

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Karla Jelinčić

**Genetska osnova karcinoma mokraćnog
mjehura**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Karla Jelinčić

Genetic basis of bladder carcinoma

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu preddiplomskog studijskog programa Molekularne biologije na Zavodu za molekularnu biologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Petre Korać.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Genetska osnova karcinoma mokraćnog mjehura

Karla Jelinčić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Jedna od najučestalijih malignih bolesti na svijetu je karcinom mokraćnog mjehura. Kod muškaraca mlađih od 75 godina se javlja češće nego kod ženskog spola, s tim da je kod žena veća stopa smrtnosti. Disurija, povećana potreba za mokrenjem, ili nemogućnost mokrenja su najizraženiji simptomi bolesti. Dijagnoza se postavlja cistoskopijom s transuretalnom resekcijom nakon koje slijedi patološka analiza tumorskog tkiva kojom se doznaje je li riječ o mišićno-invazivnom ili mišićno-neinvazivnom karcinomu. Svjetska zdravstvena organizacija (WHO, od eng. *World Health Organisation*) i tumor-limfni čvor-metastaza (TMN, od eng. *Tumor, Nodes and Metastasis*) sustavi su najčešći klasifikacijski sustavi ove maligne bolesti. Stanice se krenu jako brzo i nekontrolirano dijeliti, najčešće kao rezultat međudjelovanja promijenjenih onkogeni i gena za tumorske supresore. Najčešće mutacije su one u genima *FGFR3*, *RBI*, *HRAS* i *TP5*. Rizični faktori koji utječu na razvoj karcinoma mokraćnog mjehura su pušenje duhana, konzumacija kave, vode za piće i parazitska trematoda *Schistosomiasis haematobium*. Za njegovo liječenje primjenjuje se ili kemoterapijsko ili imunoterapijsko liječenje, ali pozornost treba obratiti i na otpornost pacijenata na određene terapije.

Ključne riječi: onkogen, disurija, mutacija, kemoterapija, imunoterapija
(21 stranica, 7 slika, 2 tablice, 55 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici.

Mentor: izv. prof. dr. sc. Petra Korać

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Genetic basis of bladder carcinoma

Karla Jelinčić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

One of the most common malignant diseases in the world is bladder cancer. It occurs more often in men under the age of 75 than in women, with a higher mortality rate when diagnosed in women. Dysuria, increased need to urinate, or inability to urinate are the most common symptoms of the disease. The diagnosis is made by cystoscopy with transurethral resection, followed by a pathological analysis of tumor tissue to determine whether it is muscle-invasive or non-muscle-invasive cancer. World Health Organisation (WHO) and Tumor, Nodes, Metastasis (TNM) systems are the most common classification systems of this malignant disease. Cells begin to divide very quickly and uncontrollably, most often as a result of the interaction of changed oncogenes and tumor suppressor genes. Most often mutations are the one in genes *FGFR3*, *RBI*, *HRAS* and *TP5*. Risk factors that influence the development of bladder cancer include tobacco smoking, coffee consumption, drinking water, and the parasitic trematode *Schistosomiasis haematobium*. Chemotherapy or immunotherapy is used for treatment, but attention should also be paid to the patient's resistance to certain therapies.

Keywords: oncogene, dysuria, mutation, chemotherapy, immunotherapy
(21 pages, 7 figures, 2 tables, 55 references, original in: Croatian)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: Assoc. Prof. Petra Korać

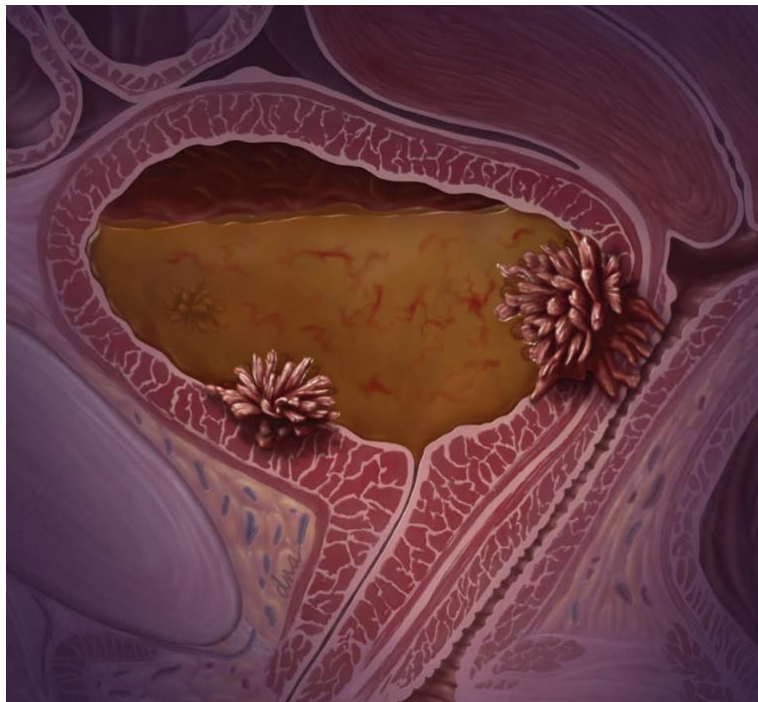
Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Karcinom mokraćnog mjehura.....	2
2.1. Epidemiologija.....	2
2.2. Dijagnoza i klasifikacija.....	4
2.3. Molekularna osnova.....	9
3. Etiologija.....	10
3.1. Pušenje.....	10
3.2. Voda za piće.....	11
3.3. Kava.....	12
3.4. Parazit <i>Schistosomiasis haematobium</i>	12
4. Liječenje.....	13
4.1. Kemoterapija.....	13
4.2. Imunoterapija.....	14
4.3. Otpornost na liječenje.....	15
5. Zaključak.....	16
6. Literatura.....	16
7. Životopis.....	21

1. Uvod

Mokraćni mjehur (lat. *vesica urinaria*) šuplji je organ koji služi za skladištenje urina koji dolazi iz bubrega prije samog izlučivanja. Čini ga nekoliko slojeva koji okružuju lumen, od kojih je mukozni ili urotelni sloj najdublji te ima izravan kontakt sa sadržajem lumena. Sljedeći sloj je lamina propria ili vezivno tkivo, a zadnji sloj čine glatki mišići.

Karcinom mokraćnog mjehura (Slika 1.) je heterogena bolest s varijabilnom etiologijom koja se češće javlja kod muškaraca, odnos spolova je 3:1. Na samom početku se pojavljuje već kao invazivna ili kao metastatska bolest. Površinski karcinom ograničen je na prva dva sloja tkiva mjehura, urotel i laminu propriu, dok se karcinom koji je dobro diferenciran i probija prema lumenu smatra papilarnim. Iako je karcinom *in situ* ograničen na stanične slojeve i ne ulazi u lumen, nosi veliki rizik od daljnjeg razvoja i invazije. Ukoliko napreduje do glatkih mišića, ali i dalje prema drugim organima, smatra se invazivnim karcinomom mokraćnog mjehura (eng. *muscle invasive bladder cancer*). (1)



Slika 1. Ilustrativni prikaz karcinoma mokraćnog mjehura koji je u kontaktu sa sadržajem lumena. (Preuzeto iz Farling 2017.)

Prospektivne dugoročne studije bave se proučavanjem brzine i sposobnosti napredovanja

karcinoma osobito kod visokorizičnih pacijenata. Jedna od sastavnica Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo je i Služba za epidemiologiju i prevenciju kroničnih nezaraznih bolesti koja u suradnji sa WHO daje preporuke o različitim dijagnostičkim pitanjima i raspravlja o optimalnim tehnikama liječenja. Transuretalna resekcija kirurški je zahvat koji se često koristi za uklanjanje karcinoma mokraćnog mjehura, a ostale metode terapije obuhvaćaju kemoterapiju, imunoterapiju ili u slučajevima težih oboljenja potpuno ili djelomično uklanjanje mjehura. (2)

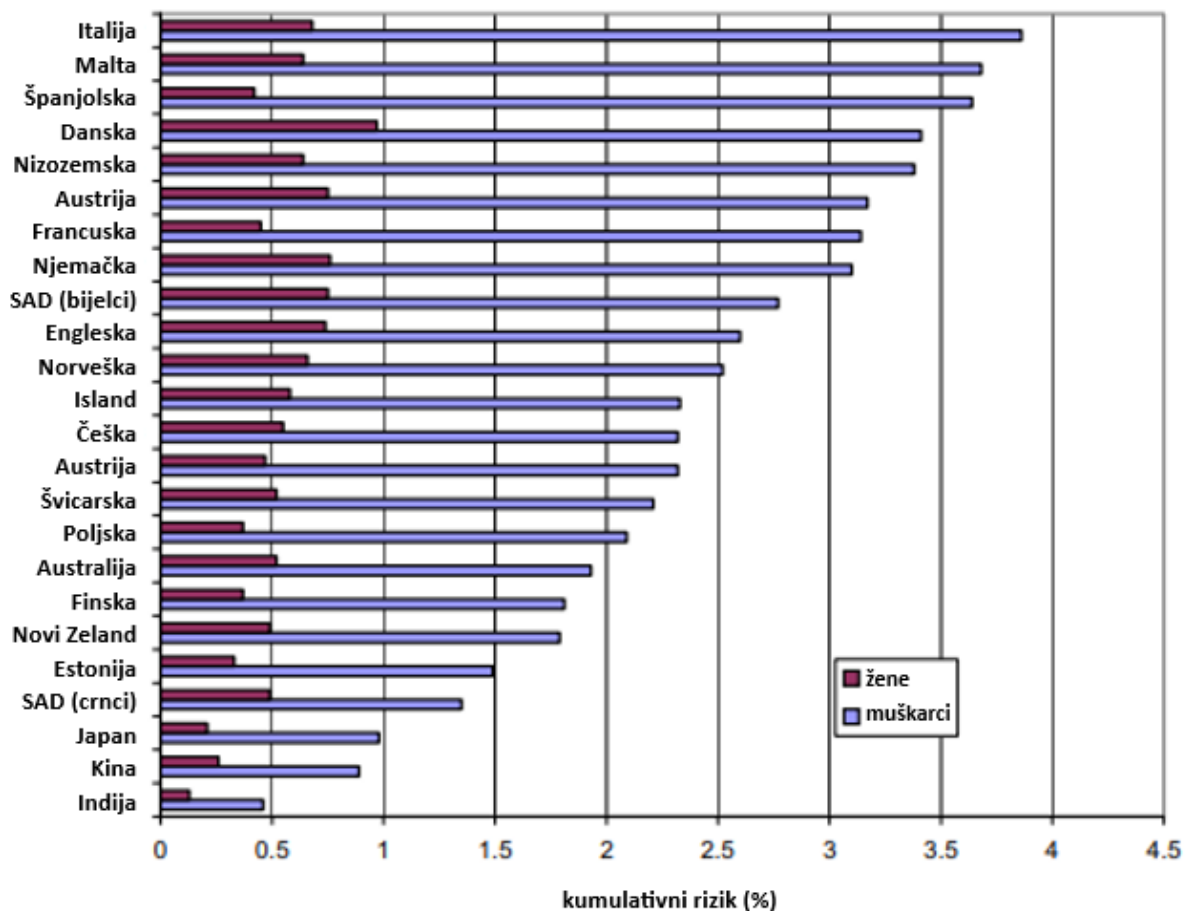
U današnje vrijeme postoji širok spektar kombinacija metoda liječenja, a najčešće se koristi kemoterapija ili imunoterapija.

2. Karcinom mokraćnog mjehura

2.1. Epidemiologija

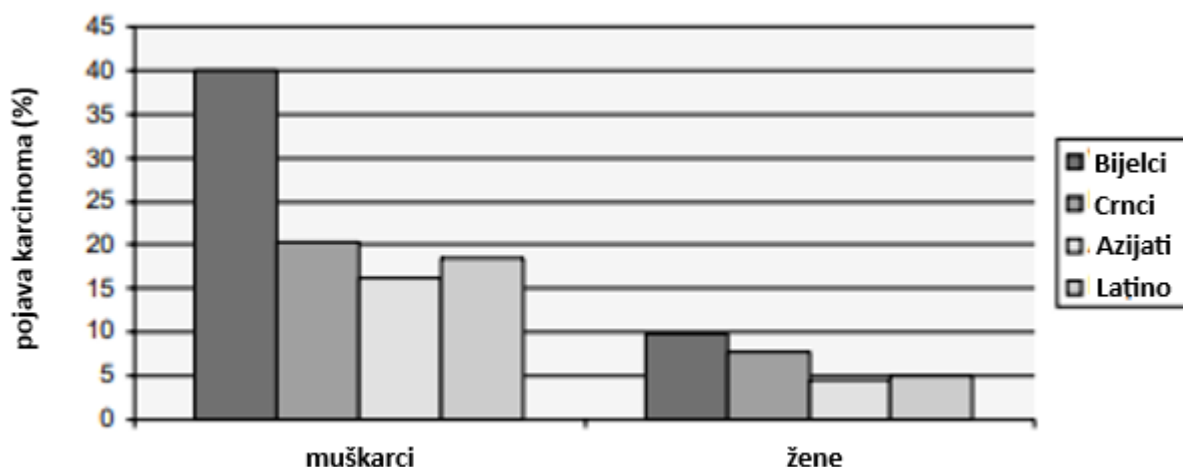
Karcinom mokraćnog mjehura je četvrta najčešća maligna bolest među muškarcima zapadnog svijeta. Prosječna starost pacijenata u vrijeme dijagnoze je 65-70 godina. Rizik razvoja karcinoma mokraćnog mjehura u dobi mlađoj od 75 godina kod muškaraca iznosi od 2 do 4 %, dok se kod žena ta brojka kreće od 0.5 do 1 % (Slika 2).

Čak 4 puta je češće dijagnosticiran kod muškaraca nego kod žena. Međutim, dokazano je da je stopa preživljavanja kod žena manja. Također, žene koje su rodile zbog hormonskih promjena tijekom trudnoće imaju manji rizik za razvoj ovog karcinoma, od onih koje nisu rodile. (2)



Slika 2. Kumulativni rizik oboljenja od karcinoma mokraćnog mjehura u pacijenata mlađih od 75 godina prema Incidenciji raka na pet kontinenata (CIFC, od eng. *Cancer Incidence in Five Continents*). (Preuzeto i prilagođeno iz Kirkali et al., 2005)

Također, rasne biološke varijacije mogu utjecati na karcinogenezu. Naime, neke od genetskih razlika koje postoje među rasnim skupinama su ujedno i predispozicije za razvoj karcinoma. Jedna od takvih predispozicija je sposobnost pretvorbe prokarcinogena, tvari koje same po sebi nisu karcinogene, u karcinogene zbog načina na koji se razgrađuju u tijelu. Još neke genetske razlike među rasnim i etičkim skupinama uključuju detoksifikaciju karcinogena te popravak DNA. Afroamerikanci imaju upola manji rizik za razvoj karcinoma od Europljana (Slika 3), ali imaju znatno manju stopa preživljenja. (1, 3)

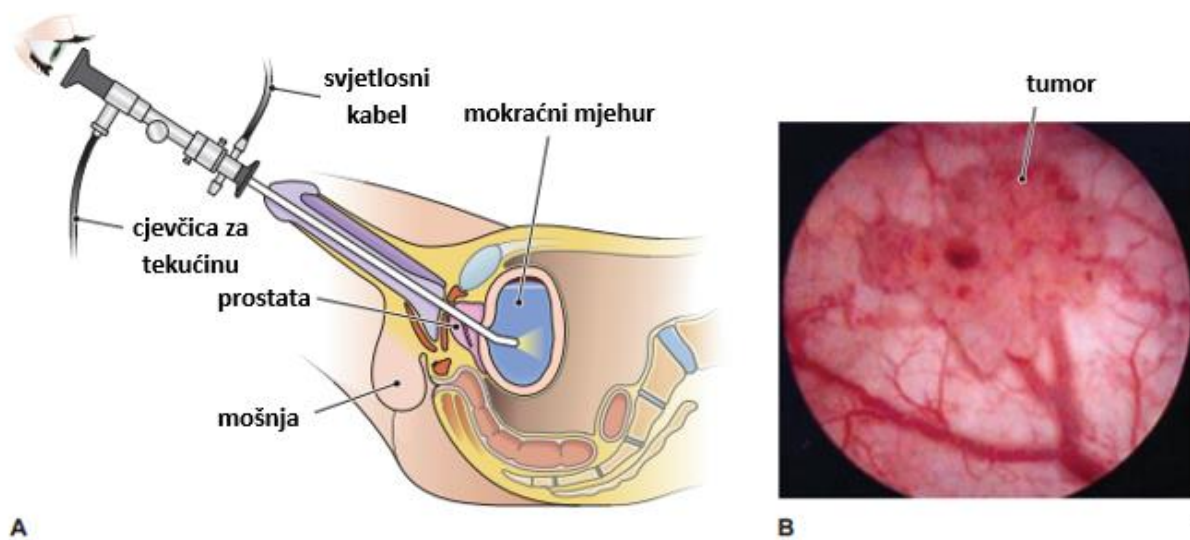


Slika 3. Pojavnost karcinoma mokraćnog mjehura u različitim rasama na 150 osoba po godini u Sjedinjenim Američkim Državama prema CSR (od eng. *Cancer Statistics Review*). (Preuzeto i prilagođeno iz Kirkali et al., 2005)

2.2. Dijagnoza i klasifikacija

Hematurija, odnosno krv u urinu, najčešći je simptom karcinoma mokraćnog mjehura, a javlja se kod čak 90% oboljelih osoba. Može biti popraćena s disurijom, povećanom potrebom za mokrenjem, ili nemogućnošću mokrenja. (4)

Procedura kojom se najčešće postavlja dijagnoza uključuje cistoskopiju s transuretalnom resekcijom (eng. *transurethral resection of the bladder*). Urolog uz primjenu lokalne anestezije, a moguće i opće, pomoću fleksibilnog aparata istražuje mokraćovod i mjehur tražeći bubrežni kamenac, tumore ili lezije (Slika 4.). U slučaju pronalaska tumorskog tkiva, potrebno je napraviti biopsiju ili ukloniti tkivo kako bi se napravila patološka dijagnoza. Treba se uzeti u obzir i to da uzorak mora sadržavati i dio mišića detruzora, kako bi se moglo zaključiti je li riječ o mišićno-invazivnom ili mišićno-neinvazivnom karcinomu mokraćnog mjehura. (5)



Slika 4. Cistoskopija s transuretalnom resekcijom. (a) Osvijetljeni cistoskop uveden kroz mokraćovod muškog pacijenta; (b) Karcinom mokraćnog mjehura detektiran cistoskopom. (Preuzeto i prilagođeno iz Choen et al., 2014)

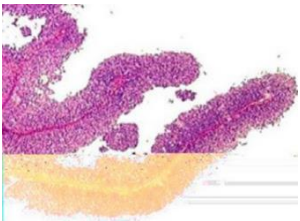
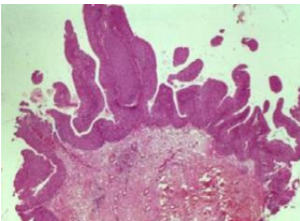
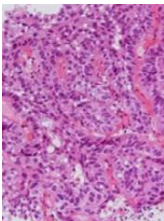
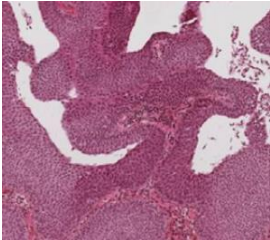
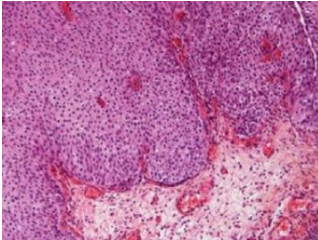
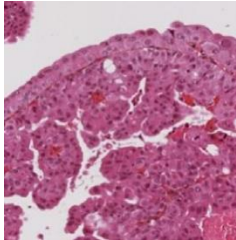
Osim cistoskopije, za postavljanje konačne dijagnoze potrebno je napraviti i druge pretrage, kao što je citološka analiza urina kojom se određuje prisutnost abnormalnih stanica koje ukazuju na karcinom. Iako ju je lako provoditi, osjetljiva je i specifična samo za lezije visokog stupnja, dok one nižeg stupnja često nije moguće uočiti. Stoga, uz samu citologiju urina potrebno je koristiti i dodatne testove. Također, u upotrebi je i test temeljen na metodi FISH (od eng. *fluorescence in situ hybridization*) koji može otkriti kromosomske aberacije povezane s karcinomom. Iako je i on osjetljiviji kod lezija višeg stupnja, njime je moguće prepoznati tumorske stanice i u ranijim stadijima. Testovi koji imaju visoku osjetljivost i kod lezija niskog stupnja su CT (od eng. *radiologic imaging with computed tomography*) ili MRI (od eng. *magnetic resonance imaging*) ovisno o razini kreatinina ili alergiji na jod kod pacijenata. (6.)

Postoji više vrsta klasifikacije karcinoma mokraćnog mjehura s obzirom na lokaciju i same karakteristike karcinoma. Dva najpoznatija sustava su klasifikacija Svjetske zdravstvene organizacije WHO i sustav TNM. (7,8)

Sustav klasifikacije Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) iz 1973. godine dijeli papilarne

urotelne lezije u tri razreda od kojih je najniži razred G1 (gradus G1) skoro bez atipija, razred G2 koji pokriva širok spektar lezija između onih u G1 i G3 razredu, dok najviši razred G3 obuhvaća velike atipije te strukturne poremećaje kao što je gubitak polarnosti ili pseudostratifikacija. Prema WHO-klasifikaciji iz 2016. godine, koji se nadovezao na sustav 2004. godine, svi mišićno-invazivni karcinomi smatraju se karcinomima visokog gradusa (HG, od eng. *high grade*) dok se mišićno-neinvazivni karcinomi smatraju karcinomima niskog gradusa (LG, od eng. *low grade*). Razlike u klasifikaciji prikazane su u Tablici 1. (7)

Tablica 1. Klasifikacija urotelnog karcinoma mokraćnog mjehura Svjetske zdravstvene organizacije iz 1973. i 2004./2016. godine. (Preuzeto i prilagođeno iz Compérat et al., 2018)

Razina tumora	1	2	3
Opis 1973.	Tanke papile u pravilnom poretku	Vidljiva atipičnost, uvećan urotelnog sloj	Vidljiva atipičnost, nedostatak polarnosti, mitoze
Slika pod mikroskopom			
Biološki potencijal	Papilarne neoplazije niskog malignog potencijala	nizak	visok
Opis 2004./2006.	Uske papile bez atipičnosti, nema zadebljanja urotela	Papile imaju veći broj slojeva, atipičnost je rijetko prisutna, očuvana polarnost	Visoka atipičnost, narušena arhitektura staničja
Slika pod mikroskopom			

2022. godine izašlo je peto izdanje Sustava klasifikacije tumora mokraćnog i spolnog trakta muškaraca po WHO. Nova saznanja većinom se odnose na nove pristupe liječenju te nove

informacije o različitim stadijima tumora na molekularnoj razini, pa tako ovo najnovije izdanje donosi klasifikaciju heterogenih neinvazivnih urotelnih neoplazmi, definicije invertiranih neoplazmi i prekursora lezija, klasifikaciju invazivnih urotelnih karcinoma i spektar linija diferencijacije. (36) Definirano je šest molekularnih podskupina mišićno-invazivnog karcinoma mokraćnog mjehura, a svaka od podskupina ima različitu prognozu. (37, 38, 39, 40, 41) Te su skupine: luminalno-papilarni (identificiran u 24% oboljelih), luminalno nespecifični (identificirana u 8% oboljelih), luminalno nestabilni (identificiran u 15% oboljelih), stromalno bogat (identificiran u 15% oboljelih), bazalno-skvamozan (identificiran u 35% oboljelih) te karcinom sličan neuroendokrinom (identificiran u 3% oboljelih). (36) Podskupine se razlikuju prvenstveno u ekspresiji gena – primjerice, mutacije u genu *FGFR3* češće su u luminalno-papilarnoj podskupini, dok su mutacije u genu *TP53* češće u karcinomu sličnom neuroendokrinom, bazalno-skvamoznim te luminalno nestabilnim karcinomima. (36) Molekularna klasifikacija ipak danas još uvijek nije uvriježena kao primarni način klasifikacije karcinoma mokraćnog mjehura. Obzirom da su sva istraživanja nova i postoji još puno prostora za istraživanje, i dalje se daje prednost morfološkoj klasifikaciji.

TNM je sustav kojim se klasifikacija temelji na opsega rasta i širenja karcinoma (Tablica 2.). Opisuje veličinu i proširenost primarnog tumora (T, od eng. *tumor*), pokazuje zahvaćenost obližnjih limfnih čvorova (N, od eng. *nodes*) te pokazuje proširenost karcinoma na udaljene dijelove tijela (M, od eng. *metastasis*). Kombinacijom ovih komponenti može se prognozirati daljnji razvoj ali i stadij samog karcinoma koji može biti u ranoj ili naprednoj fazi. (8)

Tablica 2. TNM klasifikacija karcinoma mokraćnog mjehura iz 1997. godine prema organizaciji AJCC (od eng. *American Joint Committee on Cancer*). (Preuzeto i prilagođeno iz Richie, 1998)

Vrsta tumora	Opis
Primarni tumor (T)	
TX	Nemoguće procijeniti postojanje primarnog tumora
T0	Nema dokaza o postojanju primarnog tumora
Ta	Neinvazivni papilarni tumor
Tis	Karcinom <i>in situ</i> , „površinski tumor“
T1	Tumor invadira u subepitelno vezivno tkivo
T2	Tumor invadira u mišićni sloj

T2a	Tumor invadira u unutarnji sloj mišića oko mokraćnog mjehura
T2b	Tumor invadira u vanjski dio mišića oko mokraćnog mjehura
T3	Tumor invadira u okolno masno tkivo
T3a	Mikroskopski
T3b	Makroskopski
T4	Tumor invadira u bilo što od navedenog: prostatu, maternicu, rodnicu, zid zdjelice ili abdomena
T4a	Tumor invadira u prostatu, maternicu ili rodnicu
T4b	Tumor invadira u zid zdjelice ili abdomena
Regionalni limfni čvorovi* (N)	
NX	Nemoguće procijeniti postojanje metastaza u regionalnim limfnim čvorovima
N0	Nema metastaza u regionalnim limfnim čvorovima
N1	Metastaze u jednom limfnom čvoru < 2 cm u najvećoj dimenziji
N2	Metastaze u jednom limfnom čvoru > 2 cm i < 5 cm u najvećoj dimenziji, ili metastaze prisutne u više limfnih čvorova < 5 cm u najvećoj dimenziji
N3	Metastaze u limfnim čvorovima > 5 cm u najvećoj dimenziji
Distalne metastaze (M)	
MX	Nemoguće procijeniti postojanje distalnih metastaza
M0	Nema distalnih metastaza
M1	Distalne metastaze

2.3. Molekularna osnova karcinoma mokraćnog mjehura

Karcinom mokraćnog mjehura je bolest koja nastaje tako što se pojedine stanice počnu nekontrolirano dijeliti kao posljedica međudjelovanja promijenjenih onkogenih i gena za tumorske supresore. (9)

Geni kromosoma 9, ali također i kromosoma 22 kao što su *FGFR3*, *RBI*, *HRAS* i *TP53* imaju ulogu u sprečavanju prebrzog dijeljenja stanica, stoga njihove mutacije dovode do razvoja karcinoma mokraćnog mjehura, ali i do razvoja 50% ostalih karcinoma. (10)

Rani događaj karcinogeneze kod karcinoma mokraćnog mjehura je visoka učestalost gubitka heterozigotnosti (LOH, od eng. *loss of heterozygosity*) na duljem kraku kromosoma 9 što dovodi do nedostatka varijacija alela u tisućama gena, dok je za kasni događaj ove karcinogeneze značajna delecija regija 2p, 8p te 11q. (11)

Gen *HRAS* je prvi izolirani onkogen kod pacijenata oboljelih od karcinoma mokraćnog mjehura, a mutiran je najčešće u kodonima 12, 13 i 61 što dovodi do njegove konstitutivne ekspresije. Ove mutacije, kao i mutacije gena *FGFR3* izazivaju ranu proliferaciju urotela koja u konačnici potiče razvoj papilarnih, neinvazivnih tumora niskog stupnja. (10)

Gen *RBI* kodira protein koji regulira transkripcijske faktore E2F koji su uključeni u kontrolu staničnog ciklusa te sintezu DNA, a njegova mutacija izaziva apoptotski odgovor posredovan proteinom p53. Ukoliko su mutirani geni i za *RBI* i za p53, pacijenti imaju povećanu stopu recidiva te lošijeg ukupnog preživljenja od pacijenata sa samo jednom mutacijom. (12)

Gen *TP53* je jedan od najznačajnijih tumor-supresorskih gena koji je inaktiviran kod agresivnog karcinoma mokraćnog mjehura neuroendokrinih stanica visokog gradusa. Kad je ovaj gen mutiran, brže dolazi do udvostručenja genoma, što je jedna od najučestalijih genomskih abnormalnosti karcinoma jer olakšava diobu tumorskih stanica. (13)

U istraživanju provedenom u New Yorku 2015. godine pokazano je da je *STAG2* gen koji je najčešće mutiran kod pacijenata oboljelih od karcinoma mokraćnog mjehura. *STAG2* je gen uključen u kohezijski kompleks koji je važan za anafazu stanične diobe te ima važnu ulogu u formiranju diobenog vretena tijekom mitoze. (10)

Također, pokazano je da je *IGF2BP3* prekomjerno eksprimiran u tkivu karcinoma mokraćnog mjehura u usporedbi s normalnim tkivom. *IGF2BP3* je proliferacijski marker specifičan za mjehur te aktivira put JAK/STAT čija je uloga regulacija rasta stanica, apoptoza te diferencijacija. (14)

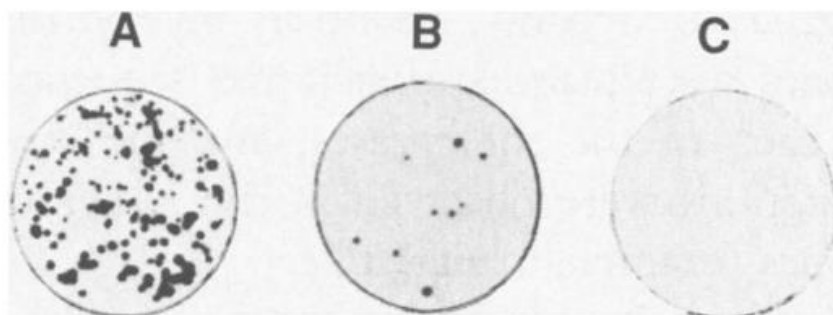
Što se tiče genetske predispozicije, procijenjeno je da udio koji odgovara nasljednim faktorima za razvoj ove maligne bolesti iznosi 31%, a primarno je riječ o polimorfizmima gena *NAT2* i *GSTM1*. (15)

3. Etiologija

Neki od značajnijih faktora koji dovode do rizika za razvoj karcinoma mokraćnog mjehura su pušenje duhana, konzumacija kave i vode za piće te parazit *Schistosomiasis haematobium*.

3.1. Pušenje

Pušenje je jedan od glavnih faktora koji utječu na razvoj karcinoma mokraćnog mjehura i kod žena i kod muškaraca. Aromatski amini i policiklički aromatski ugljikovodici su kancerogeni spojevi koji se nalaze u sastavu duhanskog dima. Izlučuju se bubrezima i uzrokuju oštećenje DNA te imaju kancerogeni učinak na urotel, koji zajedno s rahlim vezivnim tkivom lamine proprie čini sluznicu mokraćnog mjehura. (16) Zbog navedenih spojeva može doći do loma dvostruke zavojnice DNA, modifikacije baza ili nastanka raznih agregata. (17) Također, dugotrajna te količinska izloženost kancerogenima u duhanskom dimu uzrokuje mutacije gena za tumorski supresor p53 što pridonosi nastanku karcinoma mokraćnog mjehura. U istraživanju provedenom 1991. godine analizirane su mutacije gena p53 i dokazano je da pacijenti oboljeli od karcinoma mokraćnog mjehura često imaju deleciju regije 17p u tumorskim stanicama, zbog čega je mutiran gen za p53 (Slika 5). (18)



Slika 5. Identifikacija mutacija gena *TP53* u stanicama iz urina pacijenta s karcinomom mokraćnog mjehura drugog stupnja. Uzorci iz urina pacijenta umnoženi su PCR-om (od eng. *Polymerase Chain Reaction*) te hibridizirani oligomernom probom specifičnom za mutirani gen *TP53*. (a) Uzorak hibridiziran oligomernom probom specifičnom za mutirani gen *TP53*; (b) Uzorak hibridiziran oligomernom probom specifičnom za mutirani gen *TP53*, no u manjoj koncentraciji probe; (c) Uzorak urina zdrave osobe s genom *TP53* bez mutacija ne hibridiziraju s probom specifičnom za mutaciju. (Preuzeto iz Sidransky et al., 1991.)

Nakon 1 do 4 godine prestanka konzumacije duhana, bivšim pušačima se mogućnost obolijevanja smanjuje oko 40%, no čak i nakon 25 godina apstinencije imaju i dalje veći rizik razvoja karcinoma od nepušača. (4)

3.2. Voda za piće

Voda koju svakodnevno pijemo sadrži teški metal arsen (As), koji osim u organskom neštetnom obliku može postojati i u anorganskom toksičnom obliku. Ukupna štetna koncentracija kreće se u intervalu od 300 do 500 µg arsena u litri vode. Arsen inhibira enzime koji sadrže tiolnu skupinu (-SH) te enzime s antioksidacijskom funkcijom i na taj način ometa stanični metabolizam što dovodi do predispozicija za razvoj karcinoma mokraćnog mjehura. (19) Također, iako neka američka istraživanja osporavaju povezanost mutacija gena *TP53* s arsenom kod ljudi oboljelih od navedenog karcinoma (42), tajvansko istraživanje je dokazalo da se pojavljuje mutacija na 175. kodonu gena za tumorski supresor *TP53*. (43)

Kloriranje vode, postupak koji se najčešće koristi za dezinfekciju, smatra se još jednim od faktora rizika za razvoj karcinoma mokraćnog mjehura. Naime, kloriranjem dolazi do nastanka

mutagenog nusprodukta trihalometana (THM), karcinogena koji je posebno štetan pri konzumaciji kroz dulji vremenski period. (20)

3.3. Kava

Kava je diuretik koji, osim kofeina koji može utjecati na popravak DNA, sadrži i druge antikancerogene tvari kao što su klorogena kiselina, kofeinska kiselina, HHQ (hidroksi-hidrokinon) itd. Ove tvari djeluju kao jaki antioksidansi pa štite tijelo od slobodnih radikala. Postoji još nekoliko prednosti konzumacije kave, a to su smanjen rizik od oboljenja od karcinoma jetre, gušterače, ovarija, endometrija i drugih. (22) Nekoliko istraživanja pokazalo je kako konzumacija kave ne utječe na povećavanje rizika od oboljenja karcinomom mokraćnog mjehura. (44, 45) Antikancerogeni učinak tvari iz kave očituje se u organizmu na nekoliko razina – utječe na ekspresiju gena, rad enzima i regulaciju signalnog puta Nrf2-ARE koji održava homeostazu. (46, 47) U dosadašnjim istraživanjima je pokazano da konzumacija kave može predstavljati rizik za razvoj karcinoma mokraćnog mjehura samo ako se konzumira u većim količinama. (23)

3.4. Parazit *Schistosomiasis haematobium*

Prema WHO, šistostomijaza je bolest koja je do sada zahvatila čak 200 milijuna ljudi u 76 tropskih zemalja. Vrsta *Schistosomiasis haematobium* (Slika 6.) je ona kojom se čovjek može zaraziti vodom za piće. Ovaj parazit napada urogenitalni sustav, a jaja polaže u mokraćni mjehur gdje izaziva iritaciju i fibrozu tkiva što doprinosi procesu karcinogeneze jer nastaje puno slobodnih radikala. Slobodni radikali potiču nastanak genetskih mutacija ili karcinogenih spojeva kao što su N-nitrozamini i policiklički aromatski ugljikovodici. (24) Neke od najčešćih genetskih mutacija do kojih dolazi su LOH na kromosomima 9p i 9q. (48,49) Ovakve mutacije uglavnom dovode do konstitutivne aktivacije receptora tirozin-kinaze signalnog puta Ras, a smatra se da je tako zbog mutacije koja se dogodi u genu *KRAS*. (50, 51) Mutacije koje se događaju zbog ovog parazita očituju se smanjenim brojem stanica koje ulaze u apoptozu i razvoju imunosupresije.



Slika 6. Parazit *Schistosomiasis haematobium* u koncentratu urina. (Preuzeto od WSLH, 2019)

4. Liječenje

Liječenje karcinoma mokraćnog mjehura ovisi o tome koliko brzo i duboko je tumor napredovao, kao i o općem zdravstvenom stanju pacijenta. Najčešće se primjenjuju kemoterapija ili imunoterapija. (4)

4.1. Kemoterapija

Kemoterapija se provodi s ciljem smanjenja tumora i potencijalnog poboljšanja kirurških ishoda, a razmatra se za lokalno uznapredovale tumore. (6)

Mišićno-neinvazivni karcinom mokraćnog mjehura obuhvaća čak 75% svih vrsta karcinoma mokraćnog mjehura, uključujući Ta stadij, karcinom *in situ* ili T1 karcinom koji prodire kroz laminu propriu (Tablica 2.). Za liječenje se preporuča jednokratna instilacija intravezikularne kemoterapije, najčešće nakon transuretralne resekcije tumora (TURBT, od eng. *transurethral resection of the bladder tumour*), a kao perioperativni intravezikularni kemoterapeutik upotrebljava se 30 mg mitomicin C ili 50 mg doksorubicin. Također, farmakokinetička studija je pokazala kako i instilacija s gemcitabinom, analogom deoksicitidina ima širok spektar antitumorskog djelovanja, ali posebice kod mišićno-invazivnog karcinoma. (26) Jedan od kemoterapeutika koji se istražuju je i docetaksel. (6, 26)

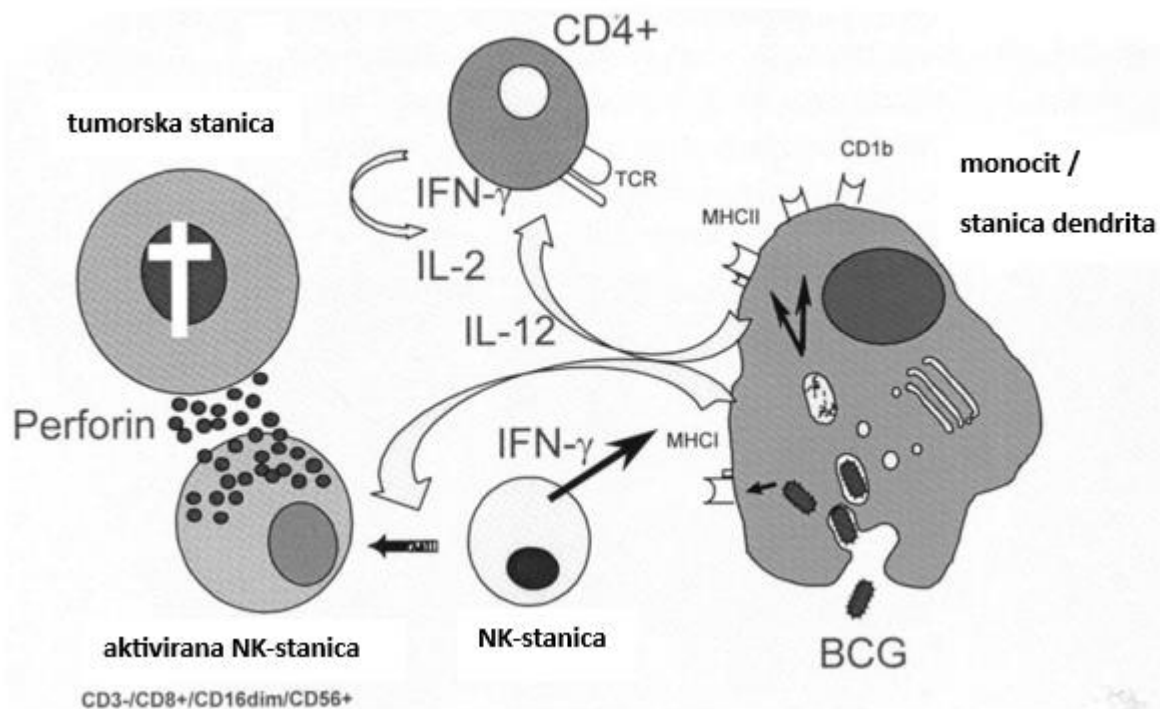
Mišićno-invazivni karcinom mokraćnog mjehura ima visoku stopu smrtnosti, s čak 85 % pacijenata koji umiru unutar 2 godine od dijagnoze. Liječenje se provodi tako da se kirurški ukoni mjehur i

zdjeljne limfne čvorove, a najčešće do toga dolazi nakon neuspješnog tretmana neoadjuvatnom kemoterapijom, što je faza u liječenju svih karcinoma koja se provodi prije posljednje faze – uklanjanja cijelog organa. (6)

U istraživanju provedenom 2016. godine pokazano je da gemcitabine i cisplatin/karboplatin (GC) te metotreksat, vinblastin, doksorubicin i cisplatin (MVAC), koji se svi mogu koristiti u neoadjuvatnoj terapiji, imaju slične stope odgovora na liječenje, ali različite ishode preživljenja. GC i MVAC se smatraju glavnim kemoterapeutičima moderne onkologije, no kemoterapijski režim baziran na platini ipak ima najbolji učinak. (27)

4.2. Imunoterapija

Za prevenciju tuberkuloze 1991. godine koristilo se cjepivo dobiveno od umravljenog soja bakterije *Mycobacterium bovis*, a danas se, 30 godina kasnije, ono koristi u liječenju karcinoma mokraćnog mjehura intravezikularnom imunoterapijom. Imunoterapija s cjepivom BCG (lat. *Bacillus Calmette-Guérin*) rezultira drastičnim lokalnim imunološkim odgovorom prilikom čega dolazi do povećane ekspresije citokina u urinu i tkivu mokraćnog mjehura (52) Također dolazi do nakupljanja granulocita i mononuklearnih stanica u stijenci mokraćnog mjehura (53, 54) U urinu ovako liječenih pacijenata pronađeni su razni citokini, uključujući tumorski nekrotični faktor α , IFN- γ , interleukine IL-1, IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 te IL-18. Sve navedeno ima antitumorsko djelovanje, pa zbog njihova nakupljanja u mjehuru učinkovito se regrutiraju imunosne stanice. (28) Dolazi do priljeva monocita te pomoćničkih limfocita T, a IL-12 uzrokuje aktivaciju NK-stanica. Unosom cjepiva. mononuklearna tijela iz perifernih dijelova organizma nakupljaju se oko karcinoma te zbog brojnih antitumorskih faktora razvijaju sposobnost uništavanja tumorskih stanica. Ta tijela, zajedno s monocitima i CD4 limfocitima, imaju citotoksičnu ulogu (55). NK-stanice specijaliziraju se u podtip koji nazivamo stanice ubojice aktivirane cjepivom BCG (BAK, od eng. *BCG activated killer cell*). One liziraju tumorske stanice pomoću proteina perforina te bez značajnog doprinosa Fas/FasL puta, koji je još jedan od načina eliminacije stanica (Slika 7). (28, 29)



Slika 7. Imunosni procesi uključeni u imunoterapiju cjepivom BCG kod pacijenata oboljelih od karcinoma mokraćnog mjehura. Stvaranje NK-stanica je rezultat pokrenute kaskade događaja uzrokovanih cjepivom u krvi pacijenta. (Preuzeto i prilagođeno iz Böhle & Brandau, 2003)

Također, analize organizacija SWOG (od eng. *Southwest Oncology Group*) i EORTC (od eng. *European Organisation for Research and Treatment of Cancer*) pokazale su da je primjena intravezikalnog cjepiva BCG učinkovitija od intravezikalne kemoterapije u smanjenju rizika od recidiva, to jest povratka karcinoma. (30, 31)

Iako se smatra da navedena imunoterapija značajno smanjuje rizik od kratkoročnog ali i dugoročnog neuspjeha liječenja, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se identificirali markeri povezani s BCG neuspjehom, ali i kako bi se razvile učinkovite alternative cistektomije u pacijenata kod kojih BCG ne djeluje. (32)

4.3. Otpornost na liječenje

U gotovo tri četvrtine pacijenata s dijagnozom visokorizičnog karcinoma mokraćnog mjehura bolest će se ponovno javiti, napredovati ili će pacijent umrijeti unutar 10 godina od dijagnoze. Iako

većina oboljelih, pogotovo s ranom dijagnozom, ne umire od ove maligne bolesti, često dolazi do recidiva te je pacijent prisiljen ponovno prolaziti postupak liječenja. Rizik od recidiva ovisi o stadiju karcinoma, prisutnosti metastaza, ali i općeg zdravlja oboljelog. (33)

Uznapredovali karcinom otporan na kemoterapiju ostaje veliki klinički izazov s ograničenim terapijskim mogućnostima. (34)

Pri primijeni kemoterapije postoji nekoliko proteina koji mogu promijeniti funkciju i djelovanje kemoterapeutika na stanice karcinoma. Glikoprotein P1 poticanjem enzima CYP3A4 može deaktivirati lijekove koji sudjeluju u borbi protiv karcinoma. (35)

5. Zaključak

Karcinom mokraćnog mjehura predstavlja interesno pitanje već više desetljeća, no za ovu bolest još ostaju neodgovorena brojna pitanja, prvenstveno na razini molekularne osnove razvoja karcinoma i klasifikacije stadija karcinoma. Postoje razne metode terapije, a kao i kod većine vrsta liječenja, tako i u ovom slučaju postoji različita doza otpornosti, kojoj bi se uz naporan rad znanstvenika moglo stati u kraj. Važno je nastaviti raditi na ovom području jer unatoč velikom broju dugogodišnjih istraživanja, nažalost stopa oboljelih od ove bolesti ostaje vrlo visoka. Kako raste naše razumijevanje imunskog sustava ali i biologije tumora, tako raste i nada da ćemo u budućnosti razviti terapije koje mogu promijeniti ljudske živote.

6. Literatura

1. Metts, M.C. et al. (2000) Bladder cancer: a review of diagnosis and management. *J Natl Med Assoc.* 92(6):285-94.
2. Kirkali, Z. et al. (2005) Bladder cancer: Epidemiology, staging and grading, and diagnosis. *Urology*, 66(6), 4–34.
3. Smart, C.R. (1990) Bladder cancer survival statistics. *J Occup Med.* 32(9), 926-8.

4. Pashos, C.L. et al. (2002) Bladder Cancer. *Epidemiology, Diagnosis, and Management. Cancer Practice*, 10(6), 311–322.
5. Cohen, B.J., Hull, K. Memmler's (2014) *The Human Body in Health and Disease*. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins
6. Farling, K.B. (2017) Bladder cancer. *The Nurse Practitioner*, 42(3), 26-33.
7. Compérat, E. M. et al. (2018) Grading of Urothelial Carcinoma and The New “World Health Organisation Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs 2016.” *European Urology Focus*.
8. Richie, J. P. et al. (1998) Tumor, nodes, metastasis (TNM) classification of bladder cancer. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 4(4-5), 90–93.
9. Tran, L. et al. (2021) Advances in bladder cancer biology and therapy. *Nat Rev Cancer*, 21(2):104-121.
10. Zhang, X., Zhang, Y. (2015) Bladder Cancer and Genetic Mutations. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 73(1), 65–69.
11. Shimizu, R. et al. (2022) Activation of PPAR γ in bladder cancer via introduction of the long arm of human chromosome 9. *Oncology Letters*, 23, 92.
12. Ahmad, I., Sansom, O. J., Leung, H. Y. (2012) Exploring molecular genetics of bladder cancer: lessons learned from mouse models. *Disease Models & Mechanisms*, 5(3), 323–332.
13. Robertson, A. G. et al. (2017) Comprehensive Molecular Characterization of Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Cell*, 171(3), 540–556.e25.
14. Huang, W. et al. (2020) IGF2BP3 facilitates cell proliferation and tumorigenesis via modulation of JAK/STAT signalling pathway in human bladder cancer. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*.
15. Murta-Nascimento, C. et al. (2007) Risk of Bladder Cancer Associated with Family History of Cancer: Do Low-Penetrance Polymorphisms Account for the Increase in Risk? *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 16(8), 1595–1600.

16. Janisch, F. et al. (2019) The interaction of gender and smoking on bladder cancer risks. *Current Opinion in Urology*, 29(3), 249–255.
17. Cumberbatch, M.G.K. et al. (2018) Epidemiology of Bladder Cancer: A Systematic Review and Contemporary Update of Risk Factors in 2018. *European Urology*.
18. Sidransky, D. et al. (1991) Identification of p53 gene mutations in bladder cancers and urine samples. *Science*, 252(5006), 706–709.
19. Letašiová S. et al. (2012) Bladder cancer, a review of the environmental risk factors. *Environ Health*. Jun 28;11 Suppl 1(Suppl 1): S11.
20. King, W.D., Marrett, L.D. (1996) Case-control study of bladder cancer and chlorination by-products in treated water (Ontario, Canada). *Cancer Causes and Control*, 7(6), 596–604.
21. NIH U.S. National Library of Medicine (2019) Compound Summary: Chloroform, Bromodichloromethane, Chlorodibromomethane, Bromoform.
22. Butt, M. S., Sultan, M. T. (2011) Coffee and its Consumption: Benefits and Risks. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(4), 363–373.
23. Pelucchi, C., La Vecchia, C. (2009) Alcohol, coffee, and bladder cancer risk: a review of epidemiological studies. *European Journal of Cancer Prevention*, 18(1), 62–68.
24. Zaghloul, M. S. (2012) Bladder cancer and schistosomiasis. *Journal of the Egyptian National Cancer Institute*, 24(4), 151–159.
25. Preuzeto od WSLH (engl. *Wisconsin State Laboratory of Hygiene*). Dostupno na: <https://www.cdc.gov/dpdx/schistosomiasis/index.html>
26. Witjes, J. A., Hendricksen, K. (2008) Intravesical Pharmacotherapy for Non–Muscle-Invasive Bladder Cancer: A Critical Analysis of Currently Available Drugs, Treatment Schedules, and Long-Term Results. *European Urology*, 53(1), 45–52.
27. Yin, M. et al. (2016) Neoadjuvant Chemotherapy for Muscle-Invasive Bladder Cancer: A Systematic Review and Two-Step Meta-Analysis. *The Oncologist*, 21(6), 708–715.
28. Böhle, A., Brandau, S. (2003) Immune Mechanisms in *Bacillus Calmette-Guerin* Immunotherapy for Superficial Bladder Cancer. *The Journal of Urology*, 170(3), 964–969.

29. Jackson, A.M. et al. (1995) Changes in urinary cytokines and soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in bladder cancer patients after bacillus Calmette-Guérin (BCG) immunotherapy. *Clin Exp Immunol.* 99(3), 369-75.
30. Sylvester, R. J. (2010) Bacillus Calmette-Guérin treatment of non-muscle invasive bladder cancer. *International Journal of Urology*, 18(2), 113–120.
31. Sylvester, R. et al. (2005) Bacillus Calmette-Guerin versus Chemotherapy for the intravesical treatment of patients with carcinoma in situ of the bladder: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. *The Journal of Urology*, 174(1), 86–91.
32. Kaempfer, R. et al. (1996) Prediction of response to treatment in superficial bladder carcinoma through pattern of interleukin-2 gene expression. *Journal of Clinical Oncology*, 14(6), 1778–1786.
33. Chamie, K. et al. (2013) Urologic Diseases in America Project. Recurrence of high-risk bladder cancer: a population-based analysis. *Cancer*. 119(17), 3219-27.
34. Faltas, B.M. et al. (2016) Clonal evolution of chemotherapy-resistant urothelial carcinoma. *Nat Genet.* 48(12), 1490-1499.
35. Alfarouk, K.O. et al. (2015) Resistance to cancer chemotherapy: failure in drug response from ADME to P-gp. *Cancer Cell Int.*
36. Raspollini, M.R. et al. (2023) News in the classification of WHO 2022 bladder tumors. *Pathologica.* 115(1), 32-40.
37. Kamoun, A. et al. (2020) Consensus Molecular Classification of Muscle-invasive Bladder Cancer. *European Urology.* 77, 420-433.
38. Sjö Dahl G. et al. (2013) Toward a molecular pathologic classification of urothelial carcinoma. *American Journal of Pathology.* 183, 681-691.
39. Choi W. et al.. (2014) Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy. *Cancer Cell.* 25, 152-165.
40. Robertson A.G. et al. (2017) Comprehensive Molecular Characterization of Muscle-Invasive Bladder. *Cancer Cell.* 171(25), 540-556.

41. Mo Q. et al. (2018) Prognostic Power of a Tumor Differentiation Gene Signature for Bladder Urothelial Carcinomas. *Journal of the National Cancer Institute*. 110, 448-459.
42. Moore L.E. et al. (2003) P53 alterations in bladder tumors from arsenic and tobacco exposed patients. *Carcinogenesis*. 24, 1785-1791.
43. Tapio S., Grosche B. (2006) Arsenic in the aetiology of cancer. Review. *Mutation Research*. 612, 215-146.
44. Demirel, F. et al. (2008) The association between personal habits and bladder cancer in Turkey. *Int. Urol. Nephrol*. 40, 643–647.
45. Altwein, J.E. (2007) Primary prevention of bladder cancer What's new? *Urologe. A*. 46, 616–621.
46. Cavin, C. et al. (2002) Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. *Food Chem. Toxicol*. 40, 1155–1163.
47. Huber, W.W. et al. (2008) Effects of coffee and its chemopreventive components kahweol and cafestol on cytochrome P450 and sulfotransferase in rat liver. *Food Chem. Toxicol*. 46, 1230–1238.
48. Jacobs, B.L. et al. (2010) Bladder cancer in 2010: how far have we come? *CA Cancer J Clin*. 60(4), 244–72.
49. Mc Conkey, D.J. et al. Molecular genetics of bladder cancer: emerging mechanisms of tumor initiation and progression. *Urol Oncol*. 28(4), 429–40.
50. Wu, XR. (2005) Urothelial tumorigenesis: a tale of divergent pathway. *Nat Rev Cancer*. 5, 713–25.
51. Botelho, M.C. et al. (2010) *Schistosoma hematobium* and bladder cancer. *Virulence*. 1(2), 84–7.
52. Schamhart, D. H. et al. (2000) Urinary cytokines reflecting the immunological response in the urinary bladder to biological response modifiers: their practical use. *Eur Urol, suppl.*, 37.
53. Prescott, S. et al. (1992) Intravesical Evans strain BCG therapy: quantitative immunohistochemical analysis of the immune response within the bladder wall. *J Urol*, 147.

54. Lage, J. M. et al. (1986) Histological parameters and pitfalls in the interpretation of bladder biopsies in bacillus Calmette-Guerin treatment of superficial bladder cancer. J Urol, 135.

55. Thanhäuser, A. et al. (1995) The induction of bacillus-Calmette-Gue´rinactivated killer cells requires the presence of monocytes and T-helper type-1 cells. Cancer Immunol Immunother, 40.

7. Životopis

Rođena sam 07.12.2000. godine u Sinju. Osnovnoškolsko obrazovanje završavam u OŠ Ivana Lovrića u Sinju 2014. godine, a srednjoškolsko obrazovanje završavam u Gimnaziji Dinka Šimunovića u Sinju 2019. godine. Iste godine upisujem integrirani preddiplomski i diplomski studij Biologije i kemije Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Akademske godine 2020./2021. prebacujem se na preddiplomski studij Molekularne biologije na istom odsjeku. Od stranih jezika koristim se engleskim i talijanskim jezikom. Zbog uzornog vladanja i vrlo dobrog prosjeka primam stipendiju grada Sinja. Svoj rad i učenje u budućnosti bih htjela usmjeriti prema biomedicini i mikrobiologiji.