

# 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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:080239>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-10**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



**SVEU ILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO – MATEMATI KI 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 geneti kog materijala.....	10
b) Gubitak geneti kog materijala.....	11
3. Kako nastaje rak.....	14
3.1. Mutacije koje povećavaju preživljavanje (sprećavaju apoptozu).....	17
3.2. Mutacije koje ubrzavaju proliferaciju.....	18
3.3. Geneti ka 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 na inu 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>).

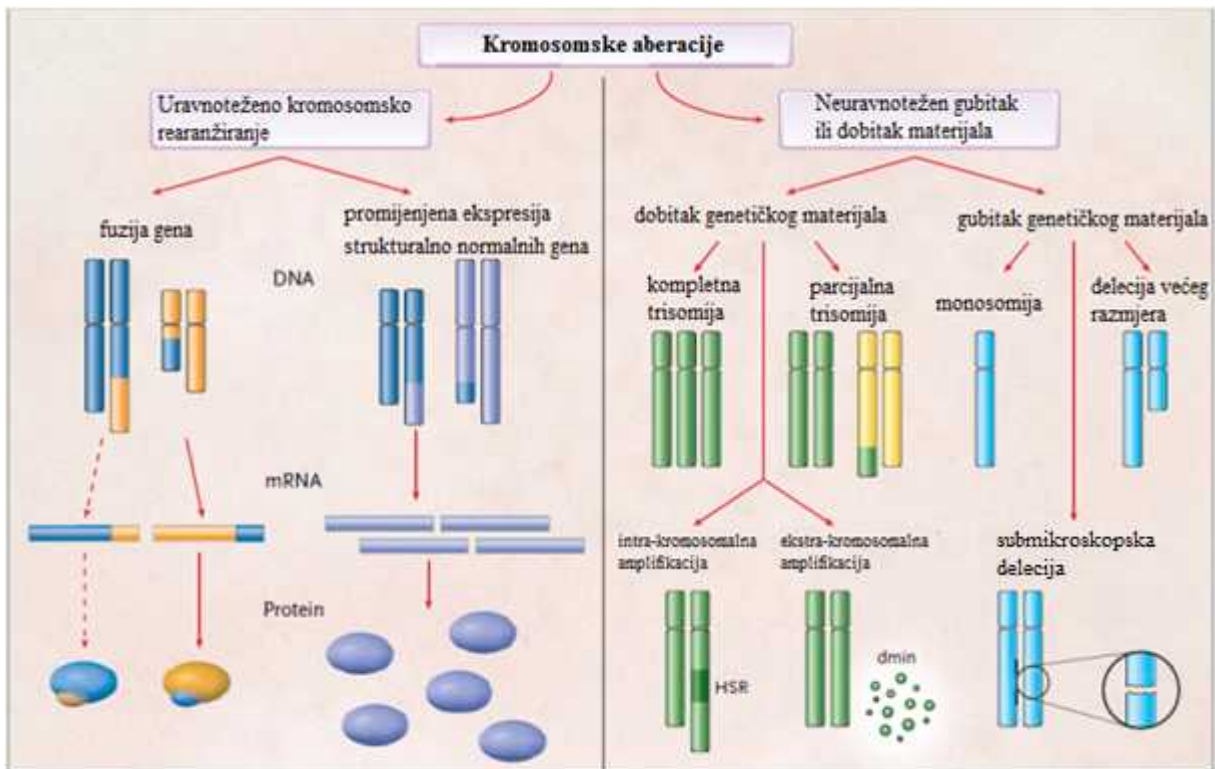
Posljednjih 50 godina medicinska istraživanja su postigla nevjerojatan napredak u razumijevanju kako naše tijelo funkcionira, što je znatno pomoglo u dijagnosticiranju i liječenju raka. Rak je danas prepoznat kao raznovrstan skup bolesti čiji su razvoj i inicijacija potaknuti aberantnim funkcijama gena 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 mijeloidnu 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 mijeloidne leukemije (AML) i akutne mijelodisplazije (MDS), kromosomske poremećaji uzrokovani nekim okolišnim čimbenicima (naročito kod profesionalne izloženosti) te terapijama sa citotoksičnim lijekovima (Boffetta i van der Hel, 2007).

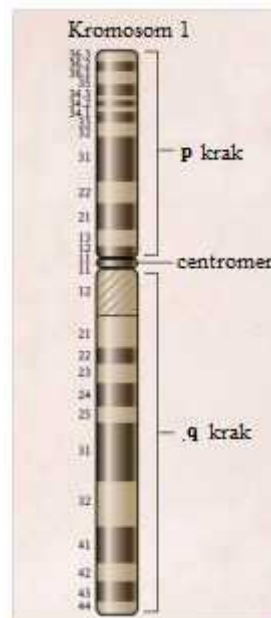
Kromosomske aberacije se mogu podijeliti na balansirane i nebalansirane (gubitak ili dobitak genskog materijala) (Sl.1.) (Fröhling i Döhner, 2008).



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

## 2.1. Balansirane kromosomske aberacije

Recipro ne 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).



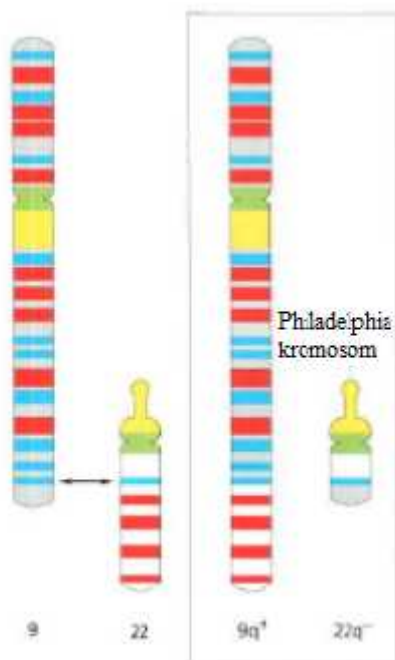
**Slika 2.** Struktura ljudskog kromosoma 1 vidljiva nakon specifičnog bojanja (oprugavanja) kromosoma (izvor :Fröhling i Döhner, 2008)

### 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.

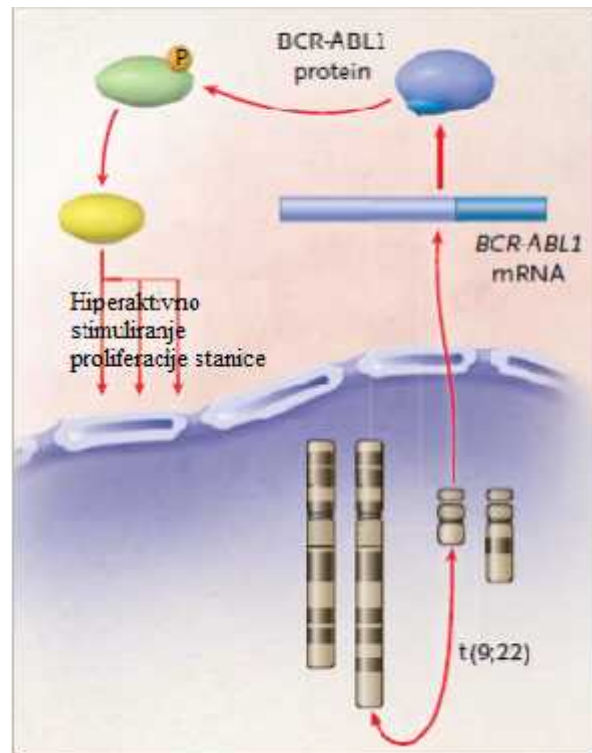
Klasičan primjer fuzije gena tirozin kinaze je Philadelphia kromosom. To je translokacija dijela dugog (q) kraka kromosoma 22 na dugi krak kromosoma 9: -t(9;22)

(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 kataliti ku 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 specifi na za kroni nu mijeloi nu leukemiju (CML), a rezultat mutacije je nakupljanje bijelih krvnih stanica koje ne funkcioniraju pravilno (Fröhling i Döhner,2008). Samo otkri e Philadelphia kromosoma i razumijevanje molekularne osnove translokacije, dovelo je do ideje kako bi se u lije enju 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 onemogu uje aktivnost proteina. Inhibitor je bio uspješan u 80% slu ajeva i uveo je revoluciju u lije enju na temelju geneti kih nestabilnosti stanica raka. Geneti ka 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 vodi a za razvoj novih lijekova protiv raka (Alberts i sur.,2007.).



**Slika 3.** Translokacija

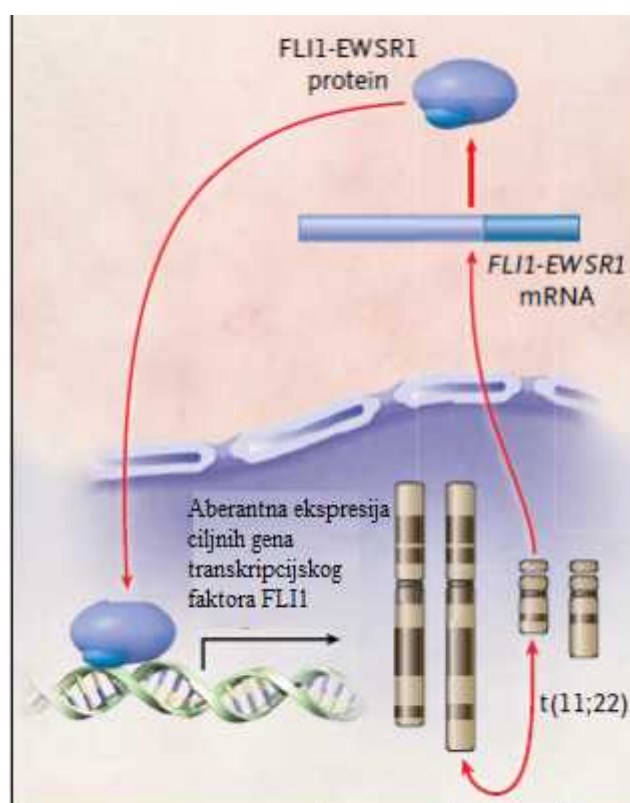
t(9;22)(q34.1;q11.23) (Alberts i sur.,2007.)



**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 traži za specifičnim lijekom (<http://www.medicinabih.info/2011/05/23/ewingov-sarkom/>).

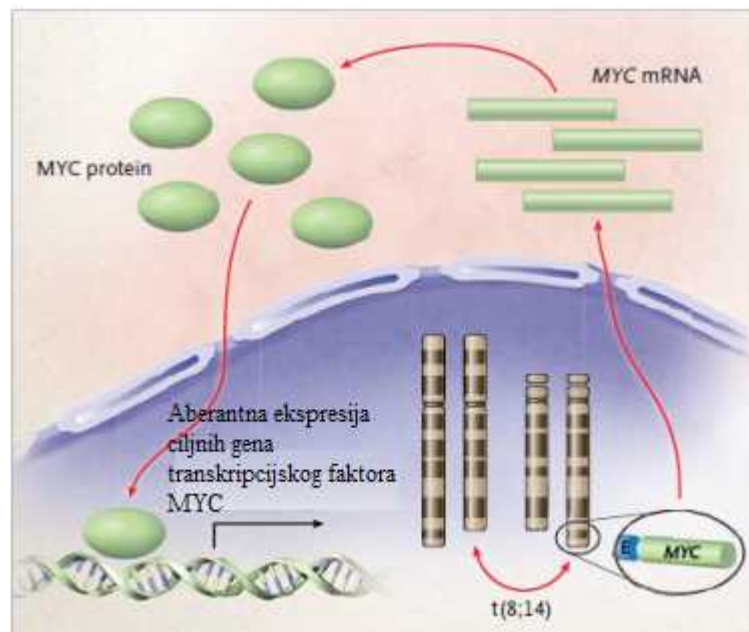


**Slika 5.** FLI1-EWSR1 kimerni protein (izvor :Fröhling i Döhner, 2008)



## b) Deregulacija ekspresije strukturalno 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 i njegova 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 balansirano kromosomskog rearanžiranja , bolesti koje izazivaju i terapija za njihovo liječenje (izvor: Fröhling i Döhner, 2008)

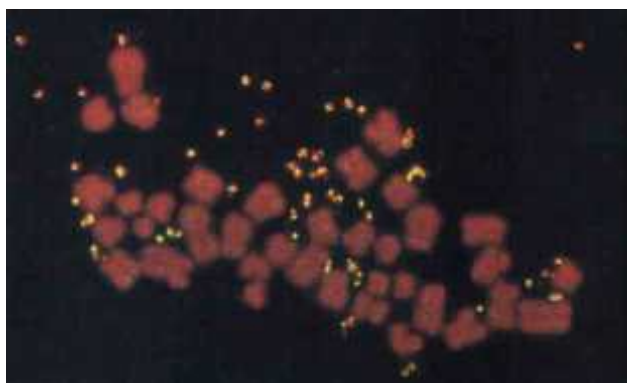
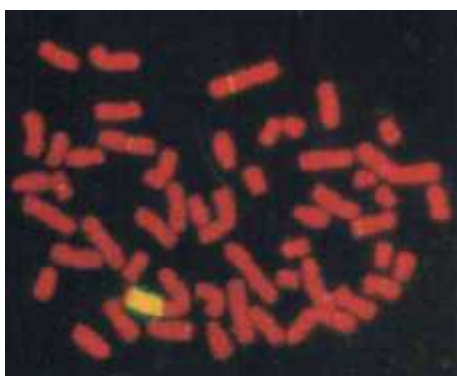
Balansirano kromosomsko rearanžiranje	Fuzija gena	Bolest	Terapija
<b>Genetska promjena</b>			
<b>Formiranje kimernih proteina (fuzijom gena)</b>			
koji uključuje tirozin kinazu			
inv(2)(p22-p21p23)	<i>EML4-ALK</i>	Mikrocelularni rak pluća	
t(2;5)(p23;q35)	<i>ALK-NPM1</i>	Anaplastični velikostani limfom	
t(4;14)(p16.3;q32.33)	<i>WHSC1-IGHG1</i>	Višestruki mijelom	
del(4)(q12q12)	<i>FIP1L1-PDGFR</i>	Mijeloidna neoplazma povezana s eozinofilijom	Imatinib
t(5;12)(q31-q32;p13)	<i>PDGFRB-ETV6</i>	Mijeloidna neoplazma povezana s eozinofilijom	Imatinib
t(9;22)(q34.1;q11.23)	<i>BCR-ABL1</i>	Kronična mijeloidna leukemija, akutna mijeloidna leukemija, akutna limfocitna leukemija	Imatinib, dasatinib, nilotinib
episome(9q34.1) inv(10)(q11.2q11.2) inv(10)(q11.2q21) t(12;15)(p13;q25)	<i>NUP214-ABL1</i> <i>RET-NCOA4</i> <i>RET-CCDC6</i> <i>ETV6-NTRK3</i>	Akutna limfocitna leukemija Bradavičasti rak štitnjače Bradavičasti rak štitnjače Razne vrste raka	Imatinib
koji uključuje transkripcijski faktor			
t(1;22)(p13;q13)	<i>RBM15-MKLI</i>	Akutna megakariocitna leukemija	
t(2;3)(q12-q14;p25)	<i>PAX8-PPARG</i>	Folikularni rak štitnjače	
t(7;11)(p15-p14;p15.5)	<i>NUP98-HOXA9</i>	Mijelodisplastični sindrom, akutna mijeloidna leukemija	
t(8;21)(q22;q22.3)	<i>RUNX1-RUNX1T1</i>	Akutna mijeloidna leukemija	
t(9;11)(p22;q23)	<i>MLL-MLLT3</i>	Akutna mijeloidna leukemija	
t(11;22)(q24.1-q24.3;q12.2)	<i>FLI1-EWSR1</i>	Ewingov sarkom	
t(12;21)(p13;q22.3)	<i>ETV6-RUNX1</i>	Akutna limfocitna leukemija	
t(15;17)(q22;q21)	<i>PML-RARA</i>	Akutna promijeloidna leukemija	Sve trans-retinoične kiseline, arsen trioksid
inv(16)(p13.11q22.1) t(21;22)(q22.3;q12.2)	<i>CBFB-MYH11</i> <i>ERG-EWSR1</i>	Akutna mijeloidna leukemija Ewingov sarkom	
<b>Promijenjena ekspresija strukturalno normalnih gena</b>			
t(8;14)(q24.21;q32.33)	<i>MYC-IGHG1</i>	Burkitt-ova limfom	
t(11;14)(q13;q32.33)	<i>CCND1-IGHG1</i>	Mantle-cell limfom	
t(12;13)(p13;q12.3)	<i>ETV6-CDX2</i>	Akutna mijeloidna leukemija	
t(14;18)(q32.33;q21.3)	<i>IGHG1-BCL2</i>	Folikularna limfom	
del(21)(q22.3q22.3)	<i>TMPRSS2-ERG</i>	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) ( <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview">www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview</a> )			

## 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 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-onkogeni) 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>).



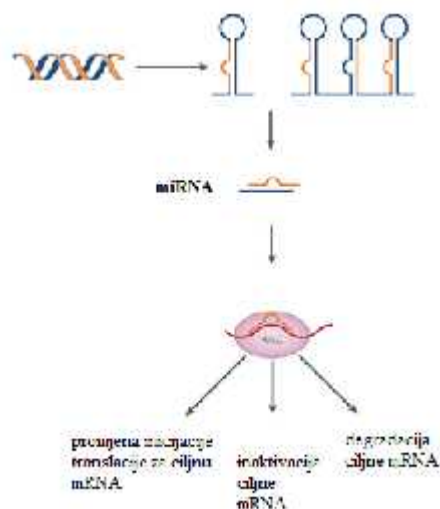
**Slika 7.** Intra-kromosomska amplifikacija gena *MYC* (žuti signal) (Alberts i sur.,2007)

**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 klasa 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 isto 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](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			
Genetska promjena	Geni	Bolest	Terapija
<b>Dobitak genetičkog materijala</b>			
Nepoznati geni			
+1q	?	Razne vrste raka	
+7	?	Astrocitom, Glioblastom	
+8	?	Mijelodisplastični sindrom, akutna mijeloidna 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)	<i>YAP1, BIRC2</i>	Hepatocelularni karcinom	
amp(12)(p12.1)	KRAS	Razne vrste raka	
amp(13)(q12.3)	CDX2	Akutna mijeloidna 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 mijeloidna 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](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview))

**Tablica 2.** Nastavak

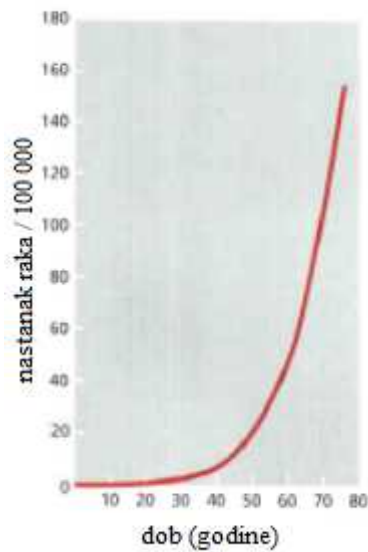
Nebalansirane kromosomske aberacije			
Geneti ka promjena	Geni	Bolest	Terapija
<b>Gubitak geneti kog materijala</b>			
Nepoznati geni			
del(1p)	?	Neuroblastoma, Anaplasti ni oligodendrogliom	
del(3p)	?	Razne vrste raka	
del(5q)	?	Mijelodisplasti ni sindrom, akutna mijeloi na leukemija	
del(6q)	?	Razne vrste raka	
del(7q)	?	Mijelodisplasti ni sindrom, akutna mijeloi na leukemija	
del(11q)	?	Razne vrste raka	
del(19q)	?	Anaplasti ni oligodendrogliom	
del(20q)	?	Policitemija vera, mijelodisplasti ni sindrom, akutna mijeloi na 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	Mijelodisplasti ni sindrom (poznat i kao 5q minus sindrom)	Lenalidomide
del(7)(p13-p11.1)	IKZF1	<i>BCR-ABL1</i> –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 mijeloi na 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) ( <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview">www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview</a> )			

Za razumijevanje na ina na koji kromosomske aberacije utje u na razvoj raka i zašto su one uop e rani pokazatelj pove anog rizika obolijevanja od raka, potrebno je shvatiti mehanizam nastanka te bolesti.

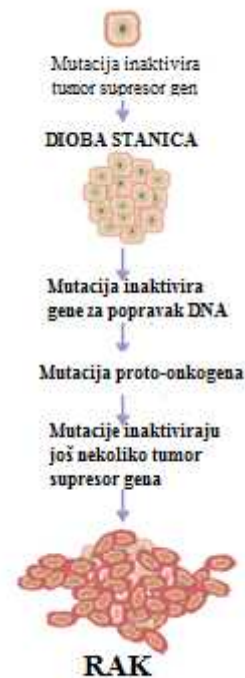
### 3. Kako nastaje rak

Tijelo višestani nog organizma funkcionira kao ekosistem, ijeg svakog pojedina nog lana (tkivo ili organ) ine stanice. Sve stanice se organiziraju i djeluju zajedno kako bi podupirale razvitak spolnih stanica koje jedine imaju šansu prijenosa gena na slijede u generaciju te tako preživjeti. Zbog toga je žrtvovanje pojedina nih stanica pravilo, što zna i da su sve tjelesne stanice kad-tad osu ene na smrt. Stanice mogu primati, slati i interpretirati niz razli itih 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 stani nog ponašanja po kojima se grade i održavaju višestani ni organizmi. Takve stanice dobivaju neku selektivnu prednost, neke nove aberantne osobine koje im omogu avaju preživljavanje. Rak je zapravo bolest u kojoj se individualna mutirana stanica dijeli i napreduje na ra un susjednih stanica, što dovodi do toga da njezini potomci unište cijelu stani nu organizaciju (Alberts i sur., 2007).

Samo jedna mutacija nije dovoljna kako bi se razvio rak. Mutacije se spontano, bez mutagena, u ljudskom tijelu doga aju s frekvencijom od oko  $10^{-6}$  (jedna mutacija po genu po diobi stanice), a u prosje nom životnom vijeku organizma dogodi se  $10^{16}$  diobi stanica. To bi zna ilo da u prosje nom životnom vijeku jedan gen pro e mutaciju u  $10^{10}$  razli itih 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 nasumi nih mutacija u jednoj stani noj 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)

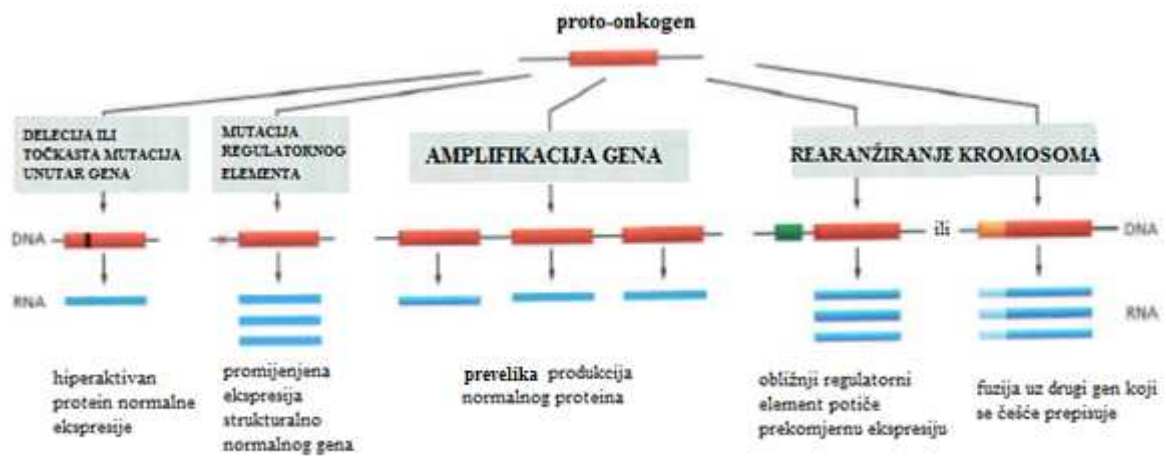


**Slika 11.** Prikaz nastanka raka (<http://en.wikipedia.org/wiki/Cancer>)

Promjene u DNA koje vode do nastanka raka mogu biti geneti ke (promjena u u sekvenci DNA) i/ili epigeneti ke (promjena u ekspresiji gena). Stanice raka imaju mnoge aberantne osobine koje se u razli itim tipovima raka pojavljuju u razli itim kombinacijama. Te aberantne osobine uklju uju: 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, ošte enje DNA--itd.), geneti ku 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 esto 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

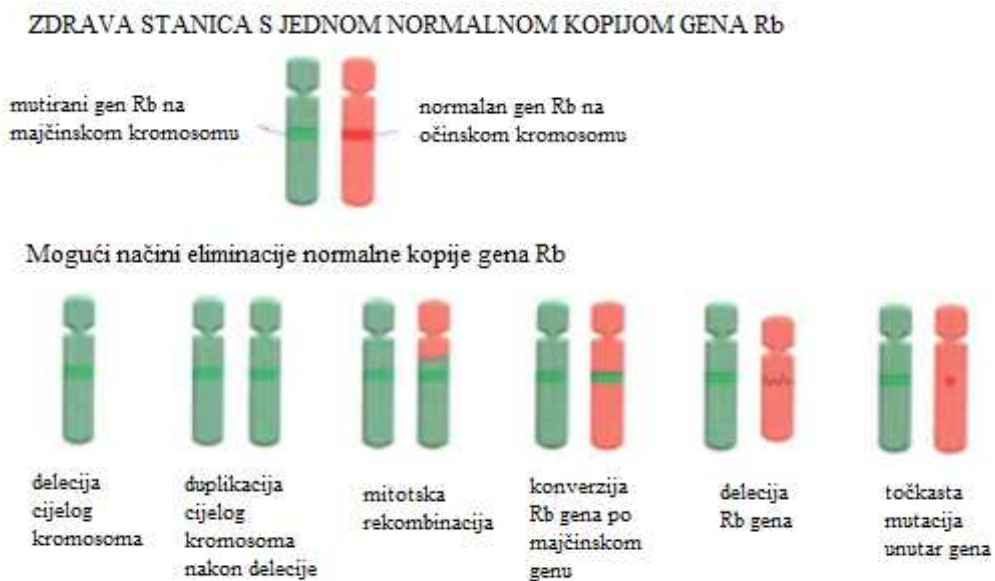


kako bi osobina bila vidljiva (Sl.12.), dok su kod tumor supresor gena potrebne dvije mutacije



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

**Slika 12.** Prikaz mogućih mutacija proto-onkogeni 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 za u uje da su ti kritični geni komponente većih signalnih puteva (geni za signalne proteine, transmembranske receptore, transkripcijske faktore, protein kinaze,

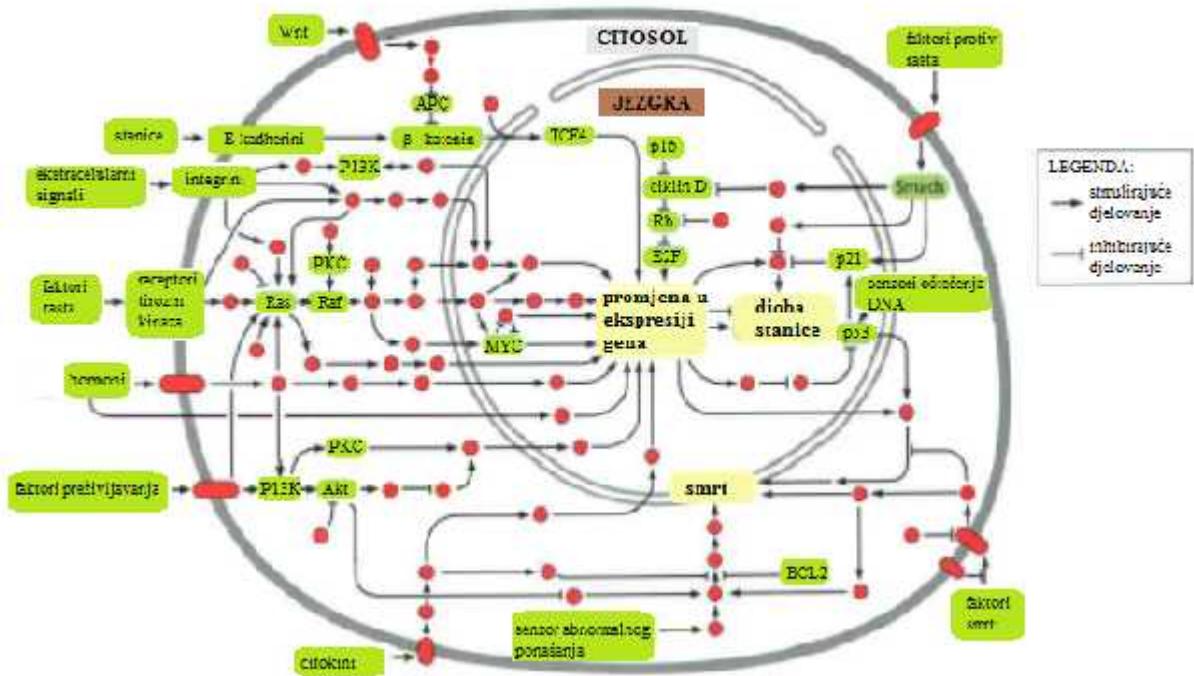
proteine regulatore gena i dr.) koji reguliraju stani nu proliferaciju, diferencijaciju, rast, smrt i dr. (Sl.14.). To su upravo osobine koje stanica mora ste i kako bi se razvila bolest rak. U daljnjem tekstu prikazano je nekoliko naj eš ih primjera pomo u kojih su, na molekularnoj razini stanice raka stekle te osobine.

### **3.1. Mutacije koje povećavaju preživljavanje (sprječavaju apoptozu)**

Mnoge normalne ljudske stanice imaju limitiran broj mogu ih diobi. Broj stani njih dioba ovisi o progresivnom skra ivanju telomernih sekvenci na krajevima kromosoma. Kako se krajevi kromosoma prilikom replikacije ne mogu do kraja replicirati, telomere su te koje štite gene od skra ivanja. Nakon odre enog broja diobi telomere se potpuno skrate i ošte uju se geni, što šalje signal stanici da prekine stani ni ciklus i daljnu proliferaciju. Stanice raka moraju zaobi i tu barijeru, jer u protivnom ne bi imale kapacitet stvoriti velike tumore. Jedan od na ina 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 neograni eno dijele, te imaju duga ak vijek što im samo po sebi daje dovoljno vremena da nakupe potrebne mutacije za razvoj tumora.

Drugi na in je da se dogodi mutacija koja inaktivira signalni put tumor supresorskog gena *p53*, a njegov produkt, protein p53, služi kao senzor za ve a ošte enja DNA (npr. potpuno skra ivanje 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 slu aju navedenih ošte enja 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 apoptotikih gena ili se p53 može vezati za antiapoptotiki protein BCL2 i inhibirati ga. Uz to što može potaknuti apoptozu, u slu aju manjeg ošte enja, p53 može i zaustaviti stani ni ciklus što stanici omogu ava da popravi ošte enje. To ini tako da inducira transkripciju gena za protein p21 koji blokira kinaznu aktivnost ciklin-ovisne kinaze što onemogu ava nastavak replikacije zato što stanica ne može u i 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 izbje i programiranu stani nu smrt, relativno je otporna na lijekove protiv raka (jer može izbje i smrt), omogu ava prolaz kroz stani ni ciklus unato velikim ošte enjima DNA, te

samim time uvodi geneti ku nestabilnost. Iz toga je lako zaklju iti kako je gubitak p53 jako opasan i nije za u uju e da je signalni put p53 inaktiviran u gotovo svim slu ajevima



ljudskog raka (Alberts i sur., 2007).

**Slika 14.** Prikaz važnijih signalnih putova sa ozna enim kriti nim 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 stani nog ciklusa (Sl.14.). U normalnim stanicama Rb protein ko i prolazak stanice u S fazu. Djeluje tako da se veže za protein E2F (regulator ekspresije gena) što onemogu uje transkripciju gena za ulazak u S fazu ciklusa. Stanice raka ili uop e nemaju protein Rb ili su inaktivirale gen *p16* koji u normalnim stanicama sprje ava inaktivaciju proteina Rb (p16 svojim vezanjem za ciklinD i ciklin-ovisnu kinazu sprje ava fosforilaciju proteina Rb). Takve mutacija se naj eš e nalaze kod raka plu a, dojki i mjehura (Alberts i sur., 2007).

Mutacija proto-onkogeno *Ras* tako er stimulira proliferaciju stanica. Ras protein je GTPaza koja prima signale stani nih receptora i šalje ih dalje uz hidrolizu GTPa. Mutirani Ras se ne može inaktivirati hidrolizom stoga hiperaktivno poti e diobu. Efekt onkogeno je

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

Prekomjerna ekspresija ranije spomenutog gena *MYC* (proto-onkogen) stimulira stani ni 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 do i amplifikacijom ili translokacijom, kao što je slučaj s Burkitt-ovim limfomom (<http://lymphoma.about.com/od/nonhodgkinlymphoma/p/burkitts.htm>).

### 3.3. Genetička nestabilnost

Razliiti tumori pokazuju geneti ku nestabilnost zbog nasljednih promjena u takozvanim DNA održavaju im genima (house-keeping genima). Postoji velik broj takvih gena koji osiguravaju popravak odre enog tipa ošte enja DNA ili ispravak pogreške nastale prilikom replikacije, te održavaju broj i integritet kromosoma. Kada se dogodi mutacija tih gena, stanice nakupljaju geneti ke promjene znatno ve om brzinom (pove avaju vjerojatnost mutacija) nego normalne stanice te se ranije razvije bolest rak (Alberts i sur., 2007).

### 3.4. Indukcija angiogeneze

Kako bi tumor uop e mogao rasti mora si osigurati adekvatan dovod kisika i nutrijenata putem krvi. Kada tumor raste javlja se nedostatak kisika pa stanice poti u stvaranje novih krvnih žila kako bi imale dovoljno kisika i nutrijenata. To ine uz pomo proteina HIF-1 $\alpha$  (engl. Hypoxia Inducible Factor -1 $\alpha$ ) koji aktivira transkripciju pro-angiogenih faktora. Pro-angiogeni faktori privla e 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 tako er i najve i nedostatak u razumijevanju raka. Još nisu identificirane specifi ne mutacije koje dopuštaju stanicama invaziju okolnog tkiva, širenje i formiranje metastaza. Neke od do sada poznatih mutacija uklju uju prekomjernu ekspresiju gena za RhoC (GTPaza koja pove ava stani nu mobilnost, iako nije poznato na koji na in

poti e 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 e jedna od milijun stanica koje se odvoje od primarnog tumora uspjeti stvoriti mikrometastazu, a još e 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 ije su mete specifi ni geni. Unato tome nove terapije ipak imaju ograni enu primjenu zato što mnogi geni odgovorni za razvoj raka nisu identificirani. Zbog toga je fokus današnjih istraživanja stavljen na poboljšanje tehnika koje e otkriti dodatne geneti ke promjene koje se mogu iskoristiti u stvaranju boljih strategija lije enja.

## 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.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 dobicom geneti kog materijala). Analiza tih kromosomskih aberacija i razumijevanje njihovih funkcionalnih posljedica dovelo je do identifikacije novih proto-onkogenih 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 uvođe 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.