Uloga kalpaina u karcinomu dojke

Baumgartner, Tihana

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:184:824580

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository

zir.nsk.hr

UNIRI DIGITALNA KNJIŽNICA

Image not found or type unknown

SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Tihana Baumgartner

ULOGA KALPAINA U KARCINOMU DOJKE

Diplomski rad

Rijeka, 2018. g

SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI

SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINE

Tihana Baumgartner

ULOGA KALPAINA U KARCINOMU DOJKE

Diplomski rad

Rijeka, 2018. g

MENTOR RADA: prof. dr .sc. ELVIRA MUSTAĆ, dr. med.

Diplomski rad ocjenjen je dana_____u/na_____

_____, pred povjerenstvom u sastavu:

1. Prof. dr. sc. Nives Jonjić, dr.med.
2. Prof. dr. sc. Ivana Marić,dr. med.
3. Doc. dr. sc. Emina Babarović , dr. med.

Rad sadrži 35 stranica, 11 slika, 1 tablicu, 45 literaturnih navoda.

ZAHVALA

Veliku zahvalnost prvenstveno dugujem svojoj mentorici, prof. dr. sc. Elviri Mustać koja mi je svojim savjetima pomogla pri izradi ovog diplomskog rada i jer je uvijek imala strpljenja i vremena za moje brojne upite.

Veliko hvala ide svim mojim prijateljima i prijateljicama za sve lijepe i zabavne trenutke tijekom studiranja. Vrijeme provedeno s vama će mi zauvijek ostati u sjećanju kao jedne od najljepših uspomena.

Za kraj, ovaj diplomski rad bi htjela posvetiti svojim roditeljima, Marici i Damiru, i sestri Nikolini, koji su bili uz mene tijekom cijelog studiranja. Pružili ste mi bezuvjetnu potporu i vjerovali ste u mene, ohrabrivali i tješili ste me kad je bilo najteže. Bez vas ne bi bila tu gdje sam danas.

SADRŽAJ

1. UVOD 1

1.1. EMBRIOLOGIJA DOJKE 1

1.2. ANATOMIJA DOJKE 1

1.3.HISTOLOGIJA DOJKE 3

1.4. KARCINOMI DOJKE 4

1.4.1 ETIOLOGIJA KARCINOMA DOJKE 4

1.4.2. EPIDEMIOLOGIJA KARCINOMA DOJKE 6

1.4.3 PATOLOGIJA KARCINOMA DOJKE 7

1.4.3.1. DUKTALNI KARCINOM IN SITU (DCIS) 8

1.4.3.2. LOBULARNI KARCINOM IN SITU 9

1.4.3.3. INVAZIVNI DUKTALNI KARCINOM DOJKE 9

1.4.3.4. INVAZIVNI LOBULARNI KARCINOM 10

1.4.3.5. MEDULARNI KARCINOM 11

1.4.3.6. MUCINOZNI KARCINOM 12

1.4.3.7. TUBULARNI KARCINOM DOJKE..... 13

1.4.3.8. INVAZIVNI PAPILARNI KARCINOM.....13

1.4.3.9. PAGETOVA BOLEST BRADAVICE.....14

1.4.4. MOLEKULSKI PODTIPOVI KARCINOMA DOJKE.....14

1.4.5. KLASIFIKACIJA IZ ST. GALLENA 2013. GODINE 15

2. SVRHA RADA 17

3. PREGLED LITERATURE NA ZADANU TEMU.....18

3.1. STRUKTURA KALPAINA.....18

3.2. KALPASTATIN.....20

3.3. AKTIVACIJA KALPAINA.....21

3.4. ULOGA KALPAINA U KARCINOMU.....22

4. RASPRAVA.....25

5. ZAKLJUČAK.....28

6. SAŽETAK.....29

7. SUMMARY.....30

8. LITERATURA.....31

9. ŽIVOTOPIS.....35

POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA

BRCA - geni raka dojke

ER - estrogen receptor

PR - progesteron receptor

HER - humani receptor epidermalnog čimbenika rasta

kDa – kilodalton

μM – mikromol

mM – milimol

mRNA (*messenger* RNA) – glasnička ribonukleinska kiselina

NFκB – transkripcijski faktor

IκBα – inhibitor transkripcijskog faktora

v-Src – onkoprotein

VEGF (*Vascular endothelial growth factor*) – čimbenik rasta krvnih žila

PTEN – (*Phosphatase and tensin homolog*) – tumor supresorski gen

PRELIMINARNE STRANICE

Broj preliminarnih stranica (7).

1. UVOD

1.1. EMBRIOLOGIJA DOJKE

Razvoj mliječnih žlijezda počinje krajem prvog mjeseca embrionalnog života u obliku mliječne pruge ili mliječnog grebena, kojeg čini zadebljanje epidermalnog sloja kože. U 6. tjednu razvitka embrija ta se pruga pruža od pazuha do prepone, na prednjoj strani tijela. Većina mliječne pruge uskoro atrofira, osim malog dijela koji ostaje u pektoralnoj regiji, u četvrtom interkostalnom prostoru, koji se, urastanjem u mezenhim, podijeli na 16 do 24 ogranaka, na kojima izrastaju epitelni pupoljci. Ti pupoljci služe kao osnova za acinuse i kanaliće dojke, a epitelni ogranci, kada razviju lumen, postaju osnova za mliječne kanaliće. Sami mliječni kanalići prvo će se otvoriti u epitelnu jamicu,a nakon rođenja, bujnim rastom mezenhima,jamica se razvija u bradavicu dojke. (1) Razvoj dojke nije dovršen u vrijeme rođenja. Progresivni rast i grananje kanalića dojke razvija se polagano u toku prepubertetskog života. Ravoj dojke u muškaraca prestaje približno u tom stadiju. (2)

1.2. ANATOMIJA DOJKE

Dojka je paran organ koja je, nakon razvoja, smještena u *regio mammaria*, koja se nalazi u postraničnom dijelu prednje strane prsnog koša i zauzima područje između drugog i sedmog rebra, te između lateralnog ruba prsne kosti i srednje pazušne linije. Dvije dojke razdvaja inermamarna brazda, *sulcus intermammarius*, koja se nalazi u sternalnoj regiji. Mišićnu podlogu dojke najvećim dijelom čine prsni mišići, *musculus pectoralis major et minor*. Između dojke i duboke torakalne vezivne ovojnice nalazi se retromamarni prostor koji je ispunjen rahlim vezivnim tkivom. Ovaj protor i rahlo vezivo u njemu omogućavaju slobodno pokretanje dojke po dubokoj torakalnoj ovojnici odnosno po prsnom košu. Za kožu je dojka učvršćena potpornim svezama, *ligamentaria suspensoria mammaria*. Te vezivne niti povezuju dubinsku torakalnu fasciju i kožu i tako podupiru dojku. Tijelo dojke, *corpus mammae*, čini

njezin glavni dio. On se sastoji od 15 do 20 žljezdanih režnjeva, *lobi glandulae mammariae*. Ti režnjevi se nalaze u površinskoj, pektoralnoj vezivnoj ovojnici tj. potkožnom tkivu. Između režnjeva se nalazi masno tkivo koje daje karakterističan zaobljeni izgled dojke i određuje njenu veličinu. Režnjeve tvore manje jedinice nazvane režnjići ili *lobuli glandulae mammariae*. Iz svakog režnja dojke, njegovog centralnog dijela, izlazi njegov izvodni kanal, *ductus lactiferus*. Svi izvodni kanalići konvergiraju da bi se u konačnici otvorili u bradavici dojke, *papilla mammaria*. Bradavice su najvećim dijelom građene od glatkih mišićnih vlakana koji su kružno raspoređeni i stežu izvodne kanale i izbočuju bradavicu. Svaki izvodni kanal ima proširenje, *sinus lactiferus*, prije završetka u bradavici, a funkcija mu je da nakuplja mlijeko tijekom dojenja. Sama bradavica je okružena krugom tamnije kože koji se zove *areola mammae*. Areola sadrži mnogobrojne lojne žlijezde koje izlučuju uljastu tvar koja štiti bradavicu tijekom trudnoće. Arterijska opskrba dojke najvećim dijelom dolazi od unutarnje prsne arterije, *arteria thoracica interna*, odnosno njezinih perforantnih grana, *rami perforantes*, koje probijaju od drugog do četvrtog međurebrenog prostora dajući grane *rami mammarii mediales*. Lateralno, pazušna arterija daje ogranke, *rami mammarii laterales*, te *ramus cutaneus lateralis*, koju daje stražnja interkostalna arterija. Venska krv dojke odlijeva se u aksilarnu, unutarnju torakalnu i lateralnu torakalnu venu, te u interkostalne vene. Jako je važno poznavanje limfne drenaže dojke jer je to glavni put širenja karcinoma. Limfa dojke ide iz dubine interlobularnim limfnim žilama u subareolarni limfni splet. Otamo i iz drugih dijelova dojke limfne žile uglavnom prate vene u pazušnu jamu. Tri četvrtine limfe ide u aksilarne limfne čvorove, *nodi lymphoidei axillares* i to većinom u pektoralne čvorove, *nodi pectorales*. Iz dubljih dijelova dojke, limfne žile idu kroz veliki prsni mišić i ulijevaju se u apikalne čvorove, *nodi apicales*. Limfa iz medijalnih dijelova dojke ide u *nodi parasternales*. Inervacija dojki dolazi preko živaca *rami mammarii laterlaes*,a daju ih prednje i lateralne

grane interkostalnih živaca. Ti živci imaju osjetna i simpatička vlakna za opskrbu čitave dojke. (3,4)

1.3. HISTOLOGIJA DOJKE

Mliječne žlijezde su složene tubuloalveolarne žlijezde koje predstavljaju modificirane apokrine žlijezde znojnice. Svaka dojka je građena od 15 do 20 pojedinačnih režnjeva piramidalnog oblika koji su odvojeni gustim vezivnim tkivom. Udio žljezdanog i nežljezdanog tkiva varira s funkcionalnim statusom žene.

U mirovanju, glavni žljezdani elementi su kanali koji su grupirani da oblikuju režnjeve. Najmanji ogranci kanala su obloženi jednostavnim kubičnim epitelom. Kako kanalići idu prema bradavici, mijenja se tip epitela i količina stanica, pa su tako netom prije izlaska iz bradavice kanali obloženi dvoslojnim stratificiranim kubičnim epitelom. Prolaskom kroz bradavicu, epitel postaje mnogoslojno pločast.

Sekretorna jedinica se sastoji od klastera alveola koji okružuju kanalić. Alveolarna pregrada se sastoji od kubičnog epitela koji leži na bazalnoj membrani. Između epitelnih stanica i bazalne membrane nalaze se mioepitelne stanice. Intralobularno vezivno tkivo je rahlo, sadrži fibroblaste, fibrocite i neke stanične elemente poput limfocita, plazma stanica i histiocita. Interlobularno vezivno tkivo je gušće građe jer sadrži mnogo masnog tkiva.

Bradavica je prekrivena slojem keratiniziranog mnogoslojno pločastog epitela koji se nastavlja na okolnu kožu. Koža bradavice je pigmentirana, sadrži mnogo žlijezda lojnica, ali ne posjeduje žlijezde znojnice ni folikule dlaka. Areola je pigmentirano područje koje okružuje bradavicu. Tijekom trudnoće postaje tamnija odnosno pigmentiranija.

Žlijezde se podvrgavaju velikim promjenama tijekom trudnoće. U prvoj polovici trudnoće, dijelovi duktalnog sustava brzo rastu, granaju se, razvijaju terminalne pupoljke koji se proširuju u alveole. Proliferacija žljezdanog tkiva se odvija na račun masti i vezivnog tkiva. Vezivno tkivo strome postaje infiltrirano limfocitima, plazma stanicama i granulocitima.

Tijekom kasne trudnoće, proliferacija žljezdanog tkiva opada,alveole se šire i započinje formacija sekretornih materijala, a kasnije će biti ispunjeni mlijekom. (5,6)

1.4. KARCINOMI DOJKE

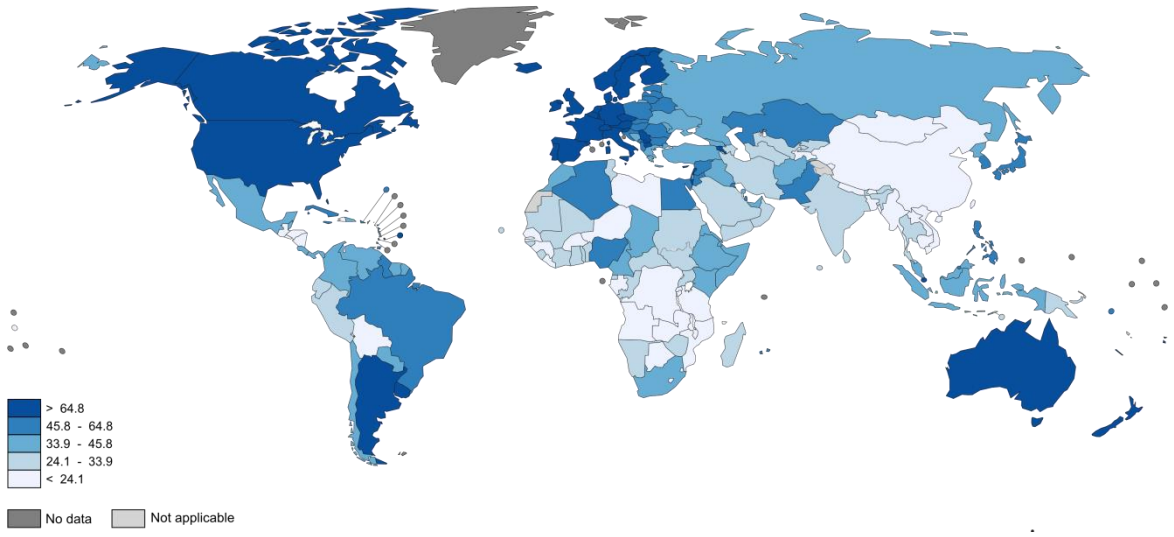
Tumore dojke možemo podijeliti u dvije skupine: benigne ili dobroćudne i maligne ili zloćudne tumore. Mogu nastati iz strome dojke, kada se klasificiraju kao stromalni tumori, ili iz epitela kada ih nazivamo epitelnim tumorima. Daleko veću kliničku vrijednost imaju maligni tumori dojke jer predstavljaju najčešće sijelo karcinoma u žena. Najčešće nastaju monoklonskom proliferacijom stanica epitela terminalnih kanalića ili duktulo-lobularnih jedinica. (7)

1.4.1.EPIDEMIOLOGIJA KARCINOMA DOJKE

U današnje vrijeme rak dojke predstavlja veliki javnozdravstveni problem. Ima visoku stopu incidencije u svim zemljama svijeta. Uključuje 1,7 milijuna novodijagnosticiranih slučajeva godišnje, te obuhvaća 25% svih otkrivenih karcinoma. U 2012. godini, prema podacima GLOBOCAN-a, od raka dojke je umrlo 508 000 žena.

Geografska distribucija raka dojke na svjetskom nivou nije ravnomjerna. Područja u kojima se registrira najviša učestalost bolesti su zapadna Europa, Sjeverna Amerika, Australija i Novi Zeland, što se pripisuje višoj prevalenciji poznatih faktora rizikaza ovu bolest u spomenutim regijama. Smatra se da će od raka dojke oboliti svaka deseta, a umrijeti svaka trideseta žena. Nedavno je objavljena sistematska analiza morbiditeta i mortaliteta karcinoma dojke koja je uključivala 187 zemalja svijeta. Pokazala je da, na svjetskoj razini, učestalost bolesti raste posljednjih 30 godina sa porastom od 3,1% godišnje, dok mortalitet varira (8). Organiziranjem screeninga za žene starijih od 50 godina u sklopu ranog otkrivanja karcinoma dojke, incidencija u zapadnoeuropskim zemljama je drastično porasla, upravo zbog ranijeg

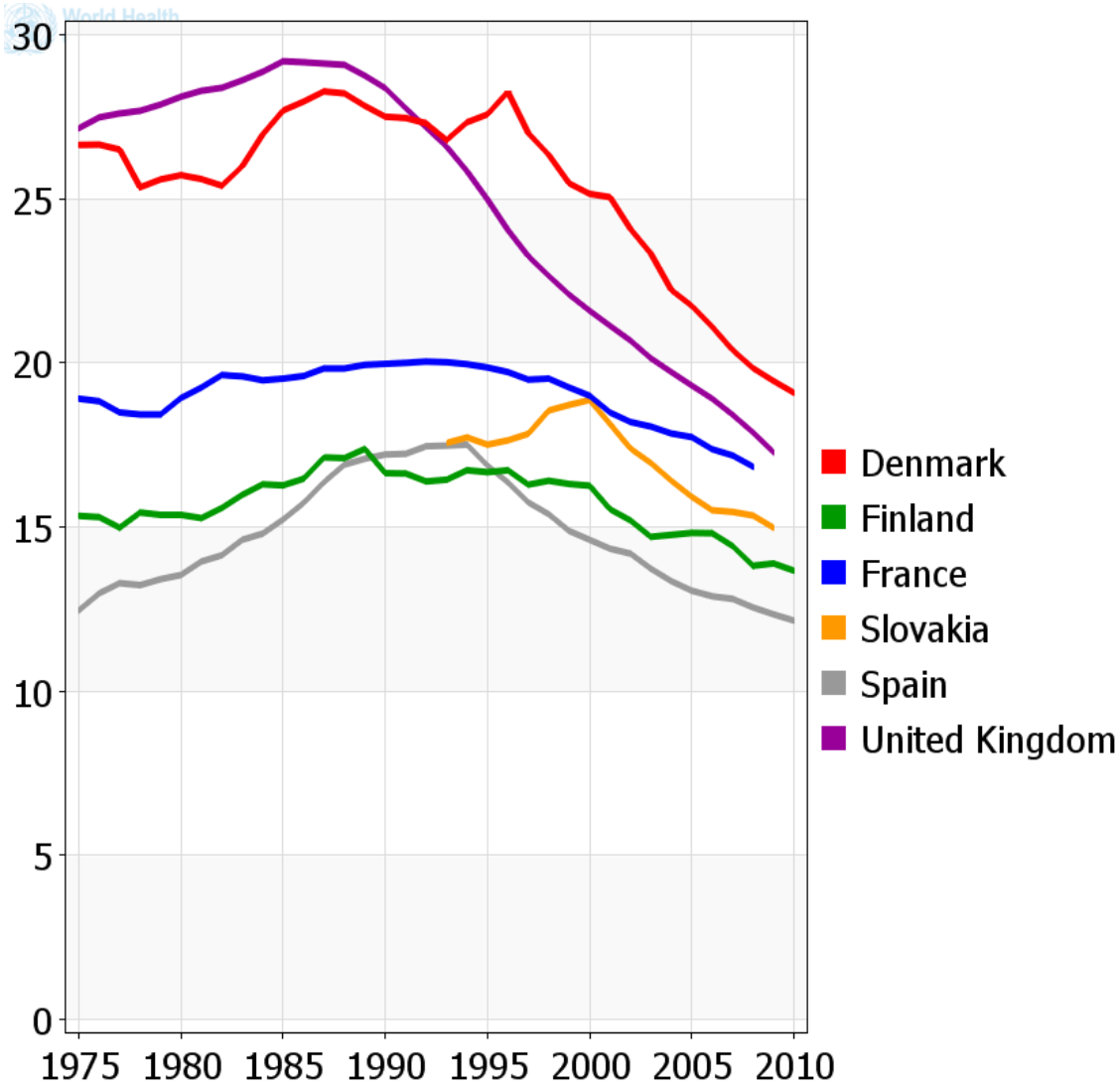
otkrivanja bolesti kod asimptomatskih žena, ali i zbog procesa demografske tranzicije gdje se povećava broj žena u riziku.



Slika 1. Stopa incidencije karcinoma dojke u svijetu. GLOBOCAN 2012.

(preuzeto sa: http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/breast-new.asp)

Sagledamo li podatke mortaliteta od karcinoma dojke, vidljivo je da incidencija opada i u SAD-u i u razvijenim zemljama. Mortalitet od karcinoma dojke zadnjih desetaka godina varira, odnosno, u Engleskoj se vidi pad od 20%, dok se recimo u Estoniji povećao za 25%. Osim što pridonosi povećanju incidencije, naročito u starijim dobnim skupinama,evidentan je i učinak screeninga u snižavanju mortaliteta od karcinoma dojke.(8-10)



Slika 2. Trend opadanja mortaliteta u odabranim zemljama Europe posljednjih godina.

(preuzeto sa: http://globocan.iarc.fr/old/FactSheets/cancers/breast-new.asp)

1.4.2. ETIOLOGIJA

Rak dojke je najčešće dijagnosticirana maligna bolest u svijetu nakon tumora kože. Iako su precizni uzroci raka dojke nejasni, poznajemo glavne čimbenike rizika. Najvažniji čimbenik rizika je spol; samo 1% slučajeva raka dojke se javlja kod muškaraca.

Učestalost obolijevanja raste tijekom životnog vijeka žena, a vrhunac doseže u dobi od 75 do 80 godina. Rak dojke je vrlo rijedak u svim dobnim skupinama mlađim od 25 godina.

Vrijeme menarhe i menopauze također predstavljaju jedan od faktora rizika. Naime, žene koje su prvu mentruaciju dobile prije 11-te godine imaju 20% veću šansu, kao i žene koje kasnije uđu u menopauzu, odnosno nakon 55-te godine života.

Žene koje rode prvo dijete u dobi mlađoj od 20-te godine su upola manje u riziku od žena koje rode nakon 35-te i nerotkinja. Pretpostavlja se da trudnoća rezultira terminalnom diferencijacijom luminalnih stanica koje proizvode mlijeko, te se time uklanjaju potencijalni prekursori raka.

Rizik od raka dojke se povećava ukoliko karcinom postoji u obiteljskoj anamnezi, posebno ako se rak javio u mlađoj dobi. Procjenjuje se da je 5 do 10% karcinoma dojke povezano s genetskim promjenama kroz generacije obitelji. Identificirani su brojni nasljedni mutirani geni koji mogu povećati vjerojatnost raka dojke. Najpoznatiji su BRCA-1 i BRCA-2, od kojih oba značajno povećavaju rizik od raka dojke i jajnika. Međutim, većina žena nema obiteljsku predispoziciju.

Povijest prethodnih biopsija dojki, osobito ako je otkrivena atipična hiperplazija, povećava rizik za invazivni karcinom. Manji rizik je povezan s proliferativnim promjenama dojke bez atipija. (11,12)

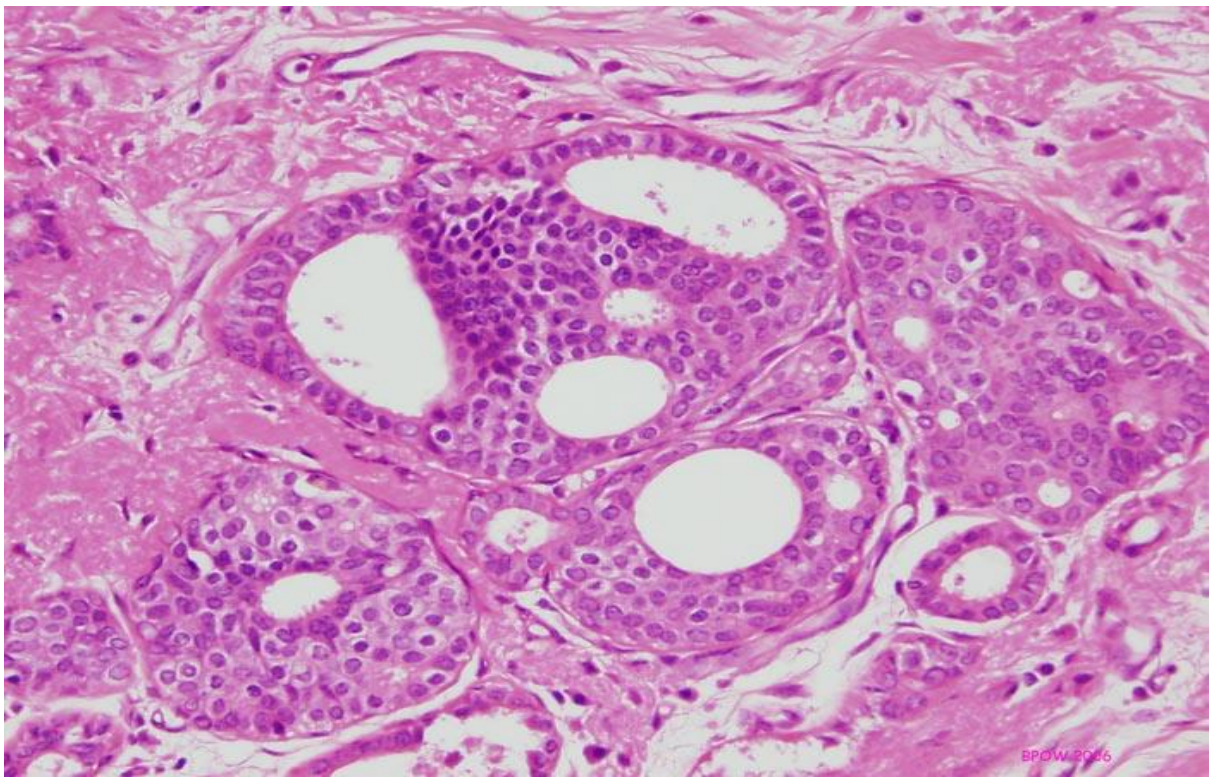
1.4.3. PATOLOGIJA KARCINOMA DOJKE

Više od 95% maligniteta dojki su adenokarcinomi koji se dijele na karcinome *in situ* i invazivne karcinome. Karcinom *in situ* se odnosi na neoplastičnu proliferaciju koja je ograničena na duktuse i lobule bazalnom membranom. Invazivni karcinom je sinonim za karcinom koji je prodrio kroz bazalnu membranu u stromu dojke. U tom slučaju stanice imaju potencijal invadirati u vaskularni sustav, regionalne limfne čvorove i dati udaljene metastaze. (2)

1.4.3.1. DUKTALNI KARCINOM *IN SITU*

Duktalni karcinom *in situ* se sastoji od malignih populacija stanica unutar kanalića dojke bez invazije kroz bazalnu membranu. Mioepitelne stanice su očuvane, iako mogu biti brojčano umanjene. Proliferacija malignih stanica može dovesti do proširenja kanalića, ponekad tvoreći multifokalna žarišta, čak i zapremiti cijeli režanj dojke. Histološki se može podijeliti u 5 podvrsta: komedokarcinom, solidni karcinom, kribriformni tip, papilarni i mikropapilarni tip karcinoma. S obzirom na izgled jezgara, može biti niskog, srednjeg i visokog nuklearnog gradusa. (7)

U većine žena se dijagnosticira slučajno tijekom mamografskih pregleda. Liječenje je kiruško- mastektomijom i ukoliko se pravilno izvede, uspješna je u 95% slučajeva. Recidivi su rijetki i obično su posljedica zaostalih malignih stanica koje nisu uklonjene tijekom operacije. (2)

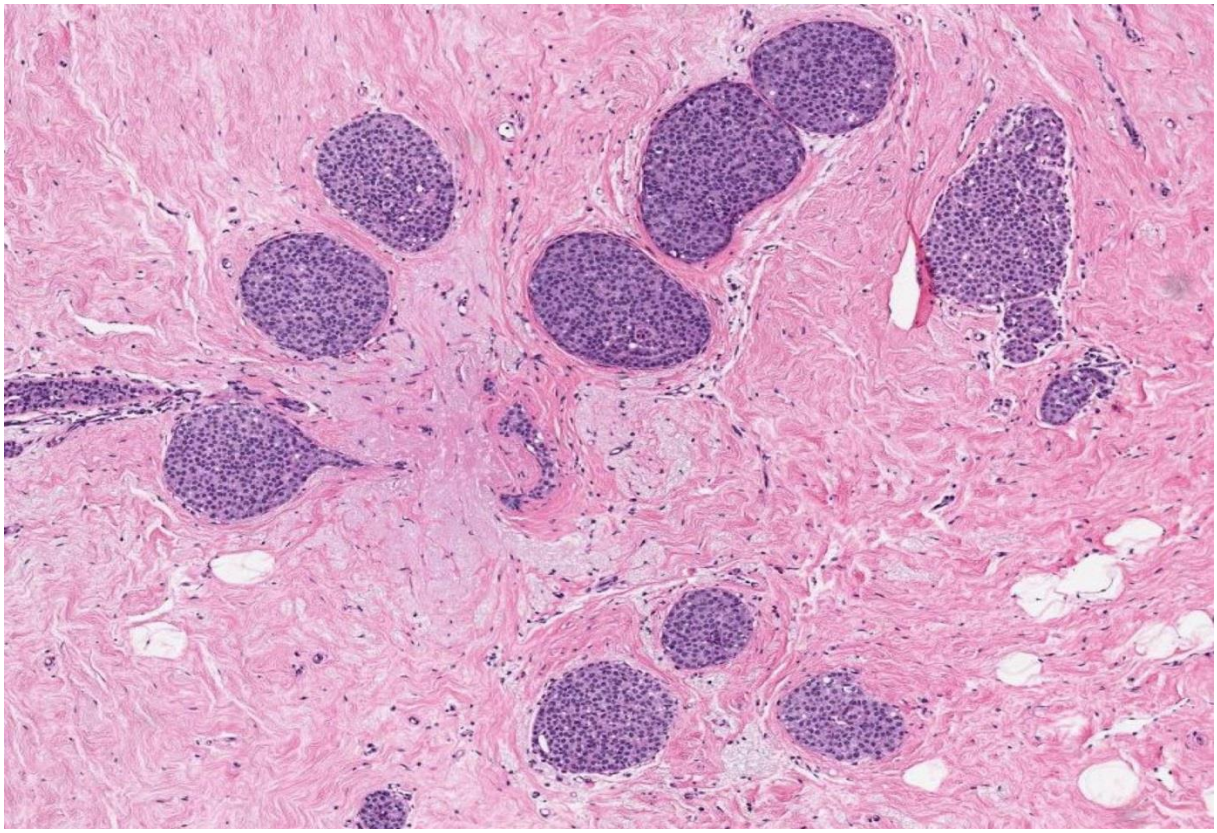


Slika 3. Duktalni karcinom *in situ* niskog gradusa

(preuzeto sa: http://www.breastpathology.info/Carcinoma%20in%20situ.html)

1.4.3.2. LOBULARNI KARCINOM *IN SITU* (LCIS)

Lobularni karcinom in situ je rijedak zloćudni tumor. Dijagnoza se uglavnom postavlja mikroskopskim pregledom bioptičkih uzoraka dojke uzetih iz nekog drugog razloga jer se pri makroskopskom pregledu tkiva ne može uočiti, a na mamografiji se ne prikazuje. Mikroskopski se prikazuju lobuli ispunjeni neoplastičnim stanicama čije su jezgre okrugle i jednolične. Mikrokalcifikati i središnja nekroza se rijetko javljaju u ovom tipu tumora. (2,7)



Slika 4. Lobularni karcinom *in situ*.

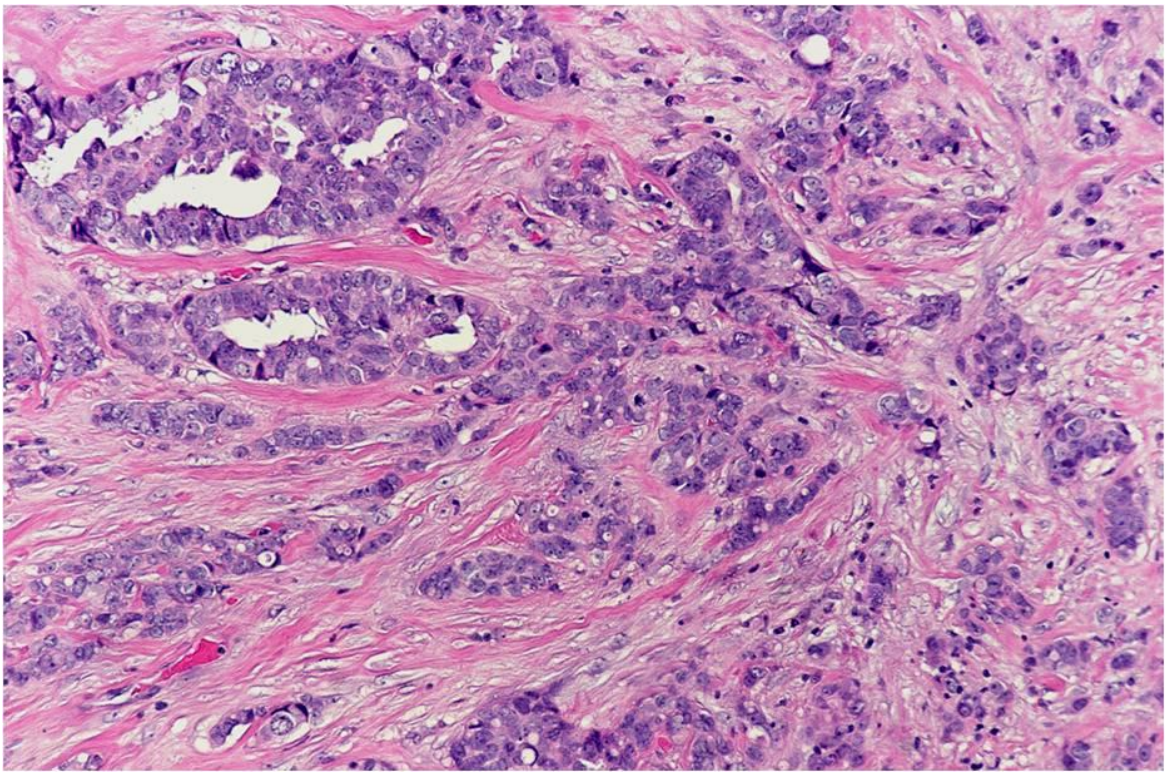
(preuzeto sa: http://www.pathologyoutlines.com/imgau/breastmalignantlcissrivastava01)

1.4.3.3. INVAZIVNI DUKTALNI KARCINOM DOJKE

Invazivni karcinom se gotovo uvijek prezentira kao palpabilna masa. Palpabilni tumori su u 50% slučajeva povezani s matastazama u pazušne limfne čvorove. Veći karcinomi mogu biti pričvršćeni za prsni koš ili uzrokovati razne kožne promjene (edem kože zbog začepljenja

limfnih puteva, uvlačenje bradavice, crvenilo). Makroskopski je većina tumora tvrda i nepravilnih granica. Na presjeku se mogu naći žućkasta područja nekroze i mikrokalcifikati. Mikroskopski su građeni od anaplastičnih stanica koji mogu biti nakupljeni u raznim oblicima poput tračaka, tubula, solidnih ili anastomozirajućih žarišta i žlijezda. Perineuralna i intravaskularna invazija je česta. (2)

Prognoza je loša i ovisi o nizu prognostičkih čimbenika kao što je veličina, histološku tip tumora i status limfnih čvorova. (7)



Slika 5. Invazivni duktalni karcinom dojke

(preuzeto sa: http://pathology.jhu.edu/breast/types.php)

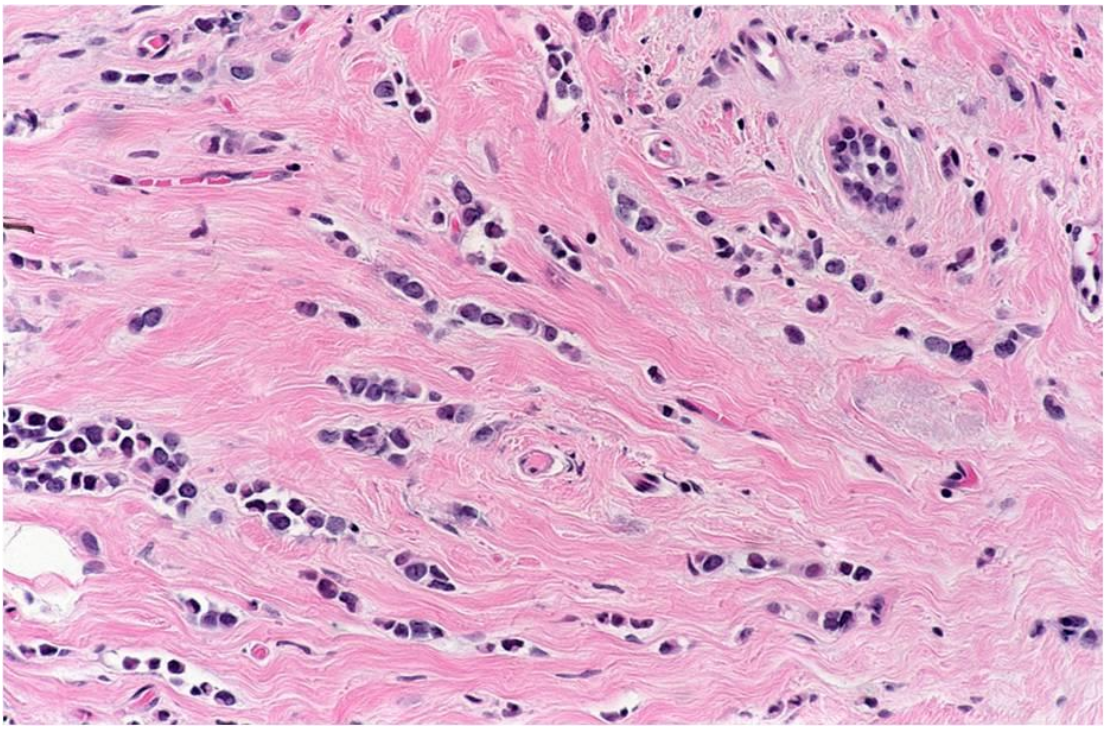
1.4.3.4. LOBULARNI INVAZIVNI KARCINOM DOJKE

Lobularni invazivni karcinom dojke je drugi po učestalosti invazivnih karcinoma dojke. Iako se može pojaviti u bilokojoj životnoj dobi, uglavnom se javlja kod starijih žena. Građen je od stanica malog uniformnog izgleda koje tvore tračke. Tumorske stanice su smještene

koncentrično oko kanalića koji su očuvani dajući karakterističnu mikroskopsku sliku ovog tipa karcinoma.

Postoji sklonost bilateralnom pojavljivanju, ali i multicentričnu pojavnost u istoj dojci.

Lobularni karcinom ima drugačiji uzorak metastaziranja od drugih karcinoma dojke. Javlja se na peritoneumu, u gastrointestinalnom traktu, na jajnicima i maternici zbog čega se ponekad može zamijeniti sa drugim tipovima tumora. (2,7)



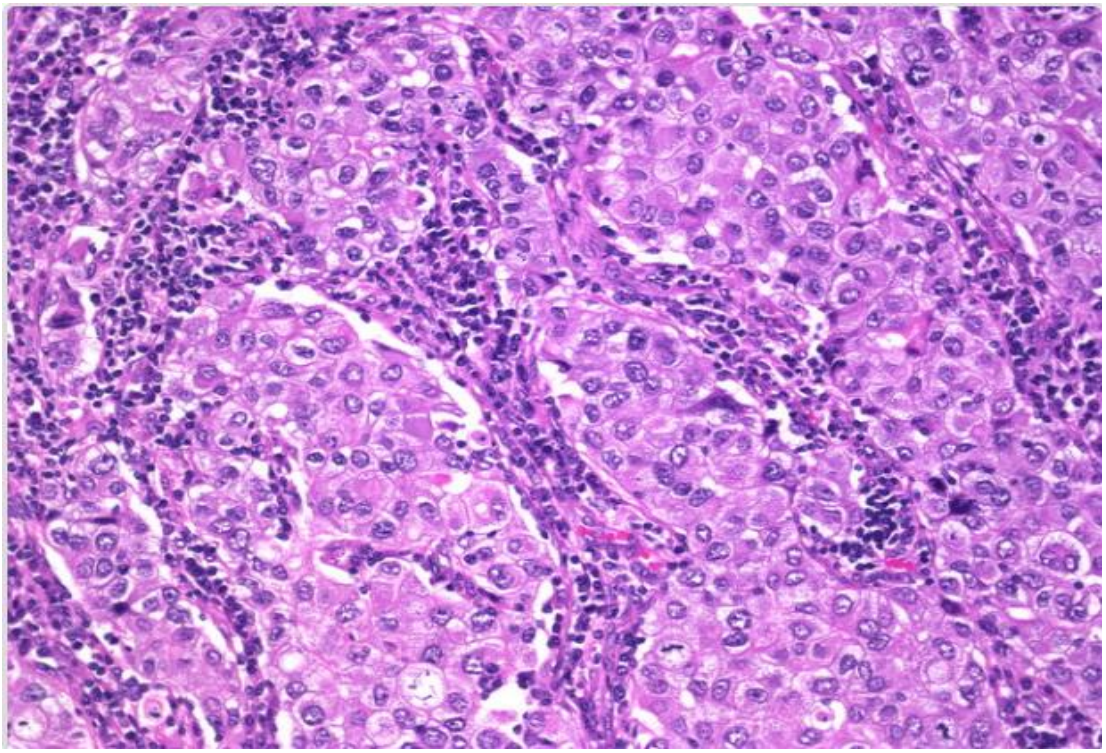
Slika 6. Invazivni lobularni karcinom dojke.

(preuzeto sa: http://pathology.jhu.edu/breast/types.php)

1.4.3.5. MEDULARNI KARCINOM DOJKE

Medularni karcinom dojke se najčešće javlja u šestom desetljeću života i prezentira se kao palpatorno mekana masa u dojci.

Građen je od solidnih žarišta polimorfnih slabodiferenciranih epitelnih stanica. Okružuje ga oskudna vezivna stroma bez žljezdanih struktura sa prisutnom limfocitnom infiltracijom. Prognoza mu je bolja od invazivnog duktalnog i lobularnog karcinoma. (2,7)

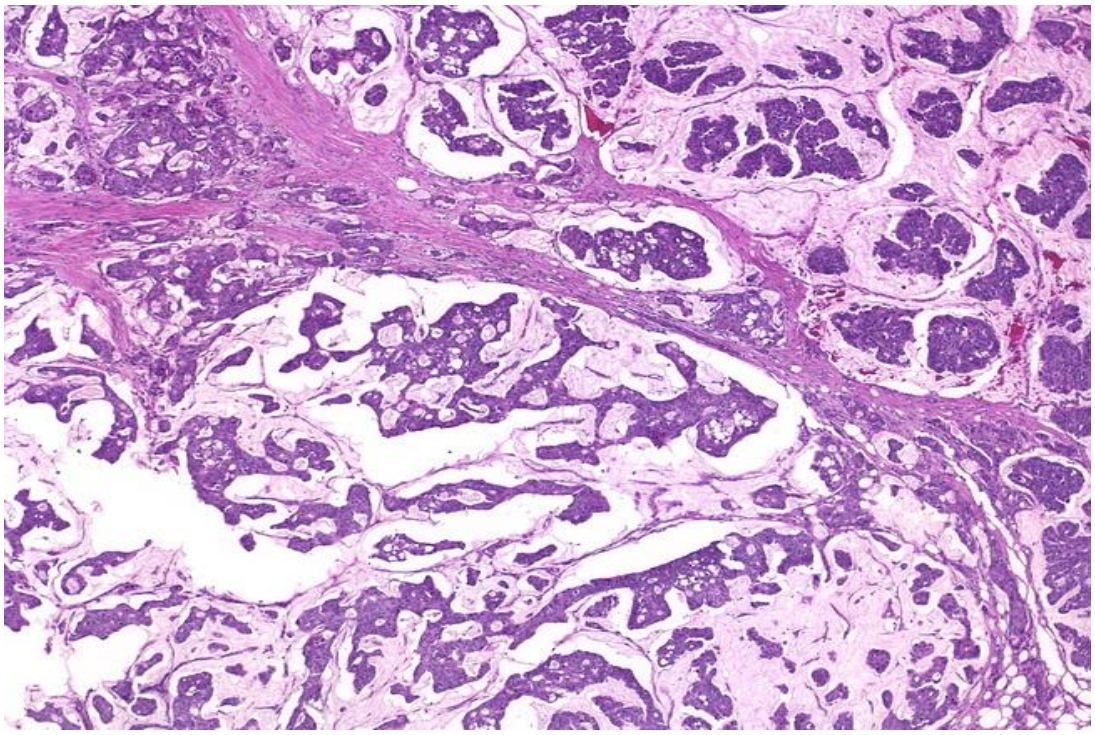


Slika 7. Medularni karcinom dojke.

(preuzeto sa: http://www.webpathology.com/image.asp?case=298&n=19)

1.4.3.6. MUCINOZNI KARCINOM DOJKE

Mucinozni ili koloidni karcinom dojke se pojavljuje kod starijih žena, a obilježen je unutarstaničnom i izvanstaničnom sekrecijom sluzi. Mekane i gumaste je konzistencije i ima izgled sivoplave želatinozne mase. Mikroskopski nalazimo uniformne tumorske stanice unutar plaža sluzi. Metastaze u regionalnim limfnim čvorovima su izrazito rijetke, a desetogodišnje preživljenje izrazito visoko (80-100%). (2,7)



Slika 8. Mucinozni karcinom dojke.

(preuzeto sa: http://www.webpathology.com/image.asp?case=297&n=16)

1.4.3.7. TUBULARNI KARCINOM DOJKE

Tubularni karcinom dojke je rijedak tumor s dobrom prognozom. Obično se otkriva kao mala nepravilna sjena na mamografiji kod žena u kasnim 40-tim godinama. Građen je od dobro oblikovanih tubula zbog čega se nekad pogrešno dijagnosticira kao benigna sklerozirajuća lezija. Međutim, sloj miopitelnih stanica je odsutan čime su tumorske stanice u izravnom kontaktu sa stromom. Uglavnom se nalaze multifokalno u jednoj dojci, no mogu se naći bilateralno. (7)

1.4.3.8. INVAZIVNI PAPILARNI KARCINOM

Invazivni papilarni ili mikropapilarni karcinomi su izrazito rijetki i predstavljaju manje od 1% invazivnih karcinoma dojke. Građen je od papila koje se projiciraju u lumen kanalića i

invazivne komponente koja urasta u okolno tkivo. U kliničkoj slici se nalazi krvarenje iz bradavice. Česte su metastaze u limfne čvorove zbog čega je prognoza jako loša. (2)

1.4.3.9. PAGETOVA BOLEST BRADAVICE

Pagetova bolest bradavice je poseban tip duktalnog karcinoma. Započinje u glavnim izvodnim kanalićima i širi se prema koži. Karakterističan je izgled bradavice na kojoj se javljaju promjene nalik na ekcem. Mikroskopski se nalaze velike tumorske stanice hiperkromatskih jezgara i svijetle citoplazme nazvane Pagetove stanice. Prognoza je loša upravo zbog zahvaćenosti kože. (2,7)

1.4.4. MOLEKULSKI PODTIPOVI KARCINOMA DOJKE

Rak dojke je već odavno prepoznata kao heterogena bolest. Poznato je, također, da postoji mnogo faktora koji će utjecati na prognozu i terapiju kao što je starost, paritet, obiteljska anamneza i drugo.

U posljednje vrijeme je prepoznata važnost molekularn biologije karcinoma dojke. Danas se imunohistokemijska tehnologija koristi za mjerenje ekspresije receptora estrogena (ER), progesterona (PR) ili pak humanog epidermalnog faktora rasta (HER2).

Rak dojke je klasificiran u nekoliko podtipova ovisno o prisutstvu ili odsutstvu ovih receptora. Razlikujemo tumore luminalnog tipa, koji ispoljavaju ER i PR, no ne i HER2. Ova skupina je dobro diferencirana i prognostički je povoljna. Ukoliko je tumor pozitivan na HER2, a nedostaju mu ER i PR, prognoza je lošija,no ovi tumori ipak vrlo dobro reagiraju na ciljanu terapiju i kemoterapiju. Posljednji podtip karcinoma dojke ne eksprimira ni jedan od navedenih receptora te se klasificira kao trostruko negativni. Prognoza im je izrazito

nepovoljna, slabo su diferencirani i klinički ishod je loš zbog slabog odgovora na danas dostupne terapije. (13)

1.4.5. KLASIFIKACIJA IZ ST. GALLENA 2013. GODINE

St. Gallen je međunarodna konferencija koja se bavila klasifikacijom karcinoma dojke i njihovih molekulskih podtipova te odgovor na terapiju. Usuglašena je klasifikacija temeljena na imunohistokemijskim metodama umjesto molekularnih zbog veće dostupnosti laboratorija u svijetu.

Tablica 1. Klasifikacija podtipova karcinoma dojke dokazanih imunohistokemijom (prilagođeno prema klasifikaciji iz St. Gallena, 2013.)

MOLEKULSKI PODTIP	**EKSPRESIJA RECEPTORA**
Luminalni A	ER>1% ili PR (>20%)
	HER2 negativan
	Ki-67 <20%
Luminalni B (HER2 negativan)	ER>1%, PR<20% ili Ki-67 >20%
	HER2 negativan
Luminalni B (HER2 pozitivan)	ER>1%, PR<20% ili Ki-67 >20%
	HER2 pozitivan
HER2 pozitivan	ER/PR negativan
	HER2 pozitivan
Trostruko negativan (duktalni)	ER,PR negativan
	HER2 negativan

Određivanje podtipova karcinoma dojke predstavlja jedan od faktora u određivanju prognoze bolesti i služe kao baza za ciljanu terapiju karcinoma dojke. Kombiniranjem prognostičkih čimbenika prisutnih u pacijenata i imunohistokemijskom analizom tkiva karcinoma dojke, može se sa većom sigurnošću predvidjeti ishod bolesti individualno u bolesnika.

Unatoč znanju o prognostičkim čimbenicima (koji sada uključuju i molekulski podtip karcinoma dojke), postoje pacijenti sa nepredvidivim tijekom bolesti.

Usprkos tome, ova klasifikacija predstavlja važan novi alat kojim se liječnici služe kako bi prepoznali pacijente koji mogu primati ciljanu terapiju, a koji, nažalost, moraju na liječenje kemoterapijom. (14)

2. SVRHA RADA

Rak dojke je najčešće maligno oboljenje žena, a nastaje malignom alteracijom žljezdanih stanica dojke. Rijetko se javlja prije 20-te godine života, a najviša incidencija je u žena od 55-te do 70-te godine. Za predviđanje tijeka i ishoda bolesti, uz tradicionalne prognostičke čimbenike, danas se koriste i molekularne metode određivanja tipa karcinoma dojke i, prema dobivenim rezultatima, određuje terapija. (15) Jedan od novijih molekularnih markera karcinoma dojke su kalpaini. Kalpaini su proteolitički enzimi koji dokazano imaju različite važne uloge u rastu i regulaciji organizma. Prepoznata je njegova važnost u procesima staničnog ciklusa, migraciji, apoptozi i drugima. Od otkrića enzima 50-tih godina prošlog stoljeća do danas su istražene i dokazane njegove izoforme, njihov endogeni inhibitor kalpastatin, te njihova impliciranost u fiziološkim i patološkim procesima. (16)

Ovaj rad je pokušaj da se sakupe i objasne sva dosadašnja saznanja, koja su opširna i nedovoljno istražena, o kalpainu i njegovoj ulozi u karcinomu dojke. Uključuje njegovu povezanost s progresijom i posljedično prognozom bolesti, ali i terapijom na koju, na osnovi dosadašnjih saznanja, itekako djeluje.

3. PREGLED LITERATURE NA ZADANU TEMU

Kalpainski sustav je dio intracelularnih kalcij-ovisnih proteaza čija je funkcija šarolika, a obuhvaća remodeliranje citoskeleta, stanično preživljenje i apoptozu. Abnormalna aktivacija i ekspresija, kao i genski polimorfizmi različitih članova obitelji kalpaina je povezano s patologijom i stadijima različitih bolesti kao što su karcinomi, neurodegeneracija, mišićna distrofija, dijabetes i drugi. (16)

3.1. STRUKTURA KALPAINA

Kalpainski enzimski sustav sadrži brojne izoforme, no najpoznatiji su mili (m-) i mikro (μ-) kalpain. Oboje su heterodimeri različitih 80kDa velikih katalitičkih podjedinica, te male zajedničke 28kDa regulatorne podjedinice.

Za indukciju aktivnosti potrebne su im različite koncentracije kalcijevih iona. Tako je za postizanje polovice od maksimalne aktivnosti velike podjedinice μ-kalpaina potrebna koncentracija u mikromolima (3-50 μM), a m-kalpaina u milimolima (0,4-0,8mM).

Smješteni su u citosolu i djelomično povezani s drugim substaničnim strukturama, kao na primjer miofibrilima u skeletnim mišićima, citoskeletom u nemišićnim stanicama. Maksimalna aktivnost se očituje kod neutralnog pH (7,5).

Sastoji se od šest domena različitih funkcija. Velika podjedinica ima četiri domene (I-IV), a mala podjedinica dvije (V,VI).

Domenu I katalitičke podjedinice čini N-terminalni kraj. Slijed aminokiselina nije homologan s nijednim dosada poznatim peptidnim slijedom. Sadrži autokatalitičko mjesto čija je točna funkcija nepoznata.

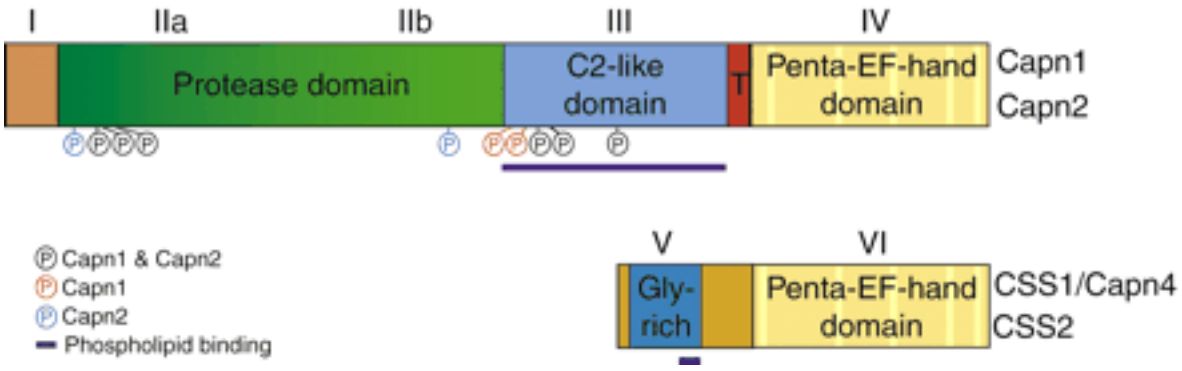
Domenu II ili proteolitičku domenu čine dvije poddomene IIa i IIb. Sadrže Cys, His i Asn ostatke koji tvore aktivno mjesto enzima i zajedno čine katalitičku trijadu koja je karakteristična za cisteinske proteaze.

Vezu između katalitičkih domena i domene za vezanje iona kalcija (IV) čini domena III. Smatra se da je, prema dosadašnjim spoznajama, uključena u vezivanje fosfolipida kako bi mogla sudjelovati u interakciji s membranom stanice. Čini se da djelovanjem u elektrostatskim interakcijama sudjeluje u regulaciji aktivnosti kalpaina.

Domena IV ili domena za vezivanje Ca^{2+} iona sadrži EF-hand strukture, odnosno vezna mjesta za kalcij. Postoji pet EF struktura (EF1-5) u velikoj katalitičkoj podjedinici i to od njezina N-terminalnog do C-terminalnog kraja koji su važni za vezivanje kalcijevih iona. Posljednja,odnosno peta EF struktura sudjeluje u procesu dimerizacije velike i male podjedinice.

N-terminalni kraj male regulatorne podjedinice čini domenu V. Često se opisuje kao hidrofobna domena jer je bogata glicinskim aminokiselinskim ostacima.

Domena VI je homolog domeni IV jer sadrži vezno mjesto za kalcij te pet EF struktura. Poveznicu između C-terminalne domene VI i domene V čini poliprolin. (16,17)



Slika 9. Shematski prikaz strukture domena kalpaina.

(preuzeto sa: http://jcs.biologists.org/content/118/17/3829)

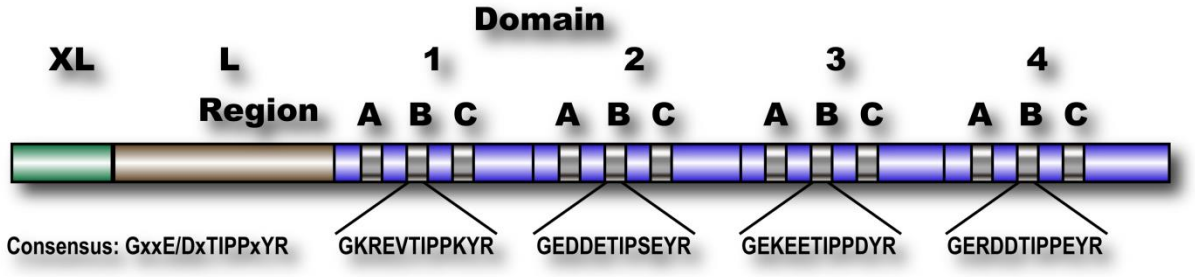
3.2. KALPASTATIN

Kalpastatin je endogeni inhibitor kalpainske aktivnosti. Neosjetljiv je na toplinu (do 100^{o}C) te otporan na denaturirajuće agense (urea, trikloroctena kiselina). Po građi je monomer, polipeptid spiralnog oblika. Nalazi se u istom staničnom području kao i kalpain i njegov je specifični kompetitivni inhibitor. Kalpastatin može reverzibilno inhibiratu do četiri kalpainska heterodimera preko četiri ponavljajuće inhibitorne domene (I-IV). Sadrži N-terminalnu domenu nazvanu domena II koja nema inhibitorsku aktivnost.

Proučavanjem slijeda aminokiselina u kalpastatinu do danas su otkrivene tri poddomene (A,B,C). Najučinkovitija inhibitorska domena je domena I, zatim domene IV, III i najmanje učinkovita domena II. Učinkovitija je inhibicija mikro nego mili-kalpaina.

Slijedovi aminokiselina svake domene su važni za inhibitornu aktivnost, jer ako mutiraju samo dvije aminokiseline u jednom od ovih područja, potpuno se poništava inhibitorna aktivnost kalpastatina. Isto tako, ukoliko manjka poddomena B, nema aktivnosti.

Iz ovoga se da zaključiti da je jedino kompletna molekula kalpastatina učinkovit inhibitor.(18)



Slika 10. Shematski prikaz strukture domena kalpastatina

(preuzeto sa: http://calpain.org/overview.rb?cls=calpastatin)

3.3. AKTIVACIJA KALPAINA

Istraživanja koja su do sada izvedena, uglavnom na m- ili μ-kalpainu, razjasnili su mehanizam aktivacije na mikroskopskoj razini. Kalpain postoji u citosolu kao neaktivni enzim i prelazi u membranu potaknut povećanjem stanične razine Ca^{2+}. U membrani se aktivira u prisutnosti kalcija i fosfolipida.Autokatalitička hidroliza domene I se odvija tijekom aktivacije,a posljedica je disocijacija regulacijske i katalitičke podjedinice. Aktivirani kalpain hidrolizira proteine na membrani ili u citosolu. (19)

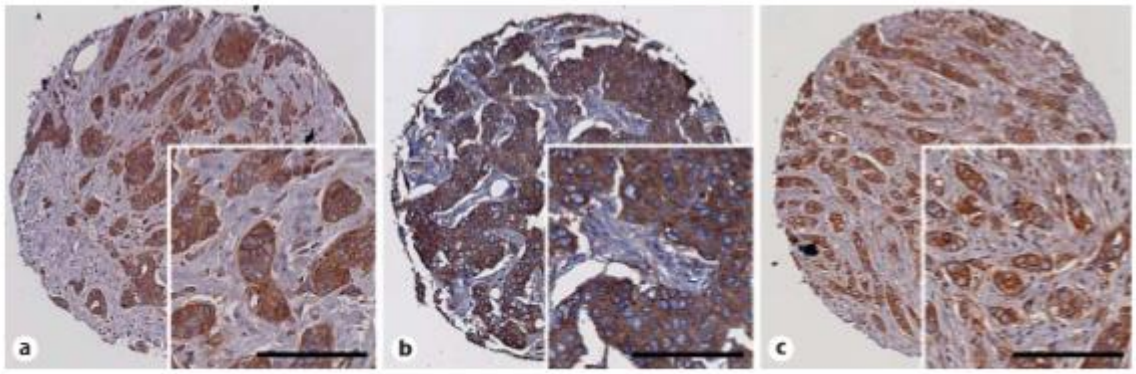
U odsutstvu Ca^{2+}, dvije proteazne poddomene IIa i IIb su odvojene strukturnim ograničenjima nametnutim interakcijom domena. Strukturne promjene uzrokovane kalcijem, koje skidaju ograničenja, su preduvjet za aktivaciju odnosno da se formira funkcionalna katalitička jedinica.(20)

Nedavne strukturne analize su otkrile aktivacijski mehanizam induciran kalcijem na molekularnoj razini. Postoje najmanje 3 različita mjesta za vezanje kalcija u m-kalpainu, dvije kalmodulinu slične podjedinice IV i VI, kiselinska petlja u C2 sličnoj domeni i proteazna domena II. Predloženi mehanizam za regulaciju m-kalpaina putem Ca^{2+} obuhvaća dvije faze. Prva faza je oslobađanje ograničenja koje nameću interakcije domena. Vezanje Ca^{2+} na domene IV, VI i III oslobađa domenu I od VI i domenu II od III i dovodi do disocijacije regulacijske podjedinice od katalitičke. Druga faza je preraspodjela rascjepa aktivnog mjesta uzrokovana vezanjem dva iona kalcija na domenu proteaze (jedan na IIa, jedan na IIb poddomenu).Aktivacija druge faze se događa tek nakon oslobađanja ograničenja u prvoj fazi.(21)

Aktivnost kalpaina je čvrsto regulirana prostorno i vremenski. Disregulacija kalpainske aktivnosti uzrokuje pretjeranu razgradnju ili akumulaciju postojećih staničnih proteina što rezultira ozbiljnim staničnim oštećenjem i patološkim stanjima. (22)

3.4. ULOGA KALPAINA U KARCINOMU DOJKE

Kalpaini su u današnje vrijeme pronašli svoje mjesto u patologiji kao prognostički pokazatelji bolesti i faktori odgovora na terapiju. Brojna *in vivo* i *in vitro* istraživanja su povezala mili- i mikro-kalpain s mnogim agresivnim fenotipovima karcinoma dojke. (23) Ekspresija kalpaina-1, kalpaina-2, kalpaina-9 i kalpastatina je istraživana u velikog broja pacijentica sa tumorom dojke. Imunohistokemijskom analizom je otkriveno da većina stanica karcinoma eksprimira kalpain-1,kalpain-2 i kalpastatin. (24,25) Postoji širok spektar protutijela koji su dostupni za imunohistokemiju koji uključuju one specifične za izoforme kalpaina. Iako postoje i protutijela za detekciju kalpastatina i njegovih izoformi, nisu uključena u komercijalne kitove.



Slika 11. Prikaz imunohistokemijskog bojenja tkiva karcinoma dojke. Slika a prikazuje ekspresiju kalpaina-1, slika b prikazuje ekspresiju kalpaina-2, a slika c prikazuje ekspresiju kalpastatina u tumorskom tkivu dojke. (preuzeto sa: http://www.oncotarget.com/index.php?journal=oncotarget&pag=view&path[]=10066)

Kalpainski sustav je, uz fenotipske karakteristike karcinoma dojke povezan i sa prognostičkim faktorima. Povezan je sa limfovaskularnom invazijom *in vivo* kod kohorti pacijentica i *in vitro*. Limfovaskularna invazija je važan početni korak u kaskadi metastaziranja, a karcinom dojke se prvenstveno širi limfnim pa tek onda vaskularnim putem. Kalpain-2 aktivira kaskadu

proteina čime posreduje formaciju invadopodija,dok aktivnost kalpastatina,blokirajući ovaj mehanizam kalpaina,pruža protekciju protiv invadiranja tumorskih stanica u limfne žile. U tumorima je ekspresija kalpastatina reducirana u pacijentica sa invazijom u limfne žile,čime se dokazuje ovakav mehanizam metastaziranja. Postoje *in vitro* istraživanja koja pokazuju da se inhibicijom kalpaina smanjuje ekspresija mRNA određenih gena koji su povezani sa invazijom. (26,27)

Brojna istraživanja su opisala povezanost između kalpaina-1, kalpaina-2, kalpastatina i tradicionalnih prognostičkih varijabli. Injiciranjem inaktiviranog gena za kalpain-2 mišjih stanica karcinoma dojke u njihovo masno tkivo rezultiralo je smanjenjem rasta tumora i pojačavanjem ekspresije tumor supresora $p27^{kip1}$.(23)Isto tako je visoka ekspresija kalpastatina povezana sa starijim pacijenticama, tumorima niskog gradusa i estrogen i progesteron pozivnim tumorima, dok je visoka ekspresija kalpaina-1 dala lošiju prognozu.(24) Niska ekspresija kalpaina 9 je također dovedena u vezu sa starijim pacijenticama, tumorima nižeg gradusa i općenito boljom prognozom.(25)

Kalpaini su povezani sa progresijom karcinoma dojke i smatraju se potencijalnom metom u liječenju karcinoma dojke. Standardno liječenje uključuje operacijski zahvat, adjuvantnu sistemnu terapiju (koja uključuje hormonsku terapiju, citotoksičnu terapiju i ciljane odnosno biološke terapije) i adjuvantnu radioterapiju. Kalpain je uključen u odgovor na kemoterapiju u brojnim različitim tipovima tumora, ali postoji jako malo informacija koje povezuju kalpainski sustav i odgovor na kemoterapiju.(28) Postoje,međutim, čvršći dokazi da je kalpain uključen u odgovoru na terapiju trastuzumabom u bolesnica sa karcinomom dojke.

Trastuzumab je HER2 ciljano monoklonsko protutijelo koje se koristi za liječenje određenih HER2 pozitivnih karcinoma dojke, i provode se daljnja istraživanja za njegovu uporabu kod drugih vrsta tumora koji eksprimiraju HER2. Dokazalo se da postoji povezanost između ekspresije kalpaina-1 i odgovora na trastuzumab nakon adjuvantne kemoterapije. Istraživanje

je provedeno na 93 pacijentice kojima se imunohistokemijskim metodama dokazala ekspresija kalpaina-1, a koje su prije toga liječene kiruškim zahvatom i adjuvantnom kemoterapijom nakon čega je uslijedio tretman trastuzumabom.(29) Rezultati su pokazali da je visoka ekspresija kalpaina-1 povezana sa ranijim metastaziranjem u limfne čvorove i nepovoljnijim ishodom preživljenja. Važno je napomenuti da je povezanost između ekspresivnosti kalpaina i preživljavanja ostala značajna u analizi kada su uključene patološke i terapijske varijable. Ovi rezultati su replicirani u proširenoj skupini i u neovisnoj grupi pacijenata.

U HER2 pozitivnim stanicama raka dojke izloženim trastuzumabu, kalpain-4 potiče aktivaciju i fosforilaciju kako bi se osiguralo preživljenje tumorskih stanica što je rezultiralo gubitkom odgovora ili razvojem rezistencije na terapiju. Supresijom kalpaina-4 ometa se fosforilacija preko HER2 i time preživljavanje stanica u prisutstvu trastuzumaba. Ovaj model podupire mogućnost da se inhibicija rasta putem trastuzumaba može pojačati, a razvoj otporosti barem djelomično izbjeći simultanom supresijom kalpaina-4.

Suzbijanje aktivnosti kalpaina-1 također je povezano sa pozitivnim odgovorom trastuzumaba u HER2 pozitivnim staničnim linijama raka dojke.(30,31) Kako kalpainski sustav može regulirati odgovor na trastuzumab još uvijek nije jasno, ali dokazi ukazuju da je kalpain-posredovano cijepanje IκBα uključeno u HER2 induciranoj aktivaciji NF-κB i obrnuto, da ekspresija HER2 blokira aktivnost kalpaina pomoću regulacije kalpastatina.(32)

4. RASPRAVA

Karcinom dojke je zloćudna bolest za čije je uspješno liječenje važna pravovremena odnosno rana dijagnoza. Problemi koji se javljaju u liječenju je kako, na osnovu kliničke manifestacije i morfologije tumora, predvidjeti njegovo daljnje ponašanje. Danas je poznato mnogo tradicionalnih prognostičkih čimbenika koji predstavljaju važan faktor u donošenju odluke o daljnjem liječenju. (33)

U zadnje vrijeme se sve više istražuje uloga kalpaina u karcinomu dojke. Danas postoji velik broj istraživanja koji dokazuju da kalpain doista ima ulogu u transformaciji, invaziji i neovaskularizaciji tumora dojke. No isto tako je dokazana njegova impliciranost u terapiji istih.

Tijekom patološkog procesa maligne transformacije stanica dojke, onkogeni proteini induciraju gubitak stanične adhezije, poremećaje aktinskog citoskeleta i deregulaciju staničnog ciklusa. Postoji nekoliko istraživanja koja su dokazala ulogu sveprisutnih kalpaina tijekom maligne transformacije. (34) Dokazano je da je ravnoteža kalpainskog sustava modificirana onkoproteinom v-Src i da on inducira pojačanu ekspresiju kalpaina-2, uzrokuje pojačanu razgradnju endogenog inhibitora kalpaina- kalpastatina, što dodatno pojačava aktivnost kalpaina. Aktivacijom kalpaina dolazi do povećane proteolitičke aktivnosti koja je odgovorna za smanjenu adheziju i povećanu migraciju u transformiranim stanicama karcinoma dojke, osobito kroz proces degradacije proteina citoskeleta. (35)

Nadalje, aktivnost kalpaina utječe na invazivnost tumora, a djeluje tako da regulira i pokretljivost stanica i preoblikuje odnosno razgrađuje komponente staničnog matriksa čime se olakšava prodor transformiranih stanica.(36) Djelovanje kalpainskog sustava je istraženo i u drugim tumorskim stanicama osim u stanicama karcinoma dojke, no sva istraživanja podržavaju isti zaključak, a to je da je aktivnost kalpaina potrebna za invaziju tumora, a snažna aktivacija kalpaina povećava invazivnost. Iz tog razloga, aktivnost kalpaina može biti

ciljana od strane inhibitora kako bi se smanjila invazivnost tumorskih stanica i time blokirala njihova diseminacija. (37,38)

Kalpaini su izrazito uključeni u angiogenezu, osobito reguliranju migracije i preživljavanju endotelnih stanica, proces posredovan čimbenikom rasta krvnih žila (VEGF).(39) VEGF potiče migraciju endotelnih stanica inducirajući povećanje ekspresije i aktivnosti m-kalpaina. (40) Inhibicija kalpaina sa sintetskim inhibitorima ili prekomjerna ekspresija kalpastatina blokira učinke VEGF-a, te se inhibicija kalpaina može upotrijebiti za blokiranje neovaskularizacije. Međutim, ova inhibicija može biti problematična i uzrokovati nuspojave. Iako je aktivnost m-kalpaina potrebna za produktivnu migraciju endotelnih stanica, aktivacija μ- kalpaina u stanici dovodi do apoptoze i regresije drugih krvnih žila. (41)

Oprečno svemu navedenome, gdje ekspresija i aktivacija kalpaina dovodi do nepovoljnih procesa, čime i do nepovoljnih ishoda, njegova aktivnost tijekom terapije karcinoma dojke je itekako poželjna. Poznato je da su kalpaini uključeni u apoptozu stanica raka dojke tretiranih kemoterapijom. Primjer je kemoterapija genisteinom. Genistein povećava unutarstaničnu koncentraciju kalcija što dovodi do aktivacije μ- kalpaina.(42) Ovaj kalpain cijepa i aktivira kaspazu 12 tako izazivajući apoptozu stanica karcinoma dojke.(43) Isto tako su nedavna istraživanja pokazala sinergistički učinak kalpaina i terapije trastuzumabom. Naime, aktivnost kalpaina modulira osjetljivost stanice HER2 pozitivnih karcinoma dojke na trastuzumab. No, za razliku od mehanizma kojim se postiže apoptoza ovisna o kalpainu tijekom terapije sa klasičnim kemoterapeuticima, trastuzumab djeluje tako da regulira dva procesa. S jedne strane kalpaini cijepaju HER2, što dovodi do inhibicije tog onkogena, dok s druge strane izaziva aktivaciju tumor supresora, PTEN-a, čime se inhibira preživljenje stanica i povećava osjetljivost tumorskih stanica na kemoterapijski tretman. Ukratko, aktivnost sveprisutnih kalpaina je potrebna za učinkovitost nekoliko tretmana protiv raka dojke jer molekule koje se koriste u kemoterapiji induciraju apoptozu tumorskih stanica, čime se povećava

unutarstanična koncentracija kalcija i posljedično aktivira kalpainski sustav koji potiče finalne efektore apoptoze odnosno kaspaze. (44)

Zbog svega navedenog, kalpaini bi se mogli smatrati izvrsnim metama za liječenje raka dojke, međutim njegova uključenost u suprotne procese je problematična. Inhibicija kalpainske aktivnosti bila bi učinkovit način blokiranja razvoja tumora dojki, blokiranjem transformacije i proliferacije malignih stanica kao i vaskularizacije tumora. Još važnije, spriječilo bi se stvaranje metastaza blokiranjem migracije tumorskih stanica i procesa invazije. Međutim, inhibicijom ovog enzimskog sustava, kada je induciran kemoterapijom, bi se sprječila aktivacija kaspaza i inicijacija apoptoze tumorskih stanica. To bi uvelike ograničilo učinke kemoterapije i povećalo otpornost malignih stanica na liječenje. Ciljana inhibicija sveprisutnih kalpaina za liječenje raka dojke trebala bi tako biti vremenski ograničena i ne bi se trebala koristiti tijekom kemoterapijskih režima. Umjesto toga treba razmisliti o inhibiciji kalpaina kao kroničnoj terapiji održavanja, dok bi kemoterapija kalpainskim agonistima bila adjuvantna da potiče ubijanje i uzrokuje urušavanje neovaskularizacije tumora.(45)

5. ZAKLJUČAK

Ometanje aktivnosti kalpaina sa specifičnim inhibitorima moglo bi biti novi pristup u ograničavanju razvoja primarnih tumora i stvaranja metastaza tako što se inhibira migracija tumorskih stanica i invazija, što omogućava diseminaciju kao i neovaskularizaciju tumora, što zauzvrat omogućuje ekspanziju. Međutim, takvi lijekovi mogu ometati tretmane protiv raka, budući da sveprisutni kalpaini igraju presudnu ulogu u apoptozi izazvanoj kemoterapijom. Zbog tih razloga, lijekovi koji ciljaju kalpain bi se trebali koristiti selektivno kako bi se izbjegle interferencije s drugim tretmanima i fiziološkim procesima. Konačno, u vezi s ostalim članovima kalpainske obitelji i njihovim potencijalnim implikacijama u razvoju raka, potrebna su daljnja istraživanja prije nego što razmotrimo tretmane koji ciljaju na njihovu aktivnost.

6. SAŽETAK

Rak dojke je heterogena bolest obilježena morfološkom raznolikošću i različitim biološkim ponašanjem koje utječe na progresiju same bolesti, a time i na terapeutsku otpornost.

Kalpainski sustav je važna obitelj proteolitičkih enzima koja igra ulogu u velikom broju osnovnih staničnih aktivnosti uključujući preživljavanje stanica, apoptozu i migraciju. Promijenjena aktivnost i ekspresija članova kalpainske obitelji uključeni su u brojnim bolestima, uključujući rak. Prikupljene informacije o karcinomu dojke su pokazale da kalpain igra važnu ulogu u progresiji bolesti, prognozi i odgovoru na liječenje. Trenutna istraživanja o karcinomu dojke upućuju na to da određivanje ekspresije i aktivnosti kalpaina može imati kliničku korist pri određivanju prognoze pacijenata i također se može pokazati korisnim pri odabiru pacijenata za personaliziranu terapiju. No, i dalje su potrebna istraživanja kako bi se razjasnila uloga kalpaina i kalpainskog enzimskog sustava u karcinomu dojke i karcinomima općenito.

Ključne riječi: kalpain, karcinom dojke, prognoza, liječenje

7. SUMMARY

Breast cancer is a heterogeneous disease that is characterized by diversity of morphology and many biological behaviors that influence the progression of the disease and thus therapeutic resistance.

The calpain system is a family of proteolytic enzymes that has a role in a number of basic cellular activities and it includes survival of cells, migration and apoptosis. Changed expression and activity of members of the calpain family are involved in various diseases, including cancer. The information collected on breast cancer has demonstrated that calpain has a significant role in progression and prognosis of disease and response to treatment. Present breast cancer research indicates that the assesment of expression and activity of calpain can have a clinical benefit in assesing patient prognosis and can also be useful in selecting patients for personalized therapy. Nevertheless, research is still required to clarify the role of the calpain enzyme system regarding breast cancer and carcinoma in general.

Keywords: calpain, breast cancer, prognosis, treatment

8. LITERATURA

1. Thomas W.Sadler.Langmanova Medicinska embriologija.Prijevod 7.američkog izdanja.Školska knjiga,Zagreb,1996: 371-372

2. Vinay Kumar,Ramzi S. Cotran, Stanley Robbins.Osnove patologije.Prijevod 5. američkog izdanja.Školska knjiga,Zagreb,1994: 631-641.

3. Zdenko Križan.Kompendij anatomije čovjeka III. dio,Pregled građe grudi,trbuha,zdjelice,noge i ruke.3.izdanje.Školska knjiga,Zagreb 1997: 4-5.

4. Jelena Krmpotić-Nemanić,Ana Marušić.Anatomija čovjeka.2.,korigirano izdanje.Medicinska naklada,Zagreb,2007: 593-595.

5. Luiz Carlos Junqueira i Jose Carneiro.Osnove histologije.Prijevod 10.američkog izdanja.Školska knjiga,Zagreb,2005: 464-467.

6. William J. Krause.Krause's essential human histology for medical students. Universal-Publishers.2005:253-255

7. Ivan Damjanov,Stanko Jukić i Marin Nola.Patologija.2. izdanje.Medicinska naklada,Zagreb,2008: 599-604.

8. Forouzanfar MH, Foreman KJ, Delossantos AM, Lozano R, Lopez AD, Murray CJL, Naghavi M. Breast and cervical cancer in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. Lancet 2011;378:1461–1484

9. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman, D. Global Cancer Statistics. CA Cancer J Clin 2011;61:69–90.

10. Ghoncheh M., Pournamdar Z., Salehiniya H. Incidence and Mortality and Epidemiology of Breast Cancer in the World. Asian Pac J Cancer Prev, 2016;17:43-6

11. C. M. Mansfield: A review of the etiology of breast cancer. J Natl Med Assoc. 1993;85(3):217–221.

12. Kuller LH: The etiology of breast cancer--from epidemiology to prevention.Public Health Rev. 1995;23(2):157-213.

13. Perou CM, Sorlie T, Elsen MB. Molecular portraits of human breast tumours. Nature 2000; 406:747-752.

14. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS i sur. Strategies for subtypes- dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer. Ann Oncol 2011;22:1736-1747

15. Mirko Šamija,Eduard Vrdoljak,Zdenko Krajina.Klinička onkologija.Medicinska naklada,Zagreb,2006:291-292.

16. Croall DE, DeMartino GN: Calcium-activated neutral protease (calpain) system: structure, function, and regulation. Physiol Rev 1991;71:813-847

17. Goll DE, Thompson VF, Li H, Wei W, Cong J: The calpain system. Physiol Rev 2003; 83:731–801.

18. Hanna RA, Campbell RL, Davies PL: Calcium-bound structure of calpain and its mechanism of inhibition by calpastatin. Nature 2008;456:409-412

19. Suzuki K, Sorimachi H, Yoshizawa T, Kimbara K, Ishiura S: Calpain: novel family members, activation and physiological function. Biol Chem376 :523 –529,1995

20. Reverter D, Strobl S, Fernandez-Catalan C, Sorimachi H, Suzuki K, Bode W: Structural basis for possible calcium-induced activation mechanism of calpains. Biol Chem382 :753 – 766,2001

21. Moldveanu T, Hosfield CM, Lim D, Elce JS, Jia Z, Davies PL: A Ca^{2+} switch align the active site of calpain.Cell108 :649 –660,2002

22. Shiraha H, Glading A, Chou J, Jia Z, Wells A: Activation of m-calpain (calpain II) by epidermal growth factor is limited by protein kinase A phosphorylation of m-calpain. Mol Cell Biol22 :2716 –2727,2002

23. Ho WC, Pikor L, Gao Y, Elliott BE, Greer PA: Calpain 2 regulates Akt-FoxO-p27(Kip1) protein signaling pathway in mammary carcinoma. J Biol Chem 2012; 287:15458–15465.

24. Shiba E, Kim S, Fujitani M, et al: Possible involvement of calpain in the growth of estrogen receptor positive breast cancer cells. Anticancer Res 1996; 16:773–777.

25. Davis J, Martin SG, Patel PM, et al: Low calpain-9 is associated with adverse disease-specific survival following endocrine therapy in breast cancer. BMC Cancer 2014;14:995

26. Storr SJ, Lee KW, Woolston CM, et al: Calpain system protein expression in basal-like and triple-negative invasive breast cancer.Ann Oncol 2012;23:2289–2296.

27. Storr SJ, Mohammed RA, Woolston CM, et al: Calpastatin is associated with lymphovascular invasion in breast cancer. Breast 2011;20:413–418.

28. Liu L, Xing D, Chen WR: Micro-calpain regulates caspase-dependent and apoptosis inducing factor-mediated caspase-independent apoptotic pathways in cisplatin-induced apoptosis. Int J Cancer 2009;125:2757-2766.

29. Storr SJ, Woolston CM, Barros FF, et al: Calpain-1 expression is associated with relapsefree survival in breast cancer patients treated with trastuzumab following adjuvant chemotherapy. Int J Cancer 2011;129:1773-1780.

30. Kulkarni S, Reddy KB, Esteva FJ, Moore HC, Budd GT, Tubbs RR: Calpain regulates sensitivity to trastuzumab and survival in HER2-positive breast cancer.Oncogene 2010;29: 1339–1350.

31.Kulkarni S, Saju L, Farver C, Tubbs R: Calpain4 is required for activation of HER2 in breast cancer cells exposed to trastuzumab and its suppression decreases survival and enhances response. Int J Cancer 2012;131:2420–2432.

32. Pianetti S, Arsura M, Romieu-Mourez R, Coffey RJ, Sonenshein GE: Her-2/neu overexpression induces NF-κB via a PI3-kinase/Akt pathway involving calpain-mediated degradation of IκB-α that can be inhibited by the tumor suppressor PTEN. Oncogene 2001; 20:1287–1299.

33. Mirko Šamija,Stjepan Juzbašić,Viktor Šeparović,Velemir Danko Vrdoljak.Tumori dojke.1. izdanje.Medicinska naklada,Zagreb 2007: 170-249.

34. Carragher NO, Frame MC. Calpain: a role in cell transformation and migration. Int J Biochem Cell Biol. 2002;34:1539–1543.

35. Carragher NO, Westhoff MA, Riley D, et al. v-Src-induced modulation of the calpain-calpastatin proteolytic system regulates transformation. Mol Cell Biol. 2002;22:257–269.

36. Tryggvason K, Höyhtyä M, Salo T. Proteolytic degradation of extracellular matrix in tumor invasion. Biochim Biophys Acta. 1987;907:191–217.

37. Xu L, Deng X. Tobacco-specific nitrosamine 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone induces phosphorylation of mu- and m-calpain in association with increased secretion, cell migration, and invasion. J Biol Chem. 2004;279:53683–53690.

38. Xu L, Deng X. Protein kinase Ciota promotes nicotine-induced migration and invasion of cancer cells via phosphorylation of micro- and m-calpains. J Biol Chem.2006;281:4457–4466.

39. Bodnar RJ, Yates CC, Wells A. IP-10 blocks vascular endothelial growth factor-induced endothelial cell motility and tube formation via inhibition of calpain. Circ Res. 2006;98:617–625.

40. Su Y, Cui Z, Li Z, et al. Calpain-2 regulation of VEGF-mediated angiogenesis. FASEB J. 2006;20:1443–1451.

41. Bodnar RJ, Yates CC, Rodgers ME, et al. IP-10 induces dissociation of newly formed blood vessels. J Cell Sci. 2009;122:2064–2077.

42. Sergeev IN. Genistein induces Ca2+ -mediated, calpain/caspase-12-dependent apoptosis in breast cancer cells. Biochem Biophys Res Commun. 2004;321:462–467.

43. Nakagawa T, Yuan J. Cross-talk between two cysteine protease families. Activation of caspase-12 by calpain in apoptosis. J Cell Biol. 2000;150:887–894.

44. Kulkarni S, Reddy KB, Esteva FJ, et al. Calpain regulates sensitivity to trastuzumab and survival in HER2-positive breast cancer. Oncogene. 2010;29:1339–1350.

45. Storr SJ, Carragher NO, Frame MC, Parr T, Martin SG: The calpain system and cancer. Nat Rev Cancer 2011; 11:364-374

9. ŽIVOTOPIS

Tihana Baumgartner je rođena 14. rujna 1992. godine u Splitu. Obrazovanje započinje u Osnovnoj školi Marjan 1999. godine, nakon čega upisuje Opću gimnaziju Marko Marulić, koju završava sa odličnim uspjehom. Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci upisuje 2011. godine. Tijekom školovanja na Medicinskom fakultetu bila je član organizacijskog odbora brojnih kongresa. Kao aktivna članica studentske udruge Cromsic, sudjelovala je u brojnim javnozdravstvenim akcijama i predavanjima. 2017. godine odlazi na razmjenu u Thessaloniki u Grčkoj, gdje mjesec dana provodi na odjelu za neurokirurgiju.