Kromosomske aberacije i rak

Leko, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2012

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:080239

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Kromosomske aberacije i rak

Chromosomal aberrations and cancer

SEMINARSKI RAD

Petra Leko

Preddiplomski studij molekularne biologije

Undergraduate Study of Biology

Mentor: prof. dr. sc. Mirjana Pavlica

Zagreb, 2012.

Sadržaj

1. Uvod 3
2. Kromosomske aberacije u stanicama raka 4
   2.1. Balansirane kromosomske aberacije 5
      a) Fuzija gena 5
      b) Deregulacija ekspresije strukturno normalnih gena 8
   2.2. Nebalansirane kromosomske aberacije 10
      a) Dobitak genetičkog materijala 10
      b) Gubitak genetičkog materijala 11
3. Kako nastaje rak 14
   3.1. Mutacije koje povećavaju preživljavanje (sprječavaju apoptozu) 17
   3.2. Mutacije koje ubrzavaju proliferaciju 18
   3.3. Genetička nestabilnost 19
   3.4. Indukcija angiogeneze 19
   3.5. Invazivnost i metastaziranje 19
4. Zaključak 20
5. Literatura 21
6. Sažetak 22
7. Summary 22

1. Uvod

Oko 7,6 milijuna ljudi umrlo je od raka u 2008. godini, a 12,7 milijuna ljudi je iste godine dijagnosticirana ova teška bolest. Očekuje se da će smrtnost od raka i dalje samo rasti te da će 2030. godine oko 13,1 milijuna ljudi umrijeti od te bolesti (http://www.who.int/cancer/en/). Stoga ne čudi da je posljednjih godina veliki broj istraživanja usmjeren prema otkrivanju osnovnih značajki stanica raka i načinu na koji one djeluju na organizam. Kako postoji više od 200 vrsta tumorskih bolesti, svaka s različitim uzrocima i simptomima, bilo je potrebno povezati i objasniti sve poznate parametre i ponuditi logično objašnjenje takvoj raznolikosti (http://info.cancerresearchuk.org).

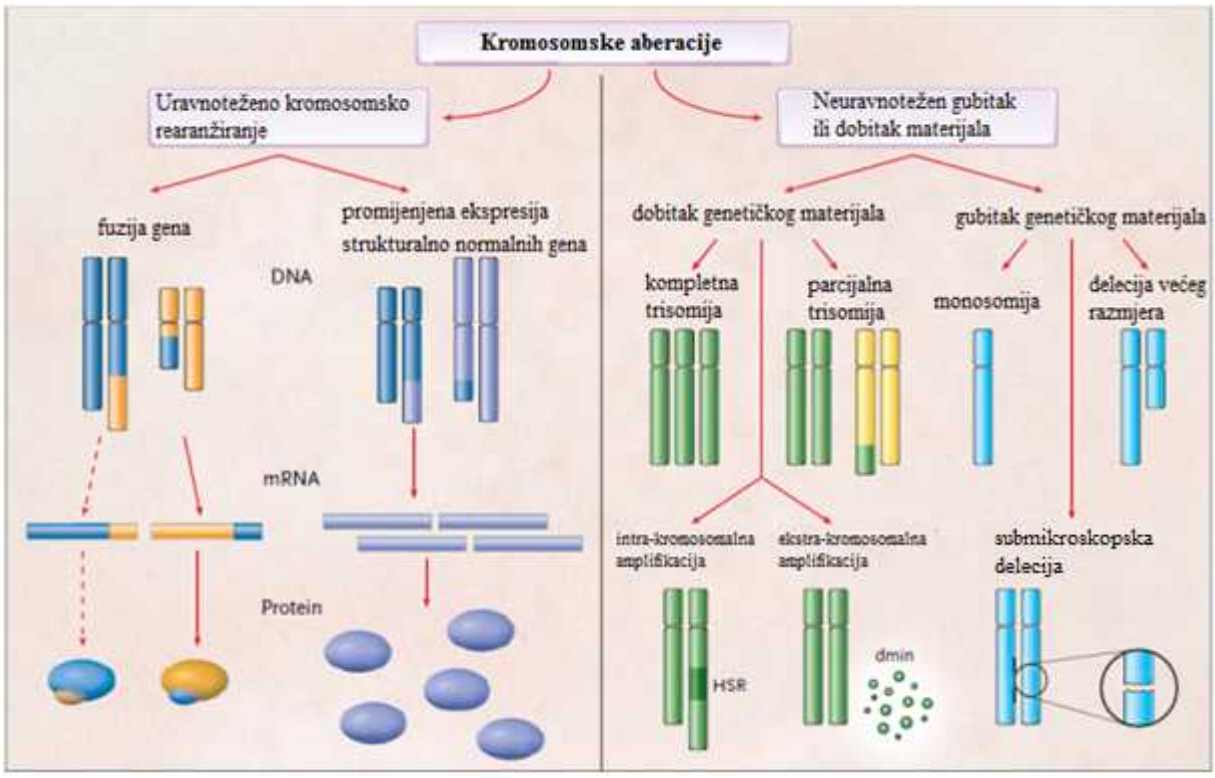
Posljednjih 50 godina medicinska istraživanja su postigla nevjerojatan napredak u razumijevanju kako naše tijelo funkcionira, što je znatno pomoglo u dijagnosticiranju i liječenju raka. Rak je danas prepoznat kao raznovrstan skup bolesti čiji su razvoj i inicijacija potaknuti aberantnim funkcijama gena koji reguliraju stabilnost genoma, popravak DNA oštećenja, staničnu proliferaciju, smrt stanice, angiogenezu, invazivnost, metastaziranje i dr. Od 25000 gena u ljudskom tijelu više od 1%, odnosno 350 gena, je povezano s razvojem raka. Mnogi od tih gena imaju sličan ili identičan učinak na stanicu, ali proces koji dovodi do toga je općenito drugačiji za svaku vrstu raka (Kufe i sur., 2007).

Od otkrića prve kromosomske aberacije u raku – tzv. ,,Philadelphia kromosoma¨ (1960. otkrio P. Nowell) vezanog uz kroničnu mijeloičnu leukemiju, do danas je zabilježeno više od 48000 različitih aberacija u ljudskim tumorima (Lobo, 2008). Analiza i razumijevanje funkcionalnih posljedica aberacija dovele su do novih saznanja i odgovora na mnoga pitanja o mehanizmima nastanka raka. U mnogim slučajevima to je dovelo i do razvitka specifičnih tretmana liječenja koji su usmjereni na promijenjene gene ili njihove proteine. Neki od tih tretmana pokazali su se izuzetno uspješni čime je važnost razumijevanja kromosomskih aberacija postala neophodna (Kufe i sur., 2007).

2. Kromosomske aberacije u stanicama raka

Kromosomske aberacije su jedna od glavnih karakteristika stanica raka. Dokazano je da kromosomske aberacije mogu biti i rani pokazatelj povećanog rizika obolijevanja od raka. Do danas su kromosomske aberacije pronađene u skoro svim tipovima raka, iako se za većinu tih aberacija uzrok ne može objasniti. Zna se da su kod nekih tipova leukemija, npr. akutne mijeloične leukemije (AML) i akutne mijelodisplazije (MDS), kromosomski poremećaji uzrokovani nekim okolišnim čimbenicima (naročito kod profesionalne izloženosti) te terapijama sa citotoksičnim lijekovima (Boffetta i van der Hel, 2007).

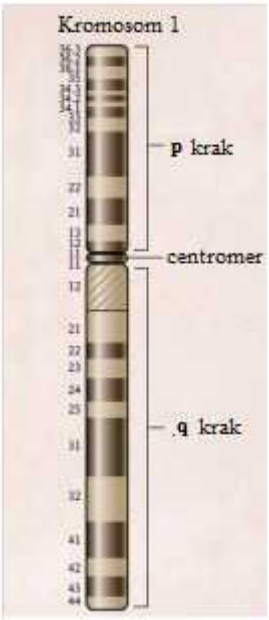
Kromosomske aberacije se mogu podijeliti na balansirane i nebalansirane (gubitak ili dobitak genskog materijala) (Sl.1.) (Fröhling i Döhner, 2008).



Slika 1. Kromosomske aberacije koje se javljaju u stanicama raka (izvor :Fröhling i Döhner, 2008)

2.1. Balansirane kromosomske aberacije

Recipročne translokacije, inverzije i insercije su tipične za balansirano (uravnoteženo) kromosomsko rearanžiranje. U balansiranim aberacijama se ne gube geni, ali se njihova ekspresija mijenja. Kako svaki kromosom (nakon bojanja) ima specifičan uzorak svijetlih i tamnih pruga (Sl.2.) kromosomske nepravilnosti se mogu vrlo lako identificirati, a time i vrlo lako analizirati nastala mutacija. Balansirane aberacije se mogu, u smislu funkcionalnih posljedica, podijeliti u dvije kategorije: u aberacije koje rezultiraju formiranjem kimernih proteina (fuzijom gena) s novom ili promijenjenom aktivnosti i kromosomske promjene koje vode promijenjenoj ekspresiji strukturno normalnih gena (Sl.1.). Neki od primjera balansiranih kromosomskih aberacija navedeni su u Tablici 1. (Fröhling i Döhner,2008).



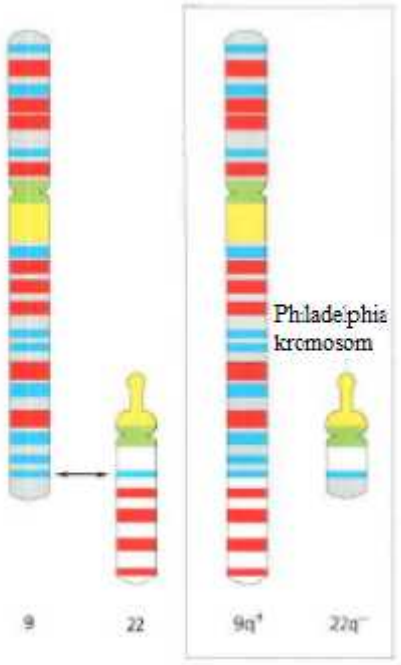
Slika 2. Struktura ljudskog kromosoma 1 vidljiva nakon specifičnog bojanja (oprugavanja) kromosoma (izvor :Fröhling i Döhner, 2008)

a) Fuzija gena

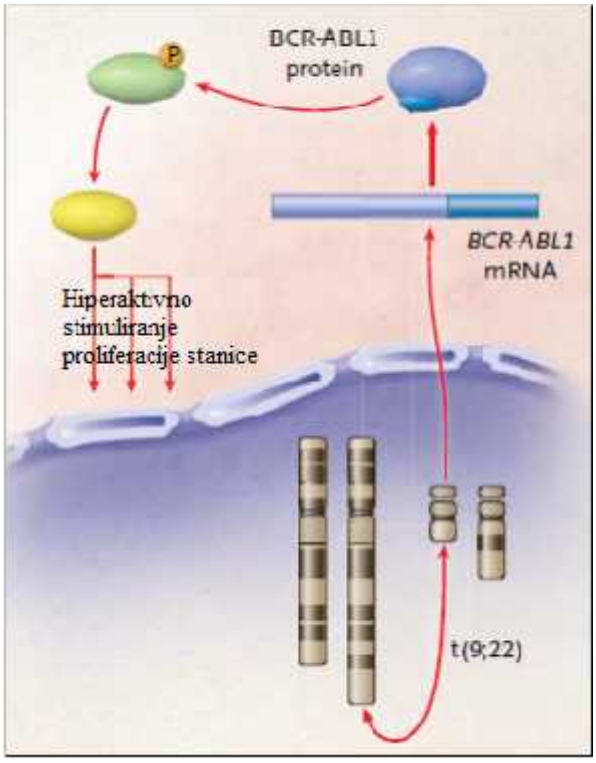
Većina poznatih kromosomskih aberacija u stanicama raka nastaju fuzijom dvaju gena. Jedan od tih gena kodira za nasumičan protein, dok drugi gotovo uvijek kodira ili za tirozin kinazu ili za neki transkripcijski faktor.

Klasičan primjer fuzije gena tirozin kinaze je Philadelphia kromosom. To je translokacija dijela dugog (q) kraka kromosoma 22 na dugi krak kromosoma 9: -t(9;22)

(q34.1;q11.23) (Sl.3.) u kojoj je *BCR* gen (22q11.23) fuzioniran s dijelom gena za ABL1 tirozin kinazu (9q34.1). BCR-ABL1 kimerni protein ima katalitičku domenu ABL1 tirozin kinaze, a na N-terminalnom kraju je BCR koji posreduje konstitutivnoj oligomerizaciji, tj. hiperaktivno stimulira proliferaciju stanice (Sl.4.). Takva translokacija je specifična za kroničnu mijeloičnu leukemiju (CML), a rezultat mutacije je nakupljanje bijelih krvnih stanica koje ne funkcioniraju pravilno (Fröhling i Döhner,2008). Samo otkriće Philadelphia kromosoma i razumijevanje molekularne osnove translokacije, dovelo je do ideje kako bi se u liječenju CML-a protein BCR-ABL1 trebao inhibirati. Na temelju mnogobrojnih istraživanja razvijen je lijek ,,Gleevec" koji veže tirozin kinazu na veznom mjestu za ATP što onemogućuje aktivnost proteina. Inhibitor je bio uspješan u 80% slučajeva i uveo je revoluciju u liječenju na temelju genetičkih nestabilnosti stanica raka. Genetička nestabilnost s druge strane pomaže stanicama raka da postupno postanu otporne na terapiju, pa svake godine otpornost na ,,Gleevec" raste 5%. Stoga su razvijeni lijekovi inhibitori druge generacije kao što su ,,Dasatinib" i ,,Nilotinib" (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2169263/). Ova opažanja naglašavaju važnost analize kromosoma kao vodiča za razvoj novih lijekova protiv raka (Alberts i sur.,2007.).

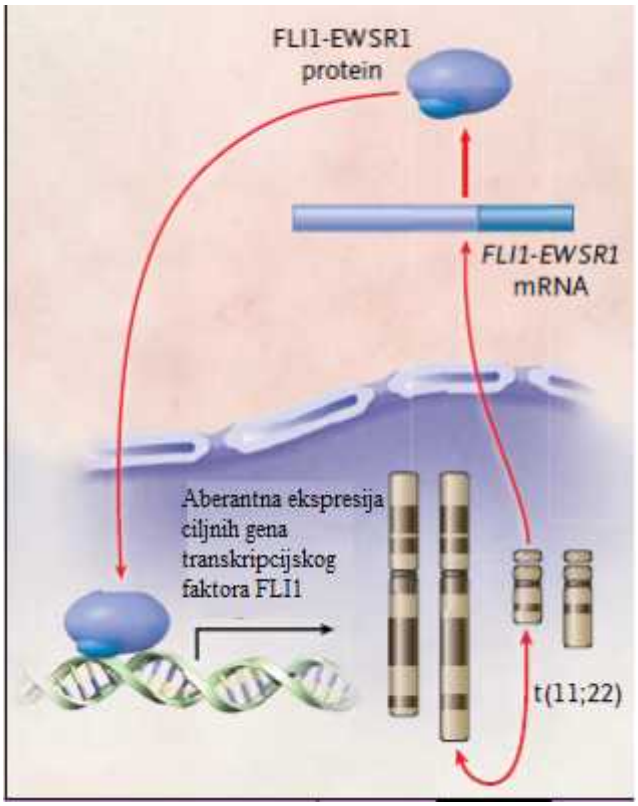


Slika 3. Translokacija t(9;22)(q34.1;q11,23) (Alberts i sur.,2007.)



Slika 4. BCR-ABL1 kimerni protein (izvor :Fröhling i Döhner, 2008)

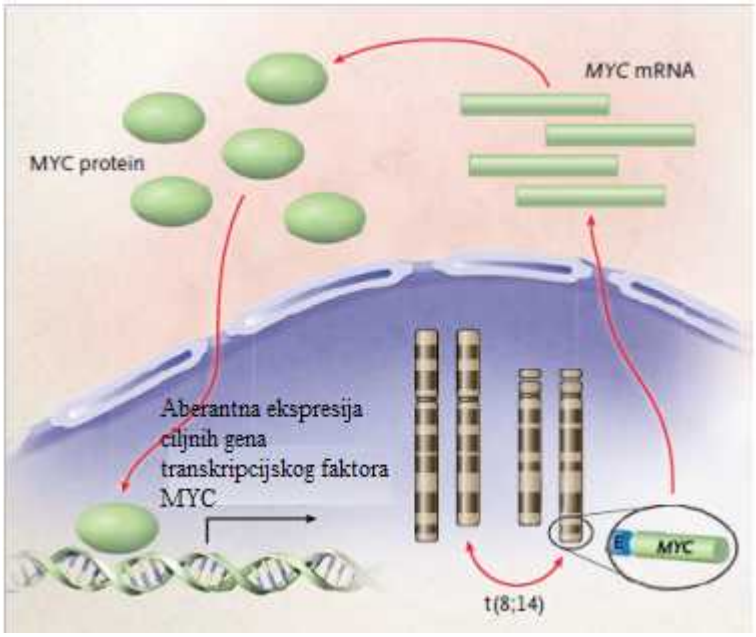
Rearanžiranje kromosoma koje rezultira fuzijom gena za transkripcijske faktore najbolje je objašnjeno primjerom Ewingova sarkoma. U gotovo svim slučajevima Ewingova sarkoma postoji translokacija gena *EWSR1* s 22. kromosoma (22q12.2) na gen za transkripcijski faktor ETS obitelji , *FLI1* (85% pacijenata) na 11. kromosomu – t(11;22)(q24.1-q24.3;q12.2) ili *ERG* (10% pacijenata) na 21. kromosomu - t(21;22)(q22.3;q12.2). Kimerni transkripcijski faktor ima normalnu DNA veznu domenu, dok dio gena *EWSR1* inducira prekomjernu ekspresiju gena koje inače regulira *FLI1* (Sl.5.) (Fröhling i Döhner, 2008). Takva aberantna ekspresija znatno posreduje rastu tumora. U liječenju ove bolesti nisu se pokazali učinkoviti inhibitori transkripcijskih faktora, stoga se i dalje intenzivno traga za specifičnim lijekom (http://www.medicinabih.info/2011/05/23/ewingov-sarkom/).



Slika 5. FLI1-EWSR1 kimerni protein (izvor :Fröhling i Döhner, 2008)

b) Deregulacija ekspresije strukturno normalnih gena

Rearanžiranje kromosoma koje postavlja tkivno specifične regulatorne elemente (kao što su promotori ili pojačivači) u blizinu sekvence proto-onkogena, deregulira ekspresiju tog proto-onkogena. Burkitt-ov limfom je primjer recipročne translokacije u kojoj pojačivači gena za imunoglobulin (*IGHG1* (14q32.33) / *IGKC* (2p12) / *IGLC1* (22q11.2)) pojačavaju transkripciju gena *MYC* (8q24.21). Protein MYC je transkripcijski faktor čija prekomjerna ekspresija dovodi do prekomjerne ekspresije drugih gena vezanih za proliferaciju (Sl.6.), (Fröhling i Döhner, 2008). MYC nije pogodna meta za lijekove zbog nedostatka dobrog veznog mjesta, stoga se najnovija istraživanja fokusiraju na onemogućavanje funkcije nekih pomoćnih gena (http://en.wikipedia.org/wiki/Myc).



Slika 6. Prekomjerna ekspresija gena *MYC* (izvor :Fröhling i Döhner, 2008)

Tablica 1. Odabrani primjeri balansiranog kromosomskog rearanžiranja , bolesti koje izazivaju i terapija za njihovo liječenje (izvor: Fröhling i Döhner, 2008)

Balansirano kromosomsko rearanžiranje

Genetička promjena	Fuzija gena	Bolest	Terapija
Formiranje kimernih proteina (fuzijom gena)			
koji uključuje tirozin kinazu			
inv(2)(p22-p21p23)	*EML4-ALK*	Mikrocelularni rak pluća	
t(2;5)(p23;q35)	*ALK-NPM1*	Anaplastični velikostanični limfom	
t(4;14)(p16.3;q32.33)	*WHSC1-IGHG1*	Višestruki mijelom	
del(4)(q12q12)	*FIP1L1-PDGFRA*	Mijeloična neoplazma povezana s eozinofilijom	Imatinib
t(5;12)(q31-q32;p13)	*PDGFRB-ETV6*	Mijeloična neoplazma povezana s eozinofilijom	Imatinib
t(9;22)(q34.1;q11.23)	*BCR-ABL1*	Kronična mijeloična leukemija, akutna mijeloična leukemija, akutna limfocitna leukemija	Imatinib , dasatinib, nilotinib
episome(9q34.1)	*NUP214-ABL1*	Akutna limfocitna leukemija	Imatinib
inv(10)(q11.2q11.2)	*RET-NCOA4*	Bradavičast rak štitnjače	
inv(10)(q11.2q21)	*RET-CCDC6*	Bradavičast rak štitnjače	
t(12;15)(p13;q25)	*ETV6-NTRK3*	Razne vrste raka	
koji uključuje transkripcijski faktor			
t(1;22)(p13;q13)	*RBM15-MKL1*	Akutna megakariocitna leukemija	
t(2;3)(q12-q14;p25)	*PAX8-PPARG*	Folikularni rak štitnjače	
t(7;11)(p15-p14;p15.5)	*NUP98-HOXA9*	Mijelodisplastični sindrom, akutna mijeloična leukemija	
t(8;21)(q22;q22.3)	*RUNX1-RUNX1T1*	Akutna mijeloična leukemija	
t(9;11)(p22;q23)	*MLL-MLLT3*	Akutna mijeloična leukemija	
t(11;22)(q24.1-q24.3;q12.2)	*FLI1-EWSR1*	Ewingov sarkom	
t(12;21)(p13;q22.3)	*ETV6-RUNX1*	Akutna limfocitna leukemija	
t(15;17)(q22;q21)	*PML-RARA*	Akutna promijeloična leukemija	Sve trans retinoične kiseline, arsen trioksid
inv(16)(p13.11q22.1)	*CBFB-MYH11*	Akutna mijeloična leukemija	
t(21;22)(q22.3;q12.2)	*ERG-EWSR1*	Ewingov sarkom	
Promijenjena ekspresija strukturalno normalnih gena			
t(8;14)(q24.21;q32.33)	*MYC-IGHG1*	Burkitt-ova limfom	
t(11;14)(q13;q32.33)	*CCND1-IGHG1*	Mantle-cell limfom	
t(12;13)(p13;q12.3)	*ETV6-CDX2*	Akutna mijeloična leukemija	
t(14;18)(q32.33;q21.3)	*IGHG1-BCL2*	Folikularna limfom	
del(21)(q22.3q22.3)	*TMPRSS2-ERG*	Rak prostate	

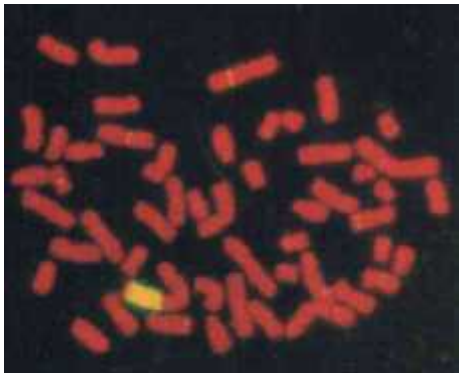
t = translokacija, del = delecija, inv = inverzija, episome = amplifikacija u obliku ekstra-kromosomalnih elemenata
Kromosomska lokalizacija je u skladu s podacima mapiranja genoma iz National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview)

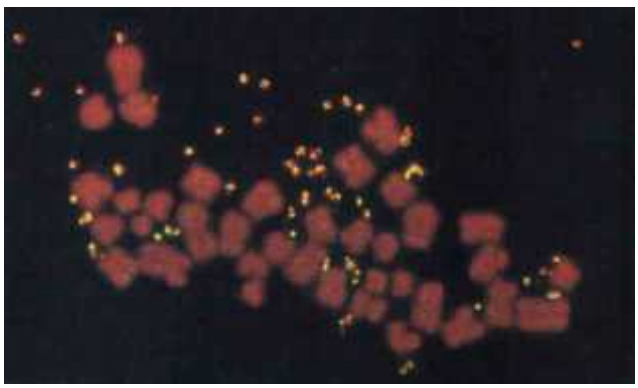
2.2. Nebalansirane kromosomske aberacije

Najvažnija podjela nebalansiranih kromosomskih aberacija je na aberacije s gubitkom i aberacije s dobitkom (viškom) genetičkog materijala, a obuhvaća cijele kromosome, ali i intragenske duplikacije i delecije (Sl.1.). Za razliku od balansiranih, nebalansirane aberacije imaju funkcionalne posljedice koje su uglavnom nepoznate i to zato što većina nebalansiranih aberacija zahvaća velike regije koje sadrže više gena. Određivanje upletenosti svakog od tih gena postaje znatno teže, a ne pomaže niti činjenica da većina tumora ima i po nekoliko različitih nebalansiranih aberacija. Neki od tih gena su poznati, te su prikazani u Tablici 2. (Fröhling i Döhner,2008).

a) Dobitak genetičkog materijala

Dobitci genetičkog materijala mogu se podijeliti na one velikog razmjera kao što su trisomija, parcijalna trisomija i amplifikacije segmenata različite dužine, te na one manjeg razmjera koje uključuju malu regiju kromosoma ili samo jedan gen. Za sada su najbolje proučeni geni koji su višak genetičkog materijala dobili amplifikacijom (Fröhling i Döhner, 2008). Kako je riječ o pojačanoj ekspresiji pojedinih gena (tzv. proto-onkogena) bilo ih je lako pratiti. Jedan od dobrih primjera je ranije spomenuti transkripcijski faktor *MYC* i to zato što se on može amplificirati unutar istog kromosoma (intra-kromosomski) (Sl.7.) i izvan kromosoma (ekstra-kromosomski) (Sl.8.) u obliku tzv. dvostrukih minuta (engl. double minute). Kromosomi dvostruke minute nastaju kao rezultat aberantne replikacije u obliku cirkularnih fragmenata DNA koji sadrže amplificirani gen, a mogu se i ponovno integrirati na novo mjesto u kromosomu. Analiza gena koji su često amplificirani u tumorima ima veliki potencijal u razvoju novih lijekova (http://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11921281).





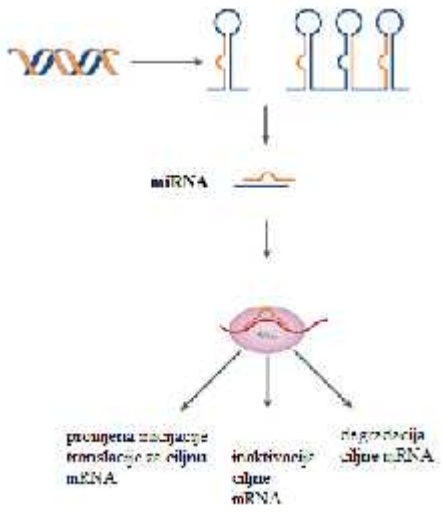
Slika 7. Intra- kromosomska amplifikacija gena *MYC* (žuti signal) (Alberts i sur.,2007)

Slika 8. Ekstra-kromosomska amplifikacija gena *MYC* (dvostruke minute - žuti signal) (Alberts i sur.,2007)

b) Gubitak genetičkog materijala

Gubitci genetičkog materijala se također mogu podijeliti na one velikog razmjera kao što su kompletna ili parcijalna monosomija, te na one manjeg razmjera kao što su delecije gena ili intra-genske regije. Kako je riječ o smanjenoj ekspresiji gena, znatno je teže obnoviti funkciju zahvaćenog gena, za razliku od relativno jednostavne inhibicije aktivnosti kod prekomjerne ekspresije gena. Do sada je još uvijek najučinkovitija klasična metoda identifikacije ovakvih promjena, ona u kojoj se citološki uspoređuju različiti tumori sa specifičnim delecijama, te se među njima determinira najmanja izgubljena regija. Budući da navedena metoda ponekad nije najbolje rješenje, mnogi tumor supresorski geni još su uvijek nepoznati (Fröhling i Döhner, 2008).

Posebna vrsta gubitka genetičkog materijala vezana uz rak je inaktivacija nekodirajuće regije. Riječ je o malim, tj. mikro-RNA molekulama (miRNA). Mikro-RNA su uključene u post-transkripcijsku regulaciju nekih mRNA (Sl.9.), te postoji sve više dokaza koji upućuju na to da mikro-RNA imaju aktivnost supresora razvitka tumora. Jedan od dokaza su nekodirajući segmenti MIRN15A i MIRN16-1 (13q14.3). Pokazalo se da ti segmenti negativno reguliraju antiapoptotički protein BCL2. Delecija tih segmenata se pojavljuje u 50% slučajeva kronične limfocitne leukemije. Mnogo nekodirajućih sekvenci kromosoma je često deletirano u stanicama raka. Sve upućuje na to da će te sekvence vjerojatno otkriti nove tumor supresor mikro-RNA (Fröhling i Döhner, 2008).



Slika 9. Nastanak i djelovanje micro-RNA

(http://www.nature.com/nrc/journal/v7/n11/fig_tab/nrc2232_F1.html)

Tablica 2. Odabrani primjeri nebalansiranih kromosomskih aberacija, bolesti koje izazivaju i terapija za njihovo liječenje (izvor: Fröhling i Döhner, 2008)

Nebalansirane kromosomske aberacije

Genetička promjena	Geni	Bolest	Terapija
Dobitak genetičkog materijala			
Nepoznati geni			
+1q	?	Razne vrste raka	
+7	?	Astrocitom, Glioblastom	
+8	?	Mijelodisplastični sindrom, akutna mijeloična leukemija	
+12	?	Kronična limfocitna leukemija	
+12p	?	Tumori zametnih stanica testisa	
+17q	?	Razne vrste raka	
Poznati geni			
amp(1)(q32.1)	IKBKE	Rak dojke	
amp(2)(p24.1)	MYCN	Neuroblastom	
amp(3)(p14.2-p14.1)	MITF	Maligni melanom	
dup(6)(q22-q23)	MYB	Akutna limfocitna leukemija	
amp(6)(q25.1)	ESR1	Rak dojke	Tamoxifen
amp(7)(p12)	EGFR	Razne vrste raka	Cetuximab, panitumumab, gefitinib, erlotinib
amp(7)(q31)	MET	Razne vrste raka	
amp(8)(q24.21)	MYC	Razne vrste raka	
+9p	JAK2	Policitemija vera	
amp(11)(q13)	CCND1	Razne vrste raka	
amp(11)(q13-q22)	*YAP1*, *BIRC2*	Hepatocelularni karcinom	
amp(12)(p12.1)	KRAS	Razne vrste raka	
amp(13)(q12.3)	CDX2	Akutna mijeloična leukemija	
amp(14)(q13)	NKX2-1	Mikrocelularni rak pluća	
amp(17)(q21.1)	ERBB2	Razne vrste raka	Trastuzumab, lapatinib
amp(21)(q22.3)	ERG	Akutna mijeloična leukemija	

amp = amplifikacija, dup = duplikacija

Kromosomska lokalizacija je u skladu s podacima mapiranja genoma iz National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview)

Tablica 2. Nastavak

Nebalansirane kromosomske aberacije

Genetička promjena	Geni	Bolest	Terapija
Gubitak genetičkog materijala			
Nepoznati geni			
del(1p)	?	Neuroblastoma, Anaplastični oligodendrogliom	
del(3p)	?	Razne vrste raka	
del(5q)	?	Mijelodisplastični sindrom, akutna mijeloična leukemija	
del(6q)	?	Razne vrste raka	
del(7q)	?	Mijelodisplastični sindrom, akutna mijeloična leukemija	
del(11q)	?	Razne vrste raka	
del(19q)	?	Anaplastični oligodendrogliom	
del(20q)	?	Policitemija vera, mijelodisplastični sindrom, akutna mijeloična leukemija	
Poznati geni			
del(3p26-p25)	VHL	Rak mrežnice oka	
del(4)(q12)	REST	Rak crijeva	
del(5)(q21-q22)	APC	Rak crijeva	
del(5)(q32)	RPS14	Mijelodisplastični sindrom (poznat i kao 5q minus sindrom)	Lenalidomide
del(7)(p13-p11.1)	IKZF1	*BCR-ABL1 –pozitivna* akutna limfocitna leukemija	
del(9)(p13)	PAX5	Akutna limfocitna leukemija	
del(9)(p21)	CDKN2A/CDKN2B	Razne vrste raka	
del(10)(q23.3)	PTEN	Razne vrste raka	Sirolimus
del(11)(q22-q23)	ATM	Razne vrste raka	
del(12)(p13)	ETV6	Akutna mijeloična leukemija, akutna limfocitna leukemija	
del(13)(q14.2)	RB1	Retinoblastoma	
del(17)(p13.1)	TP53	Razne vrste raka	
del(17)(q11.2)	NF1	Razne vrste raka	
del(X)(q11.1)	FAM123B	Wilimov tumor	

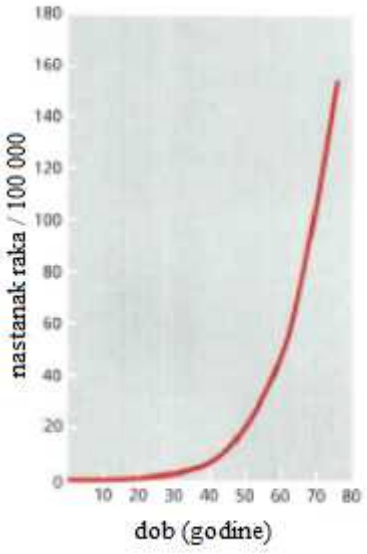
del = delecija
Kromosomska lokalizacija je u skladu s podacima mapiranja genoma iz National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview)

Za razumijevanje načina na koji kromosomske aberacije utječu na razvoj raka i zašto su one uopće rani pokazatelj povećanog rizika obolijevanja od raka, potrebno je shvatiti mehanizam nastanka te bolesti.

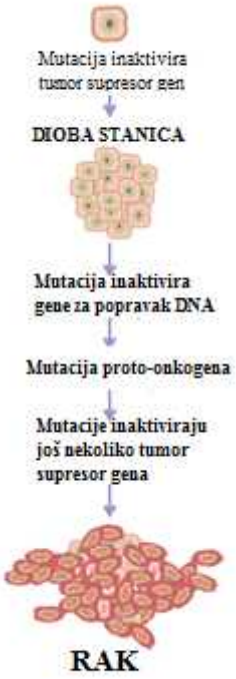
3. Kako nastaje rak

Tijelo višestaničnog organizma funkcionira kao ekosistem, čijeg svakog pojedinačnog člana (tkivo ili organ) čine stanice. Sve stanice se organiziraju i djeluju zajedno kako bi podupirale razvitak spolnih stanica koje jedine imaju šansu prijenosa gena na slijedeću generaciju te tako preživjeti. Zbog toga je žrtvovanje pojedinačnih stanica pravilo, što znači da su sve tjelesne stanice kad-tad osuđene na smrt. Stanice mogu primati, slati i interpretirati niz različitih signala kako bi se postigla koordinacija i normalna funkcija organizma. Kao rezultat signala stanice se dijele, miruju, rastu, diferenciraju ili umiru, odnosno djeluju na dobrobit organizma. Stanice raka ne poštuju osnovna pravila staničnog ponašanja po kojima se grade i održavaju višestanični organizmi. Takve stanice dobivaju neku selektivnu prednost, neke nove aberantne osobine koje im omogućavaju preživljavanje. Rak je zapravo bolest u kojoj se individualna mutirana stanica dijeli i napreduje na račun susjednih stanica, što dovodi do toga da njezini potomci unište cijelu staničnu organizaciju (Alberts i sur., 2007).

Samo jedna mutacija nije dovoljna kako bi se razvio rak. Mutacije se spontano, bez mutagena, u ljudskom tijelu događaju s frekvencijom od oko 10^{-6} (jedna mutacija po genu po diobi stanice), a u prosječnom životnom vijeku organizma dogodi se 10^{16} diobi stanica. To bi značilo da u prosječnom životnom vijeku jedan gen prođe mutaciju u 10^{10} različitih prilika. Kada bi samo jedna mutacija u stanici bila dovoljna za njezinu transformaciju i razvitak raka, ta bi se bolest pojavljivala u bilo kojoj dobi života te takav organizam ne bi bio održiv. Razvoj raka ipak zahtjeva veliki broj neovisnih i nasumičnih mutacija u jednoj staničnoj liniji (Sl.11.) što se vidi i u ovisnosti nastanka raka o starosti organizma (Sl.10.) (Alberts i sur., 2007).



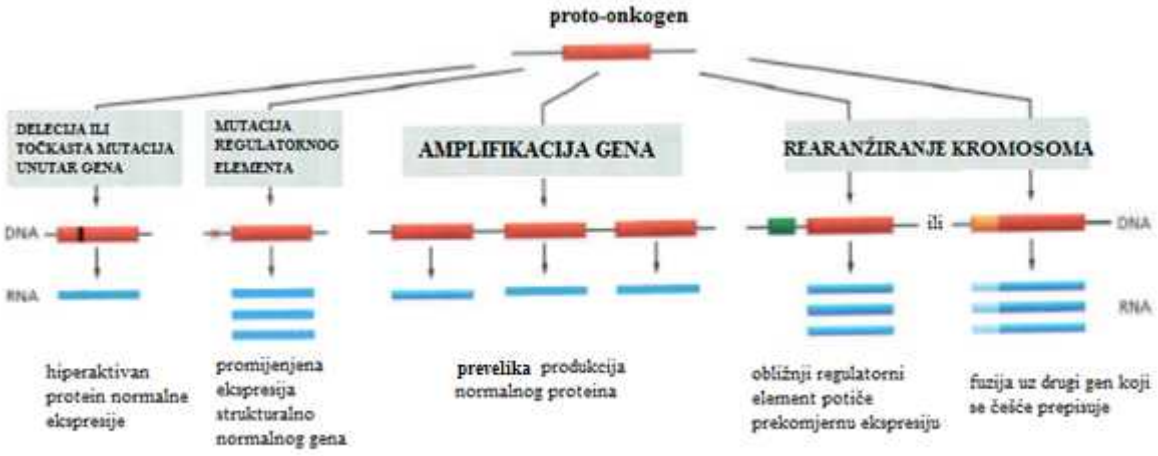
Slika 10. Prikaz ovisnosti nastanka raka debelog crijeva o godinama (Alberts i sur., 2007)



Slika 11. Prikaz nastanka raka (http://en.wikipedia.org/wiki/Cancer)

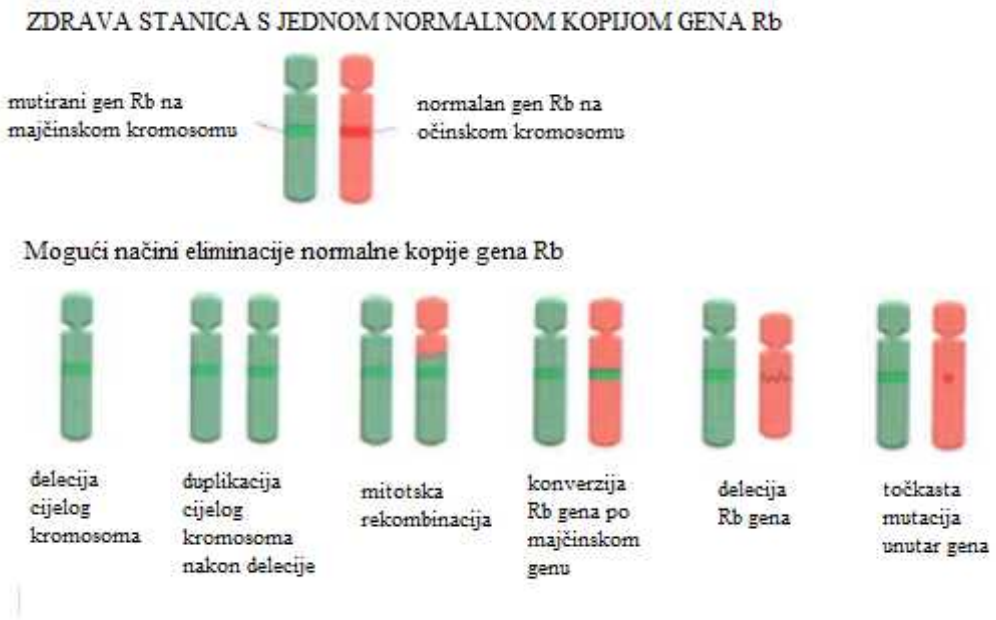
Promjene u DNA koje vode do nastanka raka mogu biti genetičke (promjena u u sekvenci DNA) i/ili epigenetičke (promjena u ekspresiji gena). Stanice raka imaju mnoge aberantne osobine koje se u različitim tipovima raka pojavljuju u različitim kombinacijama. Te aberantne osobine uključuju: samodostatnost (neovisne su o okolnim stanicama), ubrzanu proliferaciju neovisnu o signalima, manju sklonost apoptozi, stabilizaciju telomera, defekt u kontrolnom mehanizmu koji zaustavlja diobu kao odgovor na stres (hipoksija, oštećenje DNA--itd.), genetičku nestabilnost, invazivnost i metastaziranje, indukciju angiogeneze, te korištenje okolnog vezivnog tkiva. Iako je teško odrediti koji gen (odnosno geni) uzrokuje neku aberantnu osobinu otkriveni su mnogi geni koji su često promijenjeni u stanicama raka. Te gene dijelimo u dvije kategorije ovisno o tome dolazi li do raka uz preveliku ili premalu aktivnost njihovih produkta. Ako dolazi do raka zbog prevelike ekspresije gena (engl. gain-of-function), takav gen se naziva proto-onkogen, a njegov mutirani oblik se naziva onkogen. Ako pak do raka dolazi zbog premale ekspresije gena (engl. loss-of-function), takav gen se naziva tumor supresorski gen. Kako je onkogen dominantan potrebna je samo jedna mutacija

kako bi osobina bila vidljiva (Sl.12.), dok su kod tumor supresor gena potrebne dvije mutacije



(na obje kopije gena) (Sl.13.) (Alberts i sur., 2007).

Slika 12. Prikaz mogućih mutacija proto-onkogena i posljedice takvih mutacija (Alberts i sur., 2007)



Slika 13. Prikaz mogućih mutacija drugog alela tumor supresor gena, u slučaju gena Rb (Alberts i sur., 2007)

Nimalo ne začuđuje da su ti kritični geni komponente većih signalnih putova (geni za signalne proteine, transmembranske receptore, transkripcijske faktore, protein kinaze,

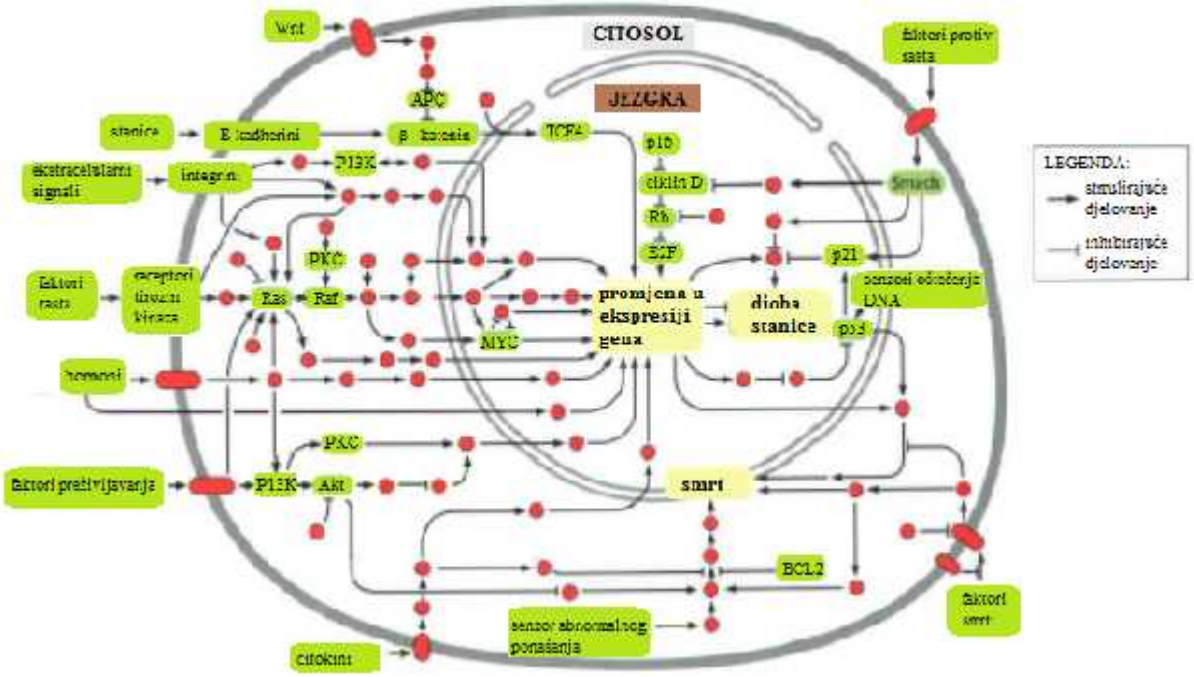
proteine regulatore gena i dr.) koji reguliraju staničnu proliferaciju, diferencijaciju, rast, smrt i dr. (Sl.14.). To su upravo osobine koje stanica mora steći kako bi se razvila bolest rak. U daljnjem tekstu prikazano je nekoliko najčešćih primjera pomoću kojih su, na molekularnoj razini stanice raka stekle te osobine.

3.1. Mutacije koje povećavaju preživljavanje (sprječavaju apoptozu)

Mnoge normalne ljudske stanice imaju limitiran broj mogućih diobi. Broj staničnih dioba ovisi o progresivnom skraćivanju telomernih sekvenci na krajevima kromosoma. Kako se krajevi kromosoma prilikom replikacije ne mogu do kraja replicirati, telomere su te koje štite gene od skraćivanja. Nakon određenog broja diobi telomere se potpuno skrate i oštećuju se geni, što šalje signal stanici da prekine stanični ciklus i daljnju proliferaciju. Stanice raka moraju zaobići tu barijeru, jer u protivnom ne bi imale kapacitet stvoriti velike tumore. Jedan od načina je da stanice mutacijom ponovno dobiju telomeraznu aktivnost. Telomeraza je enzim (reverzna transkriptaza, odnosno RNA-ovisna DNA-polimeraza) koji produžuje krajeve kromosoma, tj. održava telomere. Kada je telomeraza aktivna, stanice se neograničeno dijele, te imaju dugačak vijek što im samo po sebi daje dovoljno vremena da nakupe potrebne mutacije za razvoj tumora.

Drugi način je da se dogodi mutacija koja inaktivira signalni put tumor supresorskog gena *p53*, a njegov produkt, protein p53, služi kao senzor za veća oštećenja DNA (npr. potpuno skraćivanje telomera, lomove kromosoma itd.), hipoksiju, te hiper proliferaciju. U normalnim uvjetima p53 se u stanicama nalazi u vrlo maloj koncentraciji zato što se jako brzo degradira, ali u slučaju navedenih oštećenja blokira se njegova proteoliza te se on nakuplja u stanici i djeluje kao regulator ekspresije gena. Regulacija ekspresije gena odvija se vezanjem proteina p53 za DNA te tako može potaknuti ekspresiju apoptotičkih gena ili se p53 može vezati za antiapoptotički protein BCL2 i inhibirati ga. Uz to što može potaknuti apoptozu, u slučaju manjeg oštećenja, p53 može i zaustaviti stanični ciklus što stanici omogućava da popravi oštećenje. To čini tako da inducira transkripciju gena za protein p21 koji blokira kinaznu aktivnost ciklin-ovisne kinaze što onemogućava nastavak replikacije zato što stanica ne može ući u S fazu ciklusa (Sl.14.). Kada se mutacija dogodi u DNA-veznoj domeni proteina on ne može obaviti svoju funkciju, te takva stanica lako razvije rak zato što može izbjeći programiranu staničnu smrt, relativno je otporna na lijekove protiv raka (jer može izbjeći smrt), omogućava prolaz kroz stanični ciklus unatoč velikim oštećenjima DNA, te

samim time uvodi genetičku nestabilnost. Iz toga je lako zaključiti kako je gubitak p53 jako opasan i nije začuđujuće da je signalni put p53 inaktiviran u gotovo svim slučajevima



ljudskog raka (Alberts i sur., 2007).

Slika 14. Prikaz važnijih signalnih putova sa označenim kritičnim genima za razvitak raka (Alberts i sur., 2007)

3.2. Mutacije koje ubrzavaju proliferaciju

Proliferacija se može ubrzati uz protein Rb (tumor supresorski protein) koji je regulator staničnog ciklusa (Sl.14.). U normalnim stanicama Rb protein koči prolazak stanice u S fazu. Djeluje tako da se veže za protein E2F (regulator ekspresije gena) što onemogućuje transkripciju gena za ulazak u S fazu ciklusa. Stanice raka ili uopće nemaju protein Rb ili su inaktivirale gen *p16* koji u normalnim stanicama sprječava inaktivaciju proteina Rb (p16 svojim vezanjem za ciklinD i ciklin-ovisnu kinazu sprječava fosforilaciju proteina Rb). Takve mutacija se najčešće nalaze kod raka pluća, dojki i mjehura (Alberts i sur., 2007).

Mutacija proto-onkogena *Ras* također stimulira proliferaciju stanica. Ras protein je GTPaza koja prima signale staničnih receptora i šalje ih dalje uz hidrolizu GTPa. Mutirani Ras se ne može inaktivirati hidrolizom stoga hiperaktivno potiče diobu. Efekt onkogena je

dominantan, pa ne čudi da se onkogen *Ras* pojavljuje u mnogo tipova raka u ljudi (Alberts i sur., 2007).

Prekomjerna ekspresija ranije spomenutog gena *MYC* (proto-onkogen) stimulira stanični rast i diobu. To je regulatorni gen koji kodira za transkripcijske faktore. Prekomjerna ekspresija tog gena dovodi do ne-regulirane ekspresije drugih gena vezanih za proliferaciju. Do prekomjerne ekspresije može doći amplifikacijom ili translokacijom, kao što je slučaj s Burkitt-ovim limfomom (http://lymphoma.about.com/od/nonhodgkinlymphoma/p/burkitts.htm).

3.3. Genetička nestabilnost

Različiti tumori pokazuju genetičku nestabilnost zbog nasljednih promjena u takozvanim DNA održavajućim genima (house-keeping genima). Postoji velik broj takvih gena koji osiguravaju popravak određenog tipa oštećenja DNA ili ispravak pogreške nastale prilikom replikacije, te održavaju broj i integritet kromosoma. Kada se dogodi mutacija tih gena, stanice nakupljaju genetičke promjene znatno većom brzinom (povećavaju vjerojatnost mutacija) nego normalne stanice te se ranije razvije bolest rak (Alberts i sur., 2007).

3.4. Indukcija angiogeneze

Kako bi tumor uopće mogao rasti mora si osigurati adekvatan dovod kisika i nutrijenata putem krvi. Kada tumor raste javlja se nedostatak kisika pa stanice potiču stvaranje novih krvnih žila kako bi imale dovoljno kisika i nutrijenata. To čine uz pomoć proteina HIF-1α (engl. Hypoxia Inducible Factor -1α) koji aktivira transkripciju pro-angiogenih faktora. Pro-angiogeni faktori privlače endotelne stanice i stimuliraju rast novih krvnih žila (Alberts i sur., 2007).

3.5. Invazivnost i metastaziranje

Metastaziranje je zadnji i najopasniji korak razvitka raka, jer je odgovorno za 90% smrtnih ishoda. To je također i najveći nedostatak u razumijevanju raka. Još nisu identificirane specifične mutacije koje dopuštaju stanicama invaziju okolnog tkiva, širenje i formiranje metastaza. Neke od do sada poznatih mutacija uključuju prekomjernu ekspresiju gena za RhoC (GTPaza koja povećava staničnu mobilnost, iako nije poznato na koji način

potiče metastaziranje) i smanjenu ekspresiju gena za E-kadherin (transmembranski protein koji je odgovoran za adheziju stanica), te je poznato da je primaran ulazak tumora u cirkulaciju potpomognut indukcijom angiogeneze. Ulazak u krvotok te sposobnost preživljavanja i rasta u stranom tkivu su teški koraci metastaziranja, dok je sam prolazak kroz cirkulaciju relativno jednostavan (Sl.15.). Samo će jedna od milijun stanica koje se odvoje od primarnog tumora uspjeti stvoriti mikrometastazu, a još će ih manje uspjeti kolonizirati strano tkivo. Stanice za kolonizaciju stoga, najvjerojatnije trebaju posebne sposobnosti preživljavanja te moraju biti znatno samostalnije, odnosno neovisne o okolnim stanicama i njihovim signalima (Alberts i sur., 2007).



Slika 15. Prikaz barijera za metastaziranje (Alberts i sur., 2007)

4. Zaključak

Razumijevanje kromosomskih aberacija znatno je pridonijelo boljoj prevenciji, dijagnozi i razvoju terapijskih tretmana čije su mete specifični geni. Unatoč tome nove terapije ipak imaju ograničenu primjenu zato što mnogi geni odgovorni za razvoj raka nisu identificirani. Zbog toga je fokus današnjih istraživanja stavljen na poboljšanje tehnika koje će otkriti dodatne genetičke promjene koje se mogu iskoristiti u stvaranju boljih strategija liječenja.

5. Literatura

Alberts B., Johnson A., Lewis J., 2007. Molecular Biology of the Cell, 5. izdanje, Garland Science, Taylor & Francis Group, New York, str. 1205-1265.

Boffetta P., van der Hel O., 2007. Chromosomal Aberrations and Cancer Risk: Results of a Cohort Study from Central Europe, *American Journal of Epidemiology* **165**, 36-43.

Fröhling S., Döhner H., 2008. Chromosomal Abnormalities in Cancer, *New England Journal of Medicine* **359**, 722-734.

Kufe D., Bast R., Hait W., Hong W., 2007. Holland-Frei Cancer Medicine, 7. izdanje, People's Medical Publishing House -USA, China, str. 104-134.

Lobo I., 2008. Chromosome abnormalities and cancer cytogenetics, Scitable by Nature Education (http://www.nature.com/scitable).

http://en.wikipedia.org/wiki/Cancer

http://en.wikipedia.org/wiki/Myc

http://info.cancerresearchuk.org

http://lymphoma.about.com/od/nonhodgkinlymphoma/p/burkitts.htm

http://www.medicinabih.info/2011/05/23/ewingov-sarkom/

http://www.nature.com/nrc/journal/v7/n11/fig_tab/nrc2232_F1.html

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2169263/

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11921281

http://www.who.int/cancer/en/

6. Sažetak

Kromosomske aberacije su jedna od glavnih karakteristika stanica raka. U seminaru su prikazane podjelom na balansirane kromosomske aberacije (koje ne gube gene, ali se njihova ekspresija mijenja) i nebalansirane kromosomske aberacije (koje rezultiraju gubitkom ili dobitkom genetičkog materijala). Analiza tih kromosomskih aberacija i razumijevanje njihovih funkcionalnih posljedica dovelo je do identifikacije novih proto-onkogena i tumor supresorskih gena odgovornih za nastanak raka. Iz toga su se razvile nove ideje za specifične tretmane liječenja raka koji iskorištavaju nedostatke tih stanica, tj. napadaju mutirane gene i tako onesposobljavaju stanice raka. Rak je prikazan kao skup raznovrsnih bolesti koje nastaju zbog genetičkih promjena koje ometaju ravnotežu stanične proliferacije, preživljavanja i diferencijacije, te uvode genetičku nestabilnost, indukciju angiogeneze i invazivnost. Primjerima su opisane i neke najčešće genetičke promjene koje uzrokuju aberantne osobine stanica raka, te na koji način te promjene stimuliraju razvoj bolesti raka.

7. Summary

Chromosomal aberrations are one of the main characteristics of cancer cells. In the seminar chromosomal aberrations were divided into balanced chromosomal aberrations (which do not lose their genes, but their expression changes) and unbalanced chromosomal aberrations (which result in the loss or gain of genetic material). Analysis of chromosomal aberrations and understanding of their functional consequences led to the identification of new proto-oncogenes and tumour suppressor genes responsible for the development of cancer. This knowledge led to the development of new ideas for specific cancer treatments that exploit the deficiency of these cells, that is attack the mutated genes which inactivates cancer cells. Cancer is represented as a set of various diseases caused by genetic alterations that disrupt the balance of cell proliferation, survival and differentiation, and introduce genetic instability, induction of angiogenesis and invasiveness. Examples in the text describe the most common genetic changes that cause aberrant properties of cancer cells, and how these changes stimulate the development of cancer.