma, a znaju se desiti slučajevi pri kojima teratomi posjeduju strukture poput zubiju ili kose (Weinberg, 2013.).

MONOKLONSKO PORIJEKLO TUMORA I MATIČNE STANICE

MONOKLONSKO PORIJEKLO TUMORA

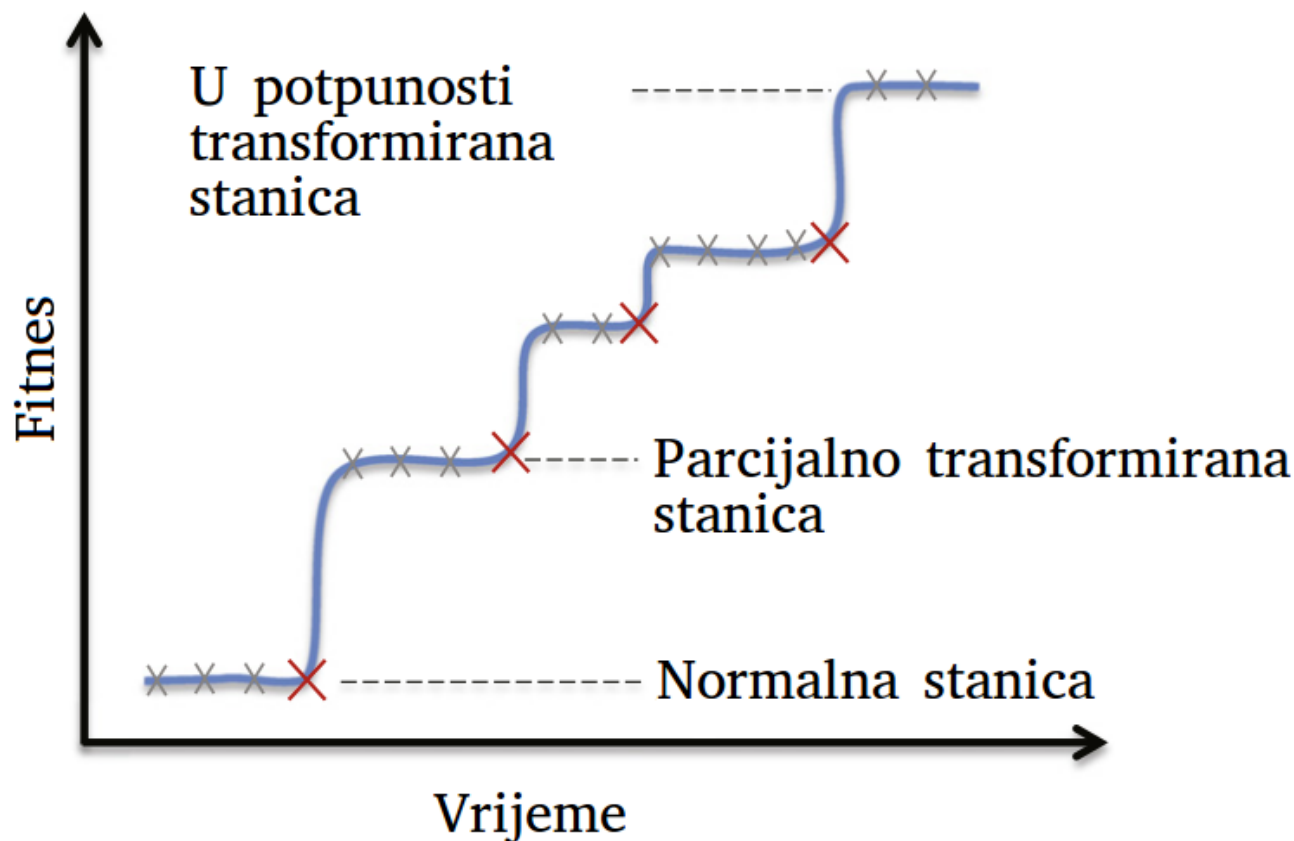
Za nastanak tumora, pojedina stanica mora skupiti set određenih mutacija koje joj daju selektivnu prednost u obliku nekontrolirane proliferacije (Scott i sur., 2017.). Mutacije u stanicama se nakupljaju kroz cijeli život organizma te svaki pojedinac ima mnoštvo stanica koje potencijalno mogu osnovati tumor (Scott i sur., 2017.). Što točno uzrokuje tumor? Uz nakupljanje slučajnih mutacija pogreškama u replikaciji i popravku DNA, neki kemijski te fizički agensi potiču nastanak tumora. Tvari koje uzrokuju tumore nazivaju se kancerogenima (Cooper i sur., 2000., Weinberg, 2013.). Kancerogeni su uglavnom mutagene supstance, no ne nužno (Weinberg, 2013.). Pošto je razvoj tumora složen višetupanjski proces, nije za očekivati kako samo jedna tvar uzrokuje pojavu tumora u organizmu, već se vjerojatno radi o skupnom učinku svih kancerogena koji djeluju na organizam (Cooper i sur., 2000.). Mnogi kancerogeni uzrokuju oštećenja i mutacije u DNA kao što su X i UV zračenje te mnogi kemijski kancerogeni (kancerogene tvari iz dima cigarete, aflatoxin) (Cooper i sur., 2000.). Kancerogene tvari koje nisu mutageni nazivaju se promotorima tumora (Weinberg, 2013.). Primjer takvih tvari su hormoni. Na primjer, estrogene su jaki promotori proliferacije u spolnim tkivima žena (Cooper i sur., 2000.). Žene koje koriste hormonsku terapiju koja se sastoji samo od estrogena imaju povećanu mogućnost razvoja tumora endometrija te tumora dojke (Cooper i sur., 2000.). Efekt estrogena se djelomično može poništiti podjednakim dozama progesterona koji koči proliferaciju te kao takav ima suprotan efekt estrogenima (Cooper i sur., 2000.). Neki virusi također uzrokuju pojavu tumora, bilo transformacijom stanica sa aktiviranim onkogenom, inaktivacijom staničnog tumor supresorskog gena putem poticanjem kronične upale (Cooper i sur., 2000., Weinberg, 2013.). Bakterije također mogu biti uzročnici tumora, a primjer toga je *Helicobacter pylori* (Cooper i sur., 2000., Weinberg, 2013.). Ljudi zaraženi *H. Pylori* imaju povećanu šansu da dobiju tumor želuca (Cooper i sur., 2000., Weinberg, 2013.).

Porijeklo tumora još uvijek nije sasvim rasvijetljeno, no smatra se da nastaju iz pojedinih stanica (Weinberg, 2013.). To se naziva monoklonsko porijeklo tumora. Logički gledano, iznimno je mala vjerojatnost da jedna stanica nakupi povoljan set mutacija, a da dvije ili nekoliko stanica u blizini nakupe takav set mutacija i zajedno formiraju tumor gotovo je nemoguća. No, monoklonsko porijeklo tumora potvrđuje i nekoliko domišljatih eksperimenata u kojima su analizirani inaktivirani X kromosom te proizvodnja specifičnih antitijela kod hematopoetskih malignih bolesti (Cooper i sur., 2000., Weinberg, 2013.). U nekom trenutku embrionalnog razvoja nakon većeg broja dioba, kod jedinki ženskog spola, dolazi do inaktivacije jednog od dva roditeljska X kromosoma te nastaje Barrovo tjelešće (Weinberg, 2013.). Barrovo tjelešće je iznimno heterokromatizirani, neaktivni, X kromosom (Hartwell i sur., 2008.). Na taj način nastaje mozaični organizam s obzirom na porijeklo Barrovog tijela: u nekim će se stanicama inaktivirati X kromosom porijeklom od oca, u nekima od majke (Hartwell i sur., 2008.). Na svakom X kromosomu nalazi se gen za glukozu 6-fosfat dehidrogenazu te žena može biti heterozigot za taj gen što znači da je u različitim stanicama tih žena ekspimirana samo jedna varijanta tog gena (Cooper i sur., 2000., Weinberg, 2013.). Pomoću takvog markera se može ustanoviti porijeklo, tj. srodnost pojedinih stanica (Weinberg, 2013.). Analizom stanica tumorskih tkiva, otkriveno je da sve stanice u tumorskoj masi imaju inaktiviran isti X kromosom, što navodi na zaključak da tumori nastaju iz jedne stanice (Weinberg, 2013.). Još jedan primjer je istraživanje ekspresije antitijela kod mijeloma (hematopoetska malignost limfocita B). Postoji puno različitih

populacija B limfocita koji se razlikuju po genu za antitijelo (imunoglobulin), te svaka populacija proizvodi jedinstveno antitijelo (Weinberg, 2013.). Mijelomi su okarakterizirani prekomjernom proizvodnjom jednog tipa antitijela što ukazuje na činjenicu da tumori nastaju iz pojedinih stanica (Weinberg, 2013.). Od kojih stanica mogu nastati tumori? Većina stanica nakon diferencijacije prestaje sa diobama (Easwaran i sur., 2014.). Danas se smatra da svaki organ ima populaciju somatskih matičnih stanica koje sudjeluju u obnovi tkiva (Ezhkova i sur., 2009.). Činjenica da je nekoliko specifičnih mutacija potrebno za transformaciju stanice daje naslutiti da se takav set mutacija može nakupiti upravo u matičnim stanicama, a razlog tome je imortalnost tih stanica (Easwaran i sur., 2014.). Diferencirane stanice rijetko ulaze u diobu (ili nikad) što ih čini lošim kandidatima za skupljanje čitavog seta mutacija potrebnih za potpunu transformaciju (Easwaran i sur., 2014.). Neka istraživanja pokazuju kako stanice mogu prelaziti iz diferenciranog u dediferencirano stanje i obrnuto, što znači da sve stanice, ili barem većina njih, mogu postati matične stanice (Easwaran i sur., 2014.).

POSTUPNOST RAZVOJA TUMORA

Tumori su kroz povijest molekularnih istraživanja opisivani na razne načine, na primjer, najraniji opis tumora je bio da je tumor bolest gena, a nešto kasnije je to promijenjeno u bolest abnormalne proliferacije (Lloyd i sur. 2017.). Danas se prihvaća da su tumori bolest Darwinovske evolucije, tj. bolest pogonjena selekcijom (Lloyd i sur. 2017.). 1976. godine, Peter Nowel je pretpostavio da u heterogenoj tumorskoj, populaciji stanica mora postojati somatska klonalna evolucija, to jest, da genetski različite stanice podliježu pravilima selekcije (Scott i sur., 2017.). Takva selekcija naziva se somatskom selekcijom. Tumori nastaju iz pojedine normalne stanice te se sustavnim diobama, uz mutatorski fenotip, nakupljaju različite mutacije u pojedinim stanicama što rezultira razvitkom genetski heterogene populacije stanica (Davis i sur. 2017.). Nastanak malignog klona zahtijeva akumulaciju određenog broja mutacija koje poboljšavaju fitnes stanica; takve mutacije nazivaju se pokretačke mutacije (Scott i sur., 2017.). Ostale mutacije koje se nakupljaju u stanicama su suputničke mutacije, koje ne utječu na fitnes stanice (Scott i sur., 2017.). Naravno, postoje i štetne mutacije koje smanjuju fitnes ili čak ubijaju stanicu (Slika 1) (Greaves i sur., 2006.). Uz to što tumorske mase čine genetski heterogene stanice, samo tkivo u kojem se tumor nalazi i sam tumor čine mikrookoliš, koji je također heterogen i promjenjiv te kao takav vrši selekciju nad heterogenom populacijom stanica (Scott i sur., 2017.). Dvije su komponente neophodne za evoluciju, a to su nasljediva varijabilnost (u slučaju tumora heterogenost) te borba za opstanak (fitnes u danom okolišu) (Lloyd i sur. 2017.). Nasljediva varijabilnost je "gorivo" za evoluciju koje potiče borbu za opstanak različitih fenotipa (Lloyd i sur. 2017.). Neki fenotipi su su bolji u iskorištavanju dostupnih hranjivih tvari, neki su bolji pri niskom pH, neki fenotipi su bolji za invaziju, a neki za metastaziranje (Lloyd i sur. 2017.).



× Pokretačka mutacija × Suputnička mutacija

Slika 1: Shematski prikaz povećanja fitnessa kao posljedica nakupljanja pokretačkih mutacija (preuzeto iz Scott i sur., 2017.)

Iz histološke perspektive, između normalnog tkiva i maligne tvorevine postoji nekoliko prijelaznih (benignih) oblika. Tkivo koje je obilježeno povećanom proliferacijom, ali u svim ostalim karakteristikama podsjeća na normalno tkivo se naziva hiperplazija (Weinberg, 2013.). Hiperplazija predstavlja, dakle, samo normalne stanice koje su djelomično izgubile kontrolu staničnog ciklusa te se ubrzano dijele (Weinberg, 2013.). Takvo tkivo predstavlja minimalno odstupanje od normalnog tkiva (Weinberg, 2013.). Slična, minimalna, promjena je metaplazija. Metaplazija se događa na spojevima različitih epitelnih tkiva (Weinberg, 2013.). Metaplazija je fenomen pri kojem jedno epitelno tkivo urasta u drugo (Weinberg, 2013.). Primjer metaplazije je Barrettov jednjak pri kojem epitelne, mukozne, stanice želuca urastaju u jednjak (Weinberg, 2013.). Ljudi sa Barrettovim jednjakom imaju 30 puta veće šanse da dobiju tumor na jednjaku (Weinberg, 2013.). Idući stupanj promjene tkiva je displazija koja je okarakterizirana, uz povećanu proliferaciju, nenormalnim oblikom stanica (Weinberg, 2013.). U displastičnom tkivu poremećen je sastav stanica kakav se nalazi u normalnim tkivima te su razni citološki i histološki parametri promjenjeni (Weinberg, 2013.). Daljnjom proliferacijom, nastaju makroskopske tvorbe koje se u različitim tkivima različito nazivaju, npr. polipi na crijevnom epitelu, bradavice na koži, adenomi, papilomi itd. (Weinberg, 2013.). Svi opisani oblici ne prodiru kroz bazalnu

membranu. Posljednji stadij uključuje tvorbe koje su probile bazalnu membranu i izvršile invaziju u okolna tkiva, a takve tvorevine su maligni tumori (Weinberg, 2013.). Premaligne tvorbe mogu postojati godinama što ukazuje na činjenicu da, konstantnim diobama, stanice moraju nakupiti povoljan set mutacija kako bi se iz premaligne tvorevine razvila maligna tvorevina, koja uzrokuje bolest organizma domaćina (Scott i sur., 2017.). Ovakvom progresijom nastaje primarni tumor. Također, stanice mogu ući i u dormanciju. Dormancija je period u životu organizama ili stanica u kojem su metaboličke, razvojne te proliferativne funkcije smanjene te se stanice s takvom prilagodbom mogu nositi sa različitim okolišnim neprilikama (Ammerpohl i sur., 2017.). Dormancija je reverzibilna te izlazak iz dormancije dovodi do proliferacije te ponovnog razvoja populacije, što ima velik značaj u progresiji tumora kada se stanice nađu u nepovoljnim uvjetima (Ammerpohl i sur., 2017.). Međutim, 90% slučajeva smrtnog ishoda kod pacijenata sa malignim tumorom nije uzrokovano primarnim tumorom, već invazivnim ponašanjem tumorskih stanica (Lloyd i sur. 2017.). Za razliku od normalnih tkiva, tumori se mogu "kretati" po tijelu te kolonizirati udaljena tkiva (Weinberg, 2013.). Rastom primarnog tumora tumorske stanice prodiru kroz bazalnu membranu i u okolna tkiva te se taj proces naziva invazija (Weinberg, 2013.). Prodiranjem u okolna tkiva tumorske stanice nailaze na krvne i limfne žile u koje stanice mogu ući i cirkulirati organizmom (Weinberg, 2013.). Ukoliko se neka od tih cirkulirajućih tumorskih stanica uspješno naseli u nekom udaljenom tkivu, dolazi do pojave metastaza (Weinberg, 2013.). Metastaze su kompleksna pojava koja se događa u nekoliko koraka. Prvi korak je intravastacija kojom tumorske stanice ulaze u krvnu ili limfnu žilu (Lloyd i sur. 2017.). Drugi korak metastaza je cirkulacija po čitavom organizmu te izbjegavanje imunskog odgovora domaćina (Lloyd i sur. 2017.). U trećem koraku stanice izlaze iz krvnih i limfnih žila u udaljena tkiva, što se naziva ekstravastacija (Lloyd i sur. 2017.). Posljednji korak je uspostava sekundarnog tumora u udaljenom tkivu (Lloyd i sur. 2017.). Kada se točno dešava rasprostranjivanje stanica krvotokom ili limfotokom još uvijek nije razjašnjeno, no ako rasprostranjenje tumora događa rano u evoluciji tumora to ne bi nužno odmah dovelo do metastaza već bi stanice vjerojatno bile u dormanciji (Ammerpohl i sur., 2017.). Postoji spektar različitih tkiva na koja tumorske stanice putuju. Različita tkiva su okarakterizirana povoljnim ili nepovoljnim uvjetima za rast i razvoj tumora (Lloyd i sur. 2017.). To može biti višak ili manjak kisika i nutrijenata, prisutnost ili neprisutnost agresivne imunološke obrane i optimalna gustoća populacije stanica (Lloyd i sur. 2017.). Evolucija je "slijepa" za budućnost te je uspješnost kolonizacije udaljenog tkiva ovisna o preadaptaciji stanica u primarnom tumoru (Lloyd i sur. 2017.). Zbog toga, tumorske stanice u tim organima imaju povoljne mikrookolišne uvjete. Smatra se, kao što je slučaj i u invazivnoj ekologiji, da što je veća frekvencija invazijskih događaja, veća je vjerojatnost da će se makar nekoliko stanica biti uspješno u kolonizaciji udaljenog tkiva (Lloyd i sur. 2017.).

GENOMSKE PROMJENE U KARCINOGENEZI

Genetski profil svakog tumora je jedinstven (Yates i sur., 2012.). To se odnosi na tumore različitog i istog tipa, no te mutacije se mogu svrstati unutar određenog broja signalizacijskih puteva što dovodi do svega nekoliko značajki karakterističnih za tumorski tip i zajedničkih značajki svih tumora (Yates i sur., 2012.). Uzmimo za primjer tumor supresorski gen TP53, čija je najbitnija uloga smanjenje proliferacije i indukcija apoptoze (Cooper i sur., 2000.). Na primjer, proteinski produkt tumor supresorskog gena TP53, p53, kovalentno se modificira s 50 različitih regulatornih molekula, a sam regulira preko tisuću različitih proteina koji sudjeluju u različitim procesima u stanici (Heng i sur.,

2017.). Stoga je moguće mutirati iznimno mnogo različitih proteina, a rezultat bi bio isti ili sličan što bi u ovom slučaju bila promijena regulacije niza signalizacijskih puteva u kojima p53 sudjeluje, potencijalno uključujući i povećanu proliferaciju stanice (Heng i sur., 2017.). Najčešće pokretačke mutacije u tumorima uključuju inaktivacijske događaje tumor supresorskih gena, te mutacije koje uzrokuju neprekidnu aktivnost onkoproteina (Pon i sur. 2015.). Proto-onkogeni su geni čiji produkti sudjeluju u raznim signalnim putevima koji potiču proliferaciju (**Cooper i sur., 2000.**). Mutacijama u proto-onkogenima koji povećavaju aktivnost onkoproteina nastaju onkogeni (Weinberg, 2013.). No, treba naglasiti, da mutacija u jednom tumor supresorskom genu ili proto-onkogenu ne dovodi do pojave tumora jer stanice imaju više mehanizama kojima se štite od transformacije (Nunney, 2017.). Ti mehanizmi predstavljaju signalne puteve sa više od jednog takvog gena, često specifičnih za pojedino tkivo. Takva mutacija dovodi do prekomjerne proliferacije (Nunney, 2017.). Onkogeni su uglavnom zahvaćeni amplifikacijama unutar kodirajuće regije ili "missense" mutacijama, dok tumor supresorski geni su uglavnom inaktivirani lokalnim delecijama, besmislenim mutacijama, mutacijama koje uzrokuju pomak u okviru čitanja te mutacijama u mjestima za posttranskripcijsko prekrajanje ("splicing") (Pon i sur. 2015.).

Brojna istraživanja pokazala su da određene onkogene mutacije dolaze u parovima, što ukazuje na činjenicu da epistaza, fenomen u kojem efekt alela jednog gena ovisi o prisutnosti prisutnosti nekog drugog gena, igra važnu ulogu u progresiji tumora (Yates i sur., 2012.). Interakcija mutacija može dovesti do sintetske vijabilnosti, pri kojoj je letalni efekt jednog mutiranog gena suprimiran mutacijom u nekom drugom genu (Yates i sur., 2012.). Također, dolazi i do sinergističkog efekta, gdje dvije mutacije u različitim genima imaju jači efekt nego mutacije u pojedinačnim genima (Yates i sur., 2012.).

Uz genetske promjene, tumori mogu biti posljedica i različitih epigenetskih promjena. Istraživanja su pokazala da se promjene u metilaciji DNA pojavljuju vrlo rano u tumorigenezi (Pardal i sur., 2003.). Istraživanja su pokazala da se povećanje metiliranosti promotora određenih gena, bitnih za tumorigenezu, dok je proces u ostatku genoma nasumičan (uglavnom popraćen smanjenjem metiliranosti) (Pardal i sur., 2003.). Ova povećanja metiliranosti su primjećena u promotorima tumor supresorskih gena, kao što je CDKN2A (Easwaran i sur., 2014.). Povećanje metiliranosti ovog promotora događa se progresivno kroz cijeli višestupanjski razvoj karcinoma bazalnih stanica pluća, od hiperplastičnog tkiva (17% metiliranosti), preko metaplastičnog tkiva (24%) do razvijenog karcinoma (50%) (Easwaran i sur., 2014.).

Uz genetičke i epigenetičke promjene, heterogenost tumora se postiže i kromosomskim promjenama. Kromosomi su, prema klasičnoj definiciji, visoko kondenzirane strukture DNA pomoću kojih se genom ravnomjerno raspodjeljuje između stanica kćeri. No, kromosomi također imaju vrlo važnu ulogu u ekspresiji gena, pošto je ekspresija gena uvjetovana položajem gena u kontekstu heterokromatiziranosti kromosoma (Heng i sur., 2017.). Promjena kariotipa dovodi do promjena položaja gena u kontekstu i rasporedu na kromosomu (Heng i sur., 2017.). Također, kromosomske promjene mogu dovesti do promjene broja gena (ili cijelog kromosoma, aneuploidija) u genomu stanice, genskih fuzija ili gen može završiti pod regulacijom nekog drugog promotora koji najčešće nema istu razinu aktivnosti kao "originalni" promotor (Heng i sur., 2017.). Također, pod kromosomske aberacije spadaju i delecije i translokacije. Delecija tumor supresorskog gena ima istovjetni efekt kao mutacija "loss of function", dok translokacija onkogeno uzrokuje pokretačke fuzije gena ili se može aktivirati novim, jakim promotorom (Heng i sur., 2017.). Dakle, kromosomske promjene su iznimno bitne za evoluciju tumora, a uzroci koje dovode do njih su različiti. Na primjer, skraćenje telomera ima velik utjecaj na stabilnost kromosoma. Telomere su strukture na krajevima kromosoma koje sprječavaju fuzije kromosoma putem nehomolognog sparivanja krajeva kromosoma (NHEJ) (Lo i sur., 2002., Sishc i sur., 2017.). Gubitkom telomera dolazi do fuzije krajeva kromatida različitih ili istih kromosoma te

dolazi do inicijacije break/fusion/bridge ciklusa (B/F/B) (Lo i sur, 2002.). Fuzijom kromosoma dolazi do nastanka dicentričnog kromosoma koji prilikom segregacije pucaju na nasumičnim mjestima (Lo i sur, 2002.). Na taj način jedna stanica kćeri dobiva kromosom sa translokacijom, a druga sa delecijom. NHEJ služi za održavanje genomske stabilnosti sparivanjem krajeva nastalih dvolančanim lomovima (Sishc i sur., 2017). Međutim, za razliku od popravka homolognom rekombinacijom, ovaj mehanizam je sklon pogreškama, jer se spajaju bilo koji krajevi kromosoma, neovisno o stupnju homolognosti sekvence (Sishc i sur., 2017). Na taj način mogu nastati translokacije ili delecije (Sishc i sur., 2017). Također, mutacije u genima za proteine koji sudjeluju u metafaznoj kontrolnoj točki (kao što su BUB1 i BUBR1), kojim stanica osigurava pravilno vezanje mikrotubula diobenog vretena na kinetohore, mogu dovesti do nepravilne segregacije kromosoma prilikom diobe, tj. mogu dovesti do aneuploidije (Bolanos-Garcia i sur. 2011.). Neke od kromosomskih promjena su učestale u nekim tipovima tumora. Primjer toga je filadelfijski kromosom koji se često nalazi u kariotipu stanica kronične mijeloidne leukemije i ponekad kod akutne limfocitne leukemije (de Klein, 1982.). Filadelfijski kromosom je 22. kromosom sa translociranim komadom 9. kromosoma (de Klein, 1982.).

METABOLIČKE PROMJENE U TUMORIMA

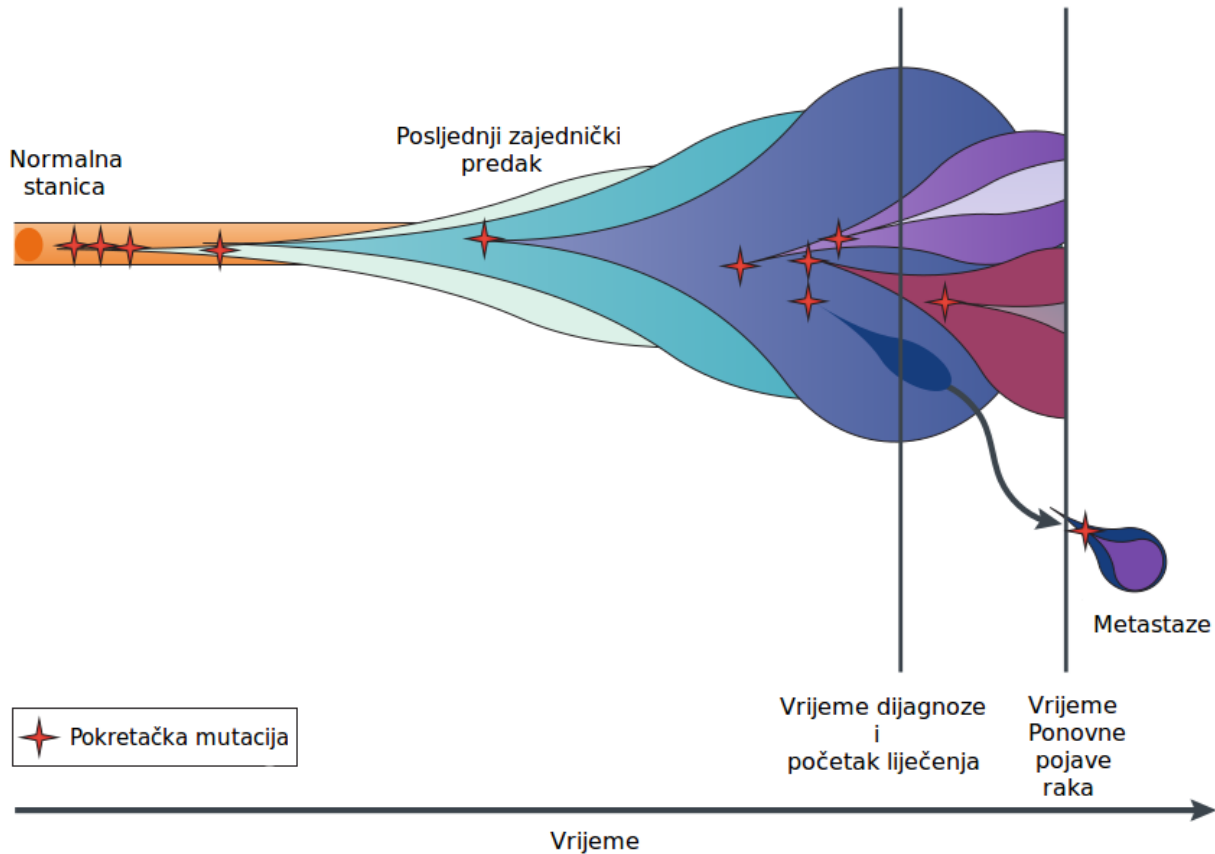
Unutar tumora, zbog limitirane difuzije kisika u tumorsku masu, nastaje hipoksija. Stanice reagiraju na hipoksiju pomoću transkripcijskog faktora induciranog hipoksijom (HIF, hypoxia induced factors) (Russell i sur., 2017.). HIF djeluje kao heterodimer, HIF-1 β je konstitutivno eksprimiran, dok je HIF-1 α eksprimiran tek pri niskoj koncentraciji kisika (Ibrahim-Hashim i sur., 2017.) Djelovanjem HIF heterodimera dolazi do ekspresije brojnih gena važnih za preživljavanje manjka kisika te dolazi do značajnih promjena u metabolizmu stanice i signalnim putevima u stanici. Važna metabolička promjena koju uzrokuje HIF je prebacivanje sa oksidativne fosforilacije na glikolizu te proizvodnja mliječne kiseline (Russell i sur., 2017.). Također, djelovanjem HIF transkripcijskih faktora dolazi do proizvodnje VEGF koji potiče angiogenezu, tj. urastanje novih krvnih žila u tumorsku masu (Russell i sur., 2017.). U tumorima, koji su obilježeni povećanom stopom mutacija, HIF-1 α može biti konstitutivno prisutan u stanici, što dovodi do hipoksičnog fenotipa stanice i u normoksičnim uvjetima (Russell i sur., 2017.). Taj fenomen se naziva pseudohipoksija (Russell i sur., 2017.). Pseudohipoksija je energetska skupa jer uključuje fermentacijski metabolizam glukoze u prisutnosti kisika (oksidativna glikoliza, Warburgov efekt), glikolizom nastaje samo 2 ATP-a dok oksidativnom fosforilacijom nastaje 36 ATP-a (Russell i sur., 2017.). Iako na prvi pogled to nije logično, oksidativna glikoliza daje selekcijsku prednost stanicama. Jedan od razloga tome je što se glikolizom proizvode prekursori za sintezu aminokiselina, nukleotida, lipida te kao takva igra važnu ulogu u proliferaciji i metaboličkoj plastičnosti stanica (Russell i sur., 2017., Weinberg, 2013.). Te stanice su, radi upravo tog metaboličkog fenotipa, iznimno proliferativne, invazivne te prilagodljive na razne okolišne uvjete (Russell i sur., 2017.). Također, stanice sa pseudohipoksičnim fenotipom modificiraju svoju mikroekološku nišu. Uz već spomenutu angiogenezu, tumori fermentacijskim metabolizmom glukoze zakiseljavaju svoj okoliš što stvara uvjete koje normalne stanice ne mogu preživjeti (Russell i sur., 2017.). Snižavanje pH uzrokuje apoptozu normalnih stanica te se stvara dodatni prostor za širenje tumora (Russell i sur., 2017.). Obrambena funkcija T-stanica je također inhibirana sniženom pH vrijednosti na način da pri sniženom pH te stanice ne mogu aktivirati glikolitički tip metabolizma koji je potreban za njihovu aktivnost (Russell i sur., 2017.). Uz to što sama oksidativna glikoliza proizvodi kiselinu, ekspresija ugljične anhidraze IX je također svojstvo pseudohipoksičnih stanica kojime zakiseljavaju okoliš (Russell i sur., 2017.). Ugljična anhidraza IX je enzim koji katalizira reakciju između CO₂ i vode pri čemu nastaje ugljična kiselina

kojom se također zakiseljava vanstanični matriks (Russell i sur., 2017.). Zakiseljavanje mikrookoliša uzrokuje oslobađanje lizosomalnih proteaza (katepsini) te aktivaciju metaloproteaza koje razgrađuju vanstanični matriks (Russell i sur., 2017.). Zakiseljavanje okoliša daje određene benefite tumorskoj stanici, kao npr. smanjenu proliferaciju suparničkih stanica koje nisu prilagođene, supresiju imuniteta, poticanje invazije te razgradnju vanstaničnog matriksa (Ibrahim-Hashim i sur., 2017.).

HETEROGENOST TUMORA

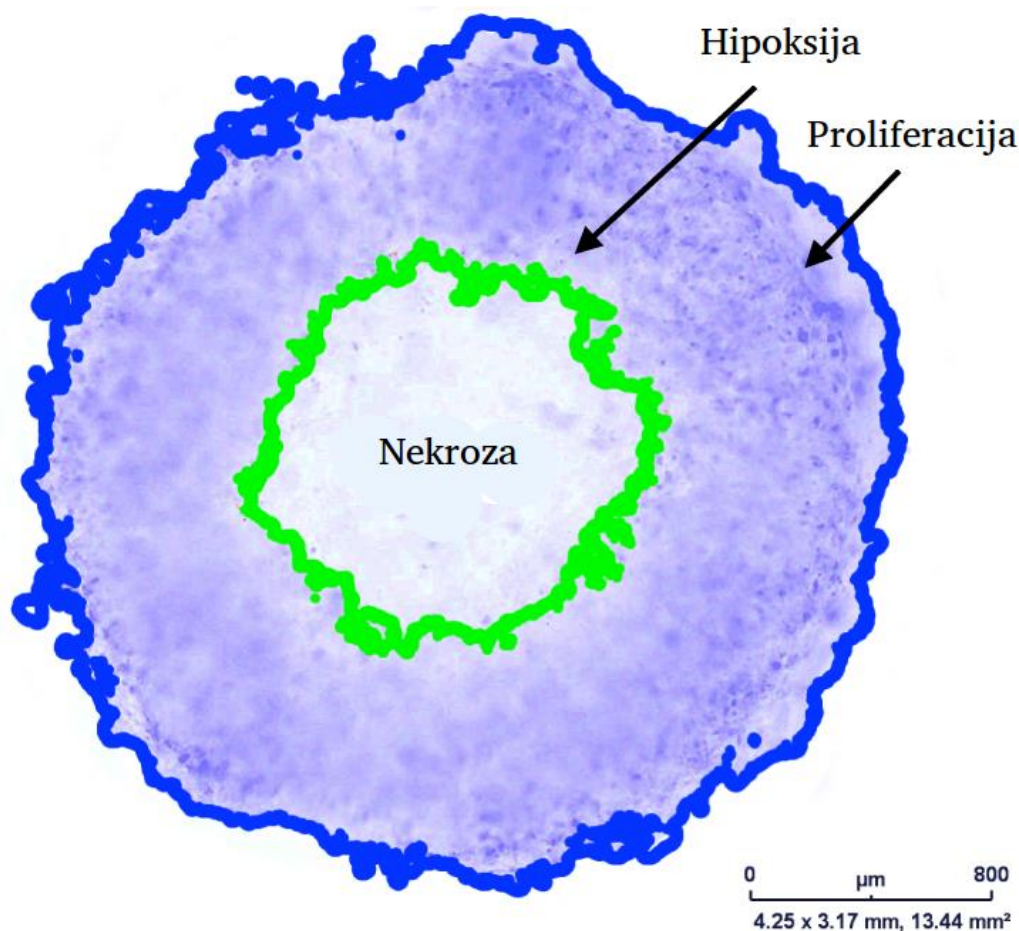
Proces somatske selekcije razlikuje se od procesa prirodne selekcije. Prirodna selekcija ima tendenciju ka smanjenju mutacija jer je, na razini organizma, postoji puno gena čijom bi mutacijom bilo narušeno kooperativno ponašanje stanica te onemogućen razvoj ili održavanje homeostaze organizma. (Aktipis i sur., 2013.). Stoga, prirodna selekcija "brusi" mehanizme popravka DNA i vjerne replikacije te je prijenos genskog koda iz generacije u generaciju gotovo usavršena (Aktipis i sur., 2013.). Drugim riječima, prirodna selekcija oblikuje fenotipe koji maksimiziraju šansu prijenosa genskog koda na iduću generaciju (Aktipis i sur., 2013.). Populacije nastale prirodnom selekcijom se sastoje od približno sličnih jedinki (Aktipis i sur., 2013.). Somatska selekcija, s druge strane, djeluje ka povećanju heterogenosti, tj. favorizira se mutatorski fenotip što daje selektivnu prednost tumorskim stanicama (Aktipis i sur., 2013.). Mutatorski fenotip se može postići na više načina. Na primjer, genetske promjene ili promjene u regulaciji ekspresiji gena za popravak DNA su jedan od načina na koji može nastati mutatorski fenotip (Loeb i sur. 2001.). Također, mutacije koje suprimiraju 3'→5' egzonukleaznu aktivnost polimeraze delta dovode do povećane stope mutacija (Loeb i sur. 2001.). Mutatorski fenotip kod tumorskih stanica, izgleda, je povoljno svojstvo te zbog toga ne postoji fenomen müllerovog sita kod tumorskih populacija (Lloyd i sur. 2017.). Model müllerovog sita kod nespolnih organizama predviđa sniženje fitnesa populacije zbog kontinuiranog nakupljanja ireverzibilnih štetnih mutacija u genomima kroz generacije (Lloyd i sur. 2017.).

Razlog ove razlike između prirodne i somatske selekcije je to što tumori nemaju drugu generaciju jer umiru zajedno sa organizmom domaćinom. Zbog toga svaki tumor mora ponovno "otkriti" razvojni put koji daje potpunu progresiju koja završava metastazama te smrću organizma (Lloyd i sur. 2017.). Postoji svega nekoliko vrsta zaraznih tumora koji prelaze na novog domaćina te su primjećeni kod pasa, tasmanijskih vragova i još nekoliko životinjskih vrsta (McCallum i sur., 2008., Murchison i sur., 2014.). Evolucija je "slijepa" za budućnost jer se promjene fenotipa događaju isključivo putem nasumičnih promjena u genomu te selekcijom ne mogu nastati tumorske stanice koje su specifično prilagođene za uvjete koje ih očekuju kroz razvoj i progresiju tumora (Thomas, 2017.). Velikom heterogenosti u nastaje velik broj stanica sa različitim fitnessom u danim uvjetima. Time tumori pokazuju strategiju "bet-hedging" (Thomas, 2017.). "Bet-hedging" strategija podrazumijeva nastajanje iznimne varijabilnosti u kojoj postoje stanice slučajno nastalim fenotipima povoljnima za preživljavanje u okolišnim uvjetima koji slijede (Thomas, 2017.). Heterogenost populacija tumorskih stanica proizlazi iz opsežnih promjena u genomu. Dakle, mutatorskim fenotipom stanica povećava se heterogenost tumora te nastaje opsežna nasljediva varijabilnost (Lloyd i sur. 2017.). Kao što je već naglašeno, nasljediva varijabilnost je "gorivo" za evoluciju koje potiče borbu za opstanak različitih fenotipa (Lloyd i sur. 2017.). Selekcija koja je prisutna zbog promjenjivog okoliša "odlučuje" koji fenotipi preživljavaju, a koji ne (Slika 2).



Slika 2: Klonalna evolucija tumora; slika shematski prikazuje progresiju tumora. Sa crvenim zvjezdicama označene su pokretačke mutacije iz kojih se razvijaju nove subklonske populacije (Yates i sur., 2012.).

Također, mikrookoliš ima ključnu ulogu u razvoju tumora. Kao i populacija tumorskih stanica, mikrookoliš je također heterogen te stanice sa određenim fenotipom zauzimaju specifičnu mikroekološku nišu (Scott i sur., 2017.). Ovo je snažno izraženo između ruba i srži tumora (Slika 3). Srž tumora obilježena je hipoksijom te manjkom hranjivih tvari radi aberantne vaskulature te tijekom rasta tumorske mase, stanice u srži postaju nekrotične (Russell i sur., 2017.). Kako tumor prodire u normalno tkivo, stanice dobivaju pristup normalnoj vaskulaturi te su dobro opskrbljene kisikom (Russell i sur., 2017.). Unatoč tome, stanice na rubu tumora uglavnom pokazuju karakteristike stanica u okolišu sa manjkom kisika i nutrijenata, tj. imaju pseudohipoksični fenotip (Russell i sur., 2017.). Područje ruba tumora stvara selekciju koja preferira stanice sa većom proliferacijom te koje stvaraju rahle nakupine stanica sa invazivnim potencijalom (Russell i sur., 2017.). S druge strane, srž favorizira stanice koje slabije proliferiraju, sa većom prilagođenošću na veliku gustoću populacije, no s manjom prilagodljivošću na varijabilne okolišne uvjete (Russell i sur., 2017.). Stoga, na rubu i u srži nalazimo stanice koje su prilagođene tim specifičnim uvjetima.



Slika 3: Presjek tumora te heterogenost mikrookoliša (preuzeto iz Gallaher i sur, 2019.)

Evolucija tumora se događa na dva načina: postepenim nakupljanjem mutacija (neutralna, razgranata i linearna evolucija) te naglim promjenama u genotipu (tj. kariotipu) što predstavlja model punktirane evolucije (Slika 4) (Davis i sur. 2017.). Genetičke i epigenetičke promjene uzrokuju sporu, tj. postepenu evoluciju, gdje stanice postepeno stječu genetske i epigenetske promjene (Davis i sur. 2017.). Analizom podataka dobivenih sekvenciranjem genoma pojedinih stanica u uzorku te izradom filogenetičkih stabala, dobivena su tri moguća modela postupne evolucije tumora.

Prvi model je model linearne evolucije prema kojem se nastajanje klonova s dominantnom pokretačkom mutacijom događa korak po korak te u populaciji postoji samo jedna dominantna populacija subklonova iz koje evoluira idući dominantni subklon te, konačno, nakon nekoliko takvih ciklusa nastaje maligni klon (Davis i sur. 2017.). Prema ovom modelu, pokretačke mutacije su toliko jake da stanice koje ih steknu prevladaju u tumorskoj masi (Davis i sur. 2017.). Ovaj model je uglavnom odbačen zbog rastućih dokaza o ogromnoj heterogenosti većine tumora.

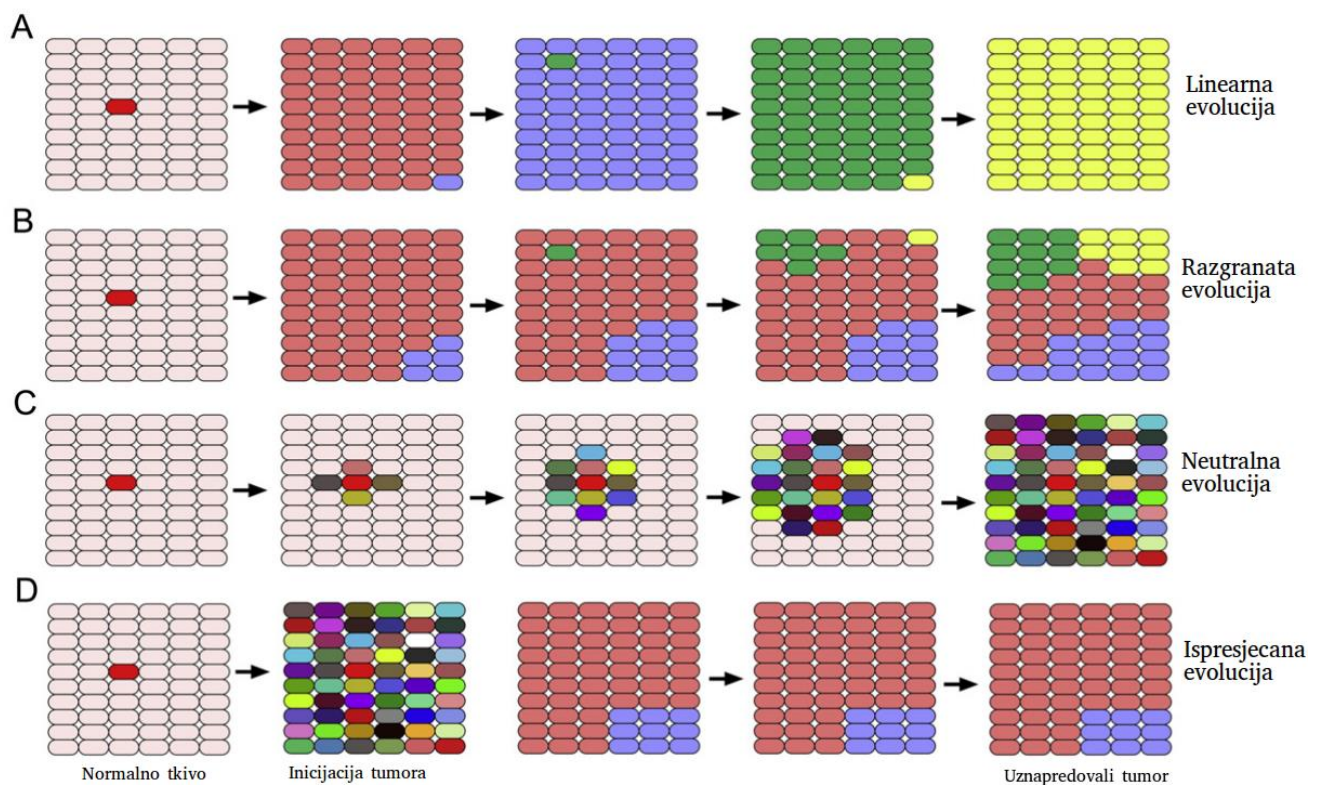
Drugi model je model razgranate evolucije. Ovaj model potvrđen je u više slučajeva karcinoma kao što su leukemija, tumor dojke, tumor na jetri, kolorektalni tumor, tumor na jajniku, prostati, bubregu, mozgu te melanom (Davis i sur. 2017.). Za razliku od modela linearne evolucije, ovaj model pretpostavlja rast i proliferaciju više klonova odjednom koji su stekli određene pokretačke mutacije te svi imaju povećani fitness (Davis i sur. 2017.). Broj klonova razlikuje se između tipova karcinoma, no i između istih tipova karcinoma u različitim pacijentima (Davis i sur. 2017.). Glavna karakteristika modela grananja je neprekidna selekcija i evolucija klonova, a dokaz tome su različite pokretačke

mutacije subklonova (npr. mutacije u genima PP6C, RAC1, SNX31, TACC1, STK19 i ARID2 u melanomu) (Davis i sur. 2017., Hodis i sur., 2012.).

Neutralna evolucija je model koji pretpostavlja da je heterogenost rezultat rasta tumora te iznimno izraženog mutatorskog fenotipa tumorskih stanica (Davis i sur. 2017.). Tumori nastali neutralnom evolucijom pretpostavlja nastanak stanica različitih fenotipa koje nikad ne stvaraju populaciju subklonova, već proliferacijom stanica nastaju stanice sa promijenjenim genotipom ili fenotipom na koje selekcija ne stigne djelovati (Davis i sur. 2017.). Tumori takvog sastava su dokazani u nekim slučajevima, na primjer kod karcinoma želuca, pluća, mjehura, crijeva te cerviksa koji često pokazuju karakteristike neutralne evolucije (Williams i sur., 2016.).

Punktirana evolucija posljedica je kromosomske nestabilnosti (Davis i sur. 2017.). Tijekom postepene evolucije sastav populacije stanica je relativno stabilan jer se evolucija događa veoma sporo. Nastankom kromosomske nestabilnosti dolazi do naglog povećanja heterogenosti populacije te je evolucija znatno ubrzana zbog nastanka velikog broja različitih kromosomskih promjena koje mogu dati razne fenotipe (Davis i sur. 2017.). Tijekom postepene evolucije genomi stanica ostaju slični, dok tijekom punktirane evolucije nastaje velik broj različitih genoma s jako promijenjenim kariotipom. Izmjena između postupnog i ispresjecanog načina može se događati naizmjenično (Davis i sur. 2017.).

A. Davis et al. / *Biochimica et Biophysica Acta* 1867 (2017) 151–161



Slika 4: Linearna, razgranata, neutralna i ispresjecana evolucija; slika shematski prikazuje razlike između četiri načina evolucije te zorno prikazuje promjene u heterogenosti populacije (Davies i sur., 2017.)

INTERAKCIJE MEĐU TUMORSKIM STANICAMA I SA NORMALNIM STANICAMA

Tumorske stanice interagiraju međusobno te sa normalnim stanicama. Na primjer, transplantacija stanica teratokarcinoma u mišju blastocistu suprimira njihove maligne osobine (Merlo i sur. 2006.). Suprotno tome, normalne stanice epitela dojke razvijaju se u invazivne karcinome kad su transplantirane među stanice koje prekomjerno ekspimiraju faktor rasta hepatocita (HGF) i/ili transformirajući faktor rasta $\beta 1$ (Merlo i sur. 2006., Kuperwasser i sur. 2004.). Nadalje, imunosna komponenta okoliša igra iznimno važnu ulogu u razvoju i progresiji tumora. Imunitet ima dvojnju ulogu kod malignih stanja, upalni proces potiče razvoj i progresiju tumora dok limfociti T sprječavaju (Hannahan i sur., 2019.). Ovaj fenomen do danas je ostao neobjašnjen, no među znanstvenim krugovima se prihvaća da tumor mora imati imunološku komponentu (Hannahan i sur., 2019.).

Smatra se da u čvrstim tumorima nedostatak prostora i kopeticija sa normalnim stanicama čine najbitniji selekcijski pritisak za evoluciju kooperativnog ponašanja (Thomas, 2017.). Prema teoretskome radu Axelrod et al., neoplazija, da bi postala maligna, ne treba u sebi sadržavati stanice koje su stekle sve pokretačke mutacije koje im daju maligne osobine, već mogu stupati u interakciju sa drugim tumorskim stanicama, različitoga subklona s kojima mogu dijeliti neke značajke. Osobine koje tumorske stanice mogu dijeliti su parakrine signalne molekule, na primjer, faktori rasta (Axelrod i sur. 2006.). Ukoliko u premalignoj tumorskoj masi imamo parcijalno transformirane stanice koje sintetiziraju faktor rasta A (GF-A), ali ne i faktor rasta B (GF-B) i dalje neće proliferirati brzinom malignog klona (Axelrod i sur. 2006.). Ali ukoliko neka stanica drugog subklona sintetizira i otpušta faktor rasta B (pod uvjetom da prva stanica ima receptore za GF-B, te da se sintetizirajuća stanica nalazi na udaljenosti dovoljnoj da parakrini produkt difundira do parcijalno transformirane stanice), parcijalno transformirana stanica će imati sve osobine maligne stanice i doći će do intenzivne proliferacije dotičnog subklona (Axelrod i sur. 2006.). Slično, ne moraju sve stanice unutar tumorske mase biti proangiogene (sposobne za angiogenezu) da bi bile opskrbljene dovoljnom količinom kapilara za malignu transformaciju, već je dovoljno da bude dovoljno proangiogenih stanica koje luče VEGF (žilni endotelni faktor rasta) da se čitav tumor vaskularizira (Axelrod i sur. 2006.).

Zaključak

Tumori su heterogena populacija stanica koja evoluira prema načelima Darwinovske evolucije, uz određene razlike u usporedbi sa evolucijom organizama. Stanice sa pogodnim fenotipima preživljavaju te se dijele i stvaraju supklonske populacije, dok stanice neprilagođene danim okolišnim uvjetima izumiru te se njihov genotip ne prenosi na iduće generacije stanica. Zbog različitih načina nastanka heterogenosti u tumoru, dinamika evolucije može biti različita. Tumorska populacija stanica može evoluirati gradualnom evolucijom putem genetičkih i epigenetičkih promjena, no evolucija također može biti punktirana uslijed kromosomskih abnormalnosti koje uzrokuju naglo povećanje heterogenosti. Nakupljanje nasumičnih genomskih promjena tumorima je povoljno svojstvo jer na taj način mogu nastati stanice sa različitim fenotipima od kojih su neki pogodni za preživljavanje u

različitim uvjetima, što na koncu dovodi do stanica sposobnih metastaziranja. Evolucija tumora ima iznimne kliničke implikacije na način da u tumorskoj staničnoj populaciji postoje preadaptirane stanice sposobne preivljavanju različitih nepovoljnih uvjeta koje pruža terapija. Evolucija tumora završava smrću organizma.

LITERATURA

Aktipis, C. Athena, Randolph M. Nesse. "Evolutionary foundations for cancer biology." *Evolutionary applications* 6.1 (2013): 144-159.

Alberts, Bruce, Karen Hopkin, Alexander D. Johnson, David Morgan Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walter. *Essential cell biology*. W.W. Norton & Company, 2019.

Alexander, John H., Paul E. Wakely Jr, and Joel L. Mayerson. "Transformation of Benign Giant Cell Tumor of Bone Into Epithelioid Angiosarcoma." *Am J Orthop* 46.6 (2017):463-E467.

Ammerpohl, Ole, Kirsten Hattermann, Janka Held-Feindt, Christoph Röcken, Heiner Schäfer, Christian Schem, Denis Schewe et al.. "Dormancy: An Evolutionary Key Phenomenon in Cancer Development." *Ecology and Evolution of Cancer*." Academic Press (2017): 235-242.

Axelrod, Robert, David E. Axelrod, and Kenneth J. Pienta. "Evolution of cooperation among tumor cells." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103.36 (2006): 13474-13479.

Bolanos-Garcia, Victor M., and Tom L. Blundell. "BUB1 and BUBR1: multifaceted kinases of the cell cycle." *Trends in biochemical sciences* 36.3 (2011): 141-150.

Cooper, Geoffrey M., Robert E. Hausman, and Robert E. Hausman. *The cell: a molecular approach*. Vol. 10. Washington, DC: ASM press (2000): 725-763.

Davis, Alexander, Ruli Gao, and Nicholas Navin. "Tumor evolution: Linear, branching, neutral or punctuated?." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer* 1867.2 (2017): 151-161.

de Klein, Annelies, Ad Geurts van Kessel, Gerard Grosveld, Claus R. Bartram, Anne Hagemeijer, Dirk Bootsma, Nigel K. Spurr, Nora Heisterkamp, John Groffen, and John R. Stephenson. "A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukaemia." *Nature* 300.5894 (1982): 765-767.

Easwaran, Hariharan, Hsing-Chen Tsai, and Stephen B. Baylin. "Cancer epigenetics: tumor heterogeneity, plasticity of stem-like states, and drug resistance." *Molecular cell* 54.5 (2014): 716-727.

Ezhkova, Elena, H. Amalia Pasolli, Joel S. Parker, Nicole Stokes, I-hsin Su, Gregory Hannon, Alexander Tarakhovsky, and Elaine Fuchs. "Ezh2 orchestrates gene expression for the stepwise differentiation of tissue-specific stem cells." *Cell* 136.6 (2009): 1122-1135.

- Greaves, Mel, and Carlo C. Maley. "Clonal evolution in cancer." *Nature* 481.7381 (2012): 306-313.
- Hanahan, Douglas, and Robert A. Weinberg. "Hallmarks of cancer: the next generation." *cell* 144.5 (2011): 646-674.
- Hartwell, Leland, Goldberg, Michael L., Fischer, Janice A., Hood, Leeroy., "*Genetics: from genes to genomes*". New York: McGraw-Hill (2008): 393-394.
- Heng, Henry H., Steven W. Bremer, Joshua B. Stevens, Steven D. Horne, Guo Liu, Batoul Y. Abdallah, J. Ye Karen, and J. Ye Christine. "Chromosomal instability (CIN): what it is and why it is crucial to cancer evolution." *Cancer and Metastasis Reviews* 32.3-4 (2013): 325-340.
- Hodis, Eran, Ian R. Watson, Gregory V. Kryukov, Stefan T. Arold, Marcin Imielinski, Jean-Philippe Theurillat, Elizabeth Nickerson. "A landscape of driver mutations in melanoma." *Cell* 150.2 (2012): 251-263.
- Ibrahim-Hashim, Arig, Robert J. Gillies, Joel S. Brown, and Robert A. Gatenby. "Coevolution of tumor cells and their microenvironment: "niche construction in cancer"." *Ecology and Evolution of Cancer*. Academic Press, (2017): 111-117.
- Kuperwasser, Charlotte, Tony Chavarria, Min Wu, Greg Magrane, Joe W. Gray, Loucinda Carey, Andrea Richardson, and Robert A. Weinberg. "Reconstruction of functionally normal and malignant human breast tissues in mice." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101, no. 14 (2004): 4966-4971.
- Lloyd, Mark C., Robert A. Gatenby, and Joel S. Brown. "Ecology of the Metastatic Process." *Ecology and Evolution of Cancer*. Academic Press (2017): 153-165.
- Lo, Anthony Wl, Laure Sabatier, Bijan Fouladi, Géraldine Pottier, Michelle Ricoul, and John P. Mumane. "DNA amplification by breakage/fusion/bridge cycles initiated by spontaneous telomere loss in a human cancer cell line." *neoplasia* 4.6 (2002): 531-538.
- Loeb, Lawrence A. "A mutator phenotype in cancer." *Cancer research* 61.8 (2001): 3230-3239.
- Martínez, Marta, Carlos OS Sorzano, Alberto Pascual-Montano, and Jose M. Carazo.. "Gene signature associated with benign neurofibroma transformation to malignant peripheral nerve sheath tumors." *PloS one* 12.5 (2017): e0178316.
- McCallum, Hamish. "Tasmanian devil facial tumour disease: lessons for conservation biology." *Trends in ecology & evolution* 23.11 (2008): 631-637.
- Merlo, Lauren MF, John W. Pepper, Brian J. Reid, Carlo C. Maley. "Cancer as an evolutionary and ecological process." *Nature reviews cancer* 6.12 (2006): 924-935.
- Murchison, Elizabeth P., David C. Wedge, Ludmil B. Alexandrov, Beiyuan Fu, Inigo Martincorena, Zemin Ning, Jose MC Tubio . "Transmissible dog cancer genome reveals the origin and history of an ancient cell lineage." *Science* 343.6169 (2014): 437-440.
- Nunney, Leonard. "The Evolutionary Origins of Cancer and of Its Control by Immune Policing and Genetic Suppression." *Ecology and Evolution of Cancer*. Academic Press, 2017. 1-9.

- Pardal, Ricardo, Michael F. Clarke, Michael F. Morrison. "Applying the principles of stem-cell biology to cancer." *Nature Reviews Cancer* 3.12 (2003): 895-902.
- Pon, Julia R., Marco A. Marra. "Driver and passenger mutations in cancer." *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 10 (2015): 25-50.
- Russell, Shonagh, Robert A. Gatenby, Robert J. Gillies, and Arig Ibrahim-Hashim. "Pseudohypoxia: Life at the Edge." *Ecology and Evolution of Cancer*. Academic Press, 2017. 57-68.
- Scott, Jacob, and Andriy, Marusyk. "Somatic clonal evolution: A selection-centric perspective." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer* 1867.2 (2017): 139-150.
- Sishc, Brock, and Anthony Davis. "The role of the core non-homologous end joining factors in carcinogenesis and cancer." *Cancers* 9.7 (2017): 81.
- Thomas, Frédéric, Beata Ujvari, Cindy Gidoin, Aurélie Tasiemski, Paul W. Ewald, and Benjamin Roche. "Toward an ultimate explanation of intratumor heterogeneity." *Ecology and evolution of cancer*. Academic Press, 2017. 219-222.
- Weinberg, Robert A. *The Biology of Cancer: Second International Student Edition*. WW Norton & Company (2013): 31-69.
- Williams, Marc J., Benjamin Werner, Chris P. Barnes, Trevor A. Graham, and Andrea Sottoriva. "Identification of neutral tumor evolution across cancer types." *Nature genetics* 48.3 (2016): 238-244
- Yates, Lucy R., and Peter J. Campbell. "Evolution of the cancer genome." *Nature Reviews Genetics* 13.11 (2012): 795-806.

SAŽETAK

Tumori su nenormalna nakupina stanica koja nastaje proliferacijom stanice te nakupljanjem pogodnih genomskih promjena. Takva stanica prestaje surađivati sa stanicama u održavanju homeostaze. Tumorska populacija je heterogena te je sastav stanica varijabilan koja u ovisnosti o mikrookolišu. Stanice sa pogodnim fenotipom preživljavaju te stvaraju subklonske populacije, dok neprilagođene stanice te njihove subklonske populacije izumiru. Također, tumorske stanice mogu imati različite fenotipe koji im omogućavaju preživljavanje i proliferaciju u konstantno promjenjivim uvjetima. Sama heterogenost tumora posljedica je izdašnih genomskih promjena; mutacije gena i epigenetske promjene dovode do spore evolucije koju, u nekim tipovima tumora, prekidaju katastrofični događaji koji dovode do promjene kariotipa svake pojedine stanice, što u veoma kratkome roku još i više povećava heterogenost populacije, tj. ubrzava evoluciju. Tumorske stanice su u kooperaciji sa ostalim tumorskim stanicama, ali i u interakciji sa normalnim stanicama. Tumori mijenjaju svoj mikrookoliš na način da utječu na normalne stanice produktima metabolizma ili putem signalnih molekula. Mijenjanje okoliša uključuje promjene normalnih stanica ali i degradaciju vanstaničnog matriksa. Progresija tumora završava smrću organizma, što je posljedica metastaza. Metastaze su kompleksan proces pri kojemu stanice napuštaju tumor te koloniziraju udaljena tkiva. Stanice sposobne za metastaze su preadaptirane u primarnom tumoru te imaju posebne prilagodbe koje im omogućuju preživljavanje i proliferaciju u udaljenim tkivima.

SUMMARY

Tumors are abnormal clusters of cells that arise when a cell acquires advantageous set of mutations that cause abnormal proliferation and evading cell death. Tumor populations are heterogeneous clusters with variable cell composition according to changes in microenvironment. Cells with suitable phenotype survive, divide and give rise to subclonal populations, while cells that do not have suitable phenotype go extinct. Furthermore, some tumor cells show phenotypes that allow them to survive and proliferate in constantly changing microenvironment. Heterogeneity is a result of various genomic changes. Gene mutations and epigenetic changes lead to gradual evolution, while chromosomal changes lead to punctuated evolution. Also, tumor cells are in constant cooperation with other tumor and normal cells. Tumor cells change their environment, including other cells and extracellular matrix, with products of metabolism or with various signaling molecules. Tumor progression leads to metastasis that eventually kill the host. Metastasis are a complex process by which tumor cells colonize distant tissues. Cells capable of colonizing distant tissues are pre-adapted to microenvironment in distant tissue.