

АДХЕЗИОНИ МОЛЕКУЛИ У ВИЛМСОВОМ ТУМОРУ (I ДЕО)

Гордана БАСТА-ЈОВАНОВИЋ¹, Сања РАДОЈЕВИЋ¹, Славиша ЂУРИЧИЋ²

1. Институт за патологију Медицинског факултета у Београду;

2. Институт за здравствену заштиту мајке и детета Србије " Др Вукан Чупић "

КРАТАК САДРЖАЈ: Адхезиони молекули су гликопротеини који имају ванћелијски, трансмембрански и интрацитоплазматски део, а њихова основна улога се огледа у интеракцији између ћелија у ткиву са једне и између ћелија и матрикса са друге стране. Они имају своје место у одржавању интегритета туморског ткива, диференцијацији, пролиферацији, апоптози и метастазирању туморских ћелија. Како се о њиховом откривању и значају у случајевима Wilms-овог тумора мало зна, ми смо желели да сакупимо и објединимо до сада познате налазе, који би били од значаја за боље разумевање природе овог тумора и његово успешније лечење. Утолико пре што је позната чињеница да се у 15% Wilms-ових тумора налази мутација б-катенина, што указује да поремећај у Wnt сигналном путу игра важну улогу у настанку неких типова Wilms-овог тумора.

Кључне речи: Wilms-ов тумор, адхезиони молекули, интегрини, селектини, имуноглобулинска супергенска фамилија, кадхерини, катенини

Wilmsov тумор је ембрионални тумор бубрега који настаје из метанефричког бластема. Као најчешћи солидни тумор у дечијем узрасту са годишњом учесталошћу од 6-7% малигнух тумора дечијег доба, заступљен је поједнако код оба пола, а јавља се најчешће као спорадичан, унилатералан тумор. У ретким случајевима у око 7% може се развити билатерално, док се још ређе јавља као фамилијарно обољење код 1% [1].

Хистолошки тумор је по правилу трокомпонентан и састоји се од бластемских, епителних и стромалних ћелија. У различитим случајевима испољава се предминација појединих компоненти тако да се описују двокомпонентни или чак монокомпонентни типови овога тумора, што је од већине истраживача критиковано с обзиром да у сваком случају постоје, макар минимално заступљене, све три компоненте. Тумор се састоји од бластемског ткива које гради гнезда или траке опкољене мезенхимом. У већем броју могу се наћи незрели, абортивни каналићи окружени вретенастим ћелијама строге (саркоматоидни тип). У ткиву тумора такође се налазе гломерули и „гломерул лике“ (гломерулоидне) формације које су састављене од малигнух ћелија. Поред описаних елемената могу се наћи и попречно пругаста и глатка мишићна влакна, везивно, фиброзно ткиво, хрскавица, кост, масно ткиво, као и огњишта некрозе у којима се налазе холестеролски кристали и липидне макрофаге.

Како адхезиони молекули играју средишњу улогу у интеракцији између ћелија у ткиву са једне и између ћелија и матрикса са друге стране, имају своје место у одржавању интегритета туморског ткива, диференцијацији, пролиферацији, апоптози и метастазирању туморских ћелија.

Постоји неколико фамилија адхезионих молекула који су битни за процес адхезије а то су : интегрини,

селектини, кадхерини и чланови имуноглобулинске суперген фамилије.

ИНТЕГРИНИ

Интегрини су хетеродимерни протеини. Састоје се од нековалентно повезаних алфа и бета субјединица. До сада је идентификовано 8 различитих ланаца бета и 14 ланаца алфа интегринина. Свака субјединица има свој ванћелијски, трансмембрански и унутарцитоплазматски део [2,3].

За ванћелијски део неких интегринина везују се протеини као што су : колаген, ламинин и фибронектин. Интегринска молекула распознаје RGD секвенцу (секвенца аргинин-глицин-аспартат) полипептидних ланаца који се налазе у саставу различит молекула базалне мембране и специфично се везује за њих, одржавајући на тај начин интегритет базалне мембране.

Активација интегринског молекула доводи до конформационе промене његовог унутарћелијског дела. На тај начин се одржава одређени облик ћелије, омогућава се функционално просторно поларизовање ћелијске мембране променом активности протеина који имају улогу јонских канала или ензима, као и транскрипција гена и транслација на рибозомима ослобађањем синтетисаног материјала у екстрацелуларни простор.

Испитивања су показала да су интегрини, поред других адхезионих молекула, имају велики значај за раст, инвазивност и метастазирање тумора на тај начин што учествују у сложеним променама у интеракцији између ћелија и екстрацелуларног матрикса као и међу самим ћелијама.

Интегрини су идентификовани на готово свим ћелијама а у бубрегу је њихово присуство доказано на различитим структурама. Различити молекули инте-

грини идентификовани су на ћелијама бубрега са различитом дистрибуцијом, при чему исте врсте интегрини могу имати различите функције.

Доминантни интегрин који је присутан на ћелијама проксималних и дисталних бубрежних каналића је α -6 β -1 интегрин који представља рецептор за ламинин. На дисталним тубуларним ћелијама налази се и интегрин β -3 који је такође рецептор за ламинин, док се на ћелијама проксималних каналића детектује дискретно присуство α -V подјединице која се везује за фибронектин и колаген.

Интегрин α -6 β -1 игра битну улогу у морфогенези бубрега. Доказано је да су ланци ламинина А неопходни за процес преласка недиферентованог мезенхима из уретеричног пупољка у поларизоване ћелије бубрежних ланалића. Овај процес се одвија за мање од 36 часова. Испитивања су показала да ремећење адхезије ћелија за ланац ламинина А са интегринским антителима анти- α -6, као и са антителима на ламинин А, спречава тубулогенезу [4,5]. Из овога произилази да су интегрини од великог значаја за настанак Wilms-овог тумора који се управо карактерише незрелим бластемским ткивом.

СЕЛЕКТИНИ

Селектини су адхезионе молекуле које су откривене у мембранама ћелија и то на тромбоцитима, ендотелним ћелијама и леукоцитима. То су гликопротеини разврстани у три фамилије: тромбоцитни P-селектин (CD 62P), ендотелијални E-селектин (CD 62E) и леукоцитни L-селектин (CD 62L), који имају улогу да омогуће везивање тромбоцита, полиморфонуклеарних леукоцита и моноцита за активирани ендотел, као и леукоцита за активирани тромбоцит путем угљенохидратне компоненте сијалинске киселине која је експримирана на гликопротеинима на ћелијској површини. Експресија селектини у зависности је са концентрацијом цитокина у ћелијском окружењу. Цитокини као што су IL-1 и TNF- α индукују експресију P и N-селектини на ендотелијалним ћелијама. TGF- β брзо повећава ниво експресије L-селектини на леукоцитима, али смањује експресију E-селектини од стране ендотелних ћелија [6]. Солубилни E-селектин је откривен у серуму здравих и болесних особа. Повећане концентрације циркулишућег E-селектини се могу открити у неких болесника са обољењима бубрега. Међутим, још увек је нејасно колики је значај повишених вредности E-селектини у болестима бубрега и не зна се да ли праћење његове концентрације може бити показатељ болести.

E-селектин је неизоставно одсутан у свим структурама нормалног бубрега.

ИМУНОГЛОБУЛИНСКА СУПЕРГЕНСКА ФАМИЛИЈА

Бројни клинички и експериментални радови показали су да у патогенези бубрежних болести веома важну улогу има пет чланова имуноглобулинске супергенске фамилије [7]: интерцелуларни адхезиони молекули 1, 2 и 3 (ICAM-1, 2, 3), васкуларни ћелијски адхезиони молекули (VCAM-1) и тромбоцитни ендоте-

лијални адхезиони молекул 1 (PECAM-1). Молекули ICAM се међусобно разликују у начину на који су смештени на ћелијама. Такође се показало да је њихова експресија различита после дејства различитих цитокина.

ICAM-1 (CD 45) је моћан адхезиони молекула који се налази на ћелијама хематопоезног и нехематопоезног порекла. Његова експресија се драстично повећава након дејства неких врста цитокина. Испитивања су показала да различите врсте ћелија након дејства истог цитокина могу да испоље сасвим различиту експресију ICAM молекула [8,9]. Важно је напоменути да интеракција између ICAM-1 и интегрини α -1 има помоћну улогу у многим имунолошким и запаљенским процесима као што су презентација антигена T ћелијама, лимфоцитна цитотоксичност и екстравазација леукоцита.

ICAM-2 (CD 102) се налази на хематопоеским ћелијама као што су лимфоцити T и B, моноцити и на ендотелним ћелијама.

ICAM-3 (CD w50) се налази у високом степену на мирујућим лимфоцитима, моноцитима и неутрофилним леукоцитима, али за разлику од молекула ICAM-1 и ICAM-2 нема га на ендотелним ћелијама. Верује се да има улогу у започињању имуног одговора.

КАДХЕРИНИ

Кадхерини су породица адхезионих молекула који обављају калцијум зависну интерцелуларну адхезију. То су гликопротеини молекулске масе 120-140 кД, а састоје се из великог екстрацелуларног дела, једног хидрофобног трансмембранског региона и цитоплазматског репа. На дугачком екстрацелуларном делу налазе се места на којима се везује калцијум, а на унутрашњем, цитоплазматском делу налазе се места на којима се припајају катенини.

Доказано је неколико врста кадхерина: E-кадхерин (увомерулин или L-CAM), који се налази у зонули адхеренс зрелих епителних ћелија, N-кадхерин (A-CAM), који се налази на зрелим ћелијама нервног и мишићног ткива, P-кадхерин на ћелијама плаценте и епидермиса, M-кадхерин на миогеним ћелијама, R-кадхерин на незрелим висцералним епителним ћелијама гломерула [10].

Код одрслих особа готово све епителне ћелије експримирају E и P кадхерин. E кадхерин је равномерно распоређен кроз епителне слојеве, док је P кадхерин више сконцентрисан у базалним слојевима ћелија. N-кадхерин се налази на проксималним тубуларним епителним ћелијама нормалног бубрега одраслих особа [11]. E-кадхерин се налази у епителу дисталних бубрежних каналића. Ни једна врста кадхерина није присутна на зрелим гломеруларним епителијалним ћелијама нормалног бубрега у одраслог човека. Међутим, на незрелим висцералним епителним ћелијама гломерула присутан је P-кадхерин, што би могло бити од значаја за разумевање промена код Wilm-совог тумора.

Кадхерин-везујући протеини, чијим се посредством кадхерини везују за цитоскелет су **катенини**.

Кадхерин-катенин комплекс везује актинске ккомпоненте цитоскелета. Са анкерином и фодрином као периферним компонентама актинских микрофиламената кадхерини такође формирају комплексе. Постоји неколико врста катенина који су обележени као а, б, ц, д [12]. Ови молекули се, заједно са молекулима кадхерина, налазе у зони адхеренс епителних ћелија и учествују у формирању међућелијских веза.

Алфа катенин, протеин молекулске масе 102 кД, омогућава успостављање веза између кадхерина и бета-катенина. Без а-катенина ћелије не остварују чврсте везе, упркос експресији кадхерина, Стога је интеракција а-катенина, везивање комплекса кадхерин-катенин за актински цитоскелет од велике важности за остваривање пуне функције и активности кадхерина.

Бета-катенин је протеин молекулске масе 92 кД који има важну улогу у ћелијско-ћелијској адхезији, провођењу сигнала тако што активира Wnt пут који је значајан за контролу експресије гена ћелијског понашања, ћелијске адхезије и ћелијске поларности и делује у комбинацији са другим сигналним путевима, као и улогу у интеракцији са аксином и APC (аденоматоус полипосис цоли) протеином и то у свом слободном цитоплазматском облику. Испитивања су показала да све три врсте интеракције имају важну улогу како у морфогенези и одржавању структуре ткива, тако и у процесу туморогенезе па отуда и значај испитивања б-катенина у Wilms-овом тумору као и туморима уопште.[13].

Гама/катенин (плакоглобин) је гликопротеин који делује првенствено као тумор-супресор. Он учествује у истим реакцијама као б-катенин, али се по неким реакцијама од њега ипак разликује. За разлику од б-катенина, ц-катенин потискује туморогенезу ћелија

које или поседују, или им недостаје кадхерин-катенин комплекс. Према неким тумачењима плакоглобин се такмичи са б-катенином за цитоплазматске партнере који учествују у формирању спојних веза (као што су а-катенин и кадхерин). Према другим тумачењима која се односе на трансактивацију, плакоглобин-LEF комплекс (ген) када се активира потискује тумор.

У литератури нема већег броја радова у којима се публикују резултати испитивања детекције адхезионих молекула у случајевима Wilms-овог тумора, што би свакако било од значаја за боље разумевање природе овог тумора и његово успешније лечење. Утолико пре што је позната чињеница да се у 15% Wilms-ових тумора налази мутација б-катенина [14], што указује да поремећај у Wnt сигналном путу игра важну улогу у настанку неких типова Wilms-овог тумора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Beckwith BJ: New developments in the pathology of Wilms tumor. *Pediatr Oncol* 1997, 15(2): 153-162 .
2. Hemlar ME: VLA proteins in the integrin family: structures functions and their role on leukocytes. *Annu Rev Immunol* 1990, 8: 831-852.
3. Hynes RO: Integrins: versatility, modulation, and signalling in cell adhesion. *Cell* 1992, 69: 11-25.
4. Guan J-L, Shalloway D : Regulation of focal adhesion-associated protein tyrosine kinase by both cellular adhesion and oncogenic transformation. *Nature* 1992, 358: 690-2 .
5. Droz D, Patey N, Paraf F, et al: Composition of extracellular matrix and distribution of cell adhesion molecules in renal cell tumors. *Lab Invest* 1994, 71: 710-718.
6. Gamble JR, Khew-Goodall Y, Vadas MA: Transforming growth factor- β inhibits E-selectin expression on human endothelial cells. *J Immunol* 1993, 150: 4494-4503.

ADHESION MOLECULES IN WILMS TUMOR (PART I)

Gordana BASTA-JOVANOVIĆ¹, Sanja RADIVOJEVIĆ¹, Slaviša ĐURIŠIĆ²

1. Institute of Pathology, University School of Medicine, Belgrade; 2. Institute for Health Protection of Mother and Child " Dr Vukan Čupić"

ABSTRACT: Adhesion molecules are glycoproteins which have extracellular, transmembranous and intracytoplasmatic part. They show their basic role is in cell interaction in the tissue on one side and between cells and matrix on the other side. They have an important role in stabile integrity of tumor tissue, as well as in differentiation, proliferation, apoptosis and metastatic spread of tumorous cells. Since there is very little known facts about adhesion molecule detection and about its significance in Wilms tumor, our intention was to collect all known achievements which could be of importance for better understanding of tumors nature and successful treatment. Especially because of well known fact that in 15% Wilms

tumors there are b-catenin mutations, which indicates that there is a disorder in Wnt signal path that plays an important role in Wilms tumor genesis.

Key words: Wilms tumor, adhesion molecules, integrins, selectins, immunoglobulin supergen family, cadherins, catenins

Dr Gordana Basta-Jovanović
Takovska 21
11000 Beograd

7. Basta-Jovanovic G., et al: Adhesion molecule expression in transplanted kidneys. Book of abstracts, XVI th European Congress of Pathology, Budapest 1996.
8. Wuthrich RP, Jevnikar AM, Takey F, et al: Intercellular adhesion molecule-1 expression is upregulated in autoimmune murine lupus nephritis. *Am J Pathol* 1990, 136: 441-450.
9. Wuthrich RP: Intercellular adhesion molecules and vascular cell adhesion molecule-1 and the kidney. *J Am Soc Nephrol* 1992, 3: 1201-1211.
10. Goto S, Yaoita E, Matsunami H, et al: Involvement of R-Cadherin in the early stage of glomerulogenesis. *J Am Soc Nephrol* 1998, 9(7): 1234-1241.
11. Biddlestone LR, Fleming S: Morphological evidence that A-CAM is a major intercellular adhesion molecule in human kidney. *J Pathol* 1991, 164: 9-15.
12. Ho C, Zhou J, Medine M, et al: Delta-catenin is the a nervous system-specific adherens junction protein which undergoes dynamic relocalization during development. *J Comp Neurol* 2000, 420 (2): 261-276.
13. Khurinsky J, Shtutman M, Ben-Ze'ev A: Plakoglobin and beta-catenin protein interactions, regulation and biological roles. *J Cell Science* 2000, 113: 3127-3139.
14. Maiti S, Alam R, Amos CI, and Huff V: Frequent association of b-catenin and WT1 mutations in Wilms tumors. *Cancer Research* 2000, 60(22): 6288-6292.