

# Molekularni pogled na melanom

---

**Zaplatic, Elizabeta**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2013**

*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:217:902591>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-06-16**



*Repository / Repozitorij:*

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



**SVEU ILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATI KI FAKULTET  
BIOLOŠKI ODSJEK**

Molekularni pogled na melanom

Molecular approach to melanoma

**SEMINARSKI RAD**

---

**ELIZABETA ZAPLATI  
PREDDIPLOMSKI STUDIJ MOLEKULARNE BIOLOGIJE  
UNDERGRADUATE STUDY OF MOLECULAR BIOLOGY  
MENTOR: DOC.DR.SC. INGA MARIJANOVI**

**ZAGREB, 2013.**

## SADRŽAJ

1. Uvod .....	1
2. Općenito o melanomu.....	2
3. Rizici nastanka.....	4
4. Tipovi melanoma .....	7
5. Klasifikacija melanoma .....	9
5.1 Histološka klasifikacija.....	9
5.2. TNM klasifikacija.....	10
5.3. Molekularna klasifikacija .....	12
5.3.1. B-RAF mutacija-signalni put i ciljana terapija.....	12
6. Sažetak.....	15
7. Summary.....	16
Literatura.....	17

# 1. UVOD

Koža je naš najveći i najvažniji organ. Ona oblaže gotovo cijelo tijelo i služi kao barijeru između unutarnjeg i vanjskog svijeta te je tako važna za održavanje unutarnje ravnoteže organizma. Najveći neprijatelj kože je UV zračenje koje uzrokuje maligne promjene na stanicama, odnosno zloćudne tumore. Ovisno o tipu stanica gdje te maligne promjene započinju, kožni maligni tumori dijele se u tri kategorije: karcinom bazalnih stanica, karcinom pločastih stanica i melanom. Daleko najveći u stopu smrtnosti ima melanom, iako on nije najčešći i maligni tumor koji se pojavljuje na koži. Njegovo izrazito zloćudno ponašanje posljedica je velike sposobnosti metastaziranja hematogenim i limfogenim putem. Osim UV zračenja, na razvoj melanoma i ostalih kožnih tumora utječu i neki drugi okolišni i genetski faktori. Zabrinjavajuća je činjenica da su incidencija i smrtnost melanoma posljednjih desetljeća u stalnom porastu i time je melanom postao jedan od najopasnijih tumora današnjice. Ključan faktor u borbi protiv melanoma je njegovo rano otkrivanje. U tim ranim stadijima stope izlječenja su visoke jer tumor još nije metastazirao. Današnja, moderna medicina u borbi protiv melanoma i ostalih vrsta tumora, sve se više okreće istraživanju molekularnih aspekata bolesti jer se upravo na toj osnovnoj, bazalnoj razini, na razini stanice, gena i proteina kriju uzroci i rješenja tih zloćudnih bolesti.

## 2. OPŠENITO O MELANOMU

Riječ melanom dolazi od grčke riječi *melas* što znači tamn, crn. Prvi opis tumora nalik na melanom pripisuje se Hipokratu u petom stoljeću prije nove ere, a prvi moderni zapis o melanomu pripisuje se Johnu Hunteru 1787. godine (Rudman Franjo, 2010).

Melanom je maligni tumor koji nastaje malignom transformacijom melanocita, stanica koje proizvode tamni pigment melanin koji štiti kožu od ultraljubičastog zračenja. Melanom se najčešće javlja na koži, ali može nastati i u drugim tkivima koja sadrže melanocite, kao što su npr. oko, sinusi, sluznica gornjeg dijela probavnog sustava, vagina, rektum, moždane ovojnice te limfni čvorovi. U koži, melanociti su smješteni u bazalnom sloju epidermisa.

Klinički se melanom razlikuje na različite načine i razlikuje se u boji, od hiperpigmentiranih do amelanotičnih promjena. Karakterizira ga izrazita sklonost ranom limfogenom i hematogenom metastaziranju, dok lokalna agresivnost nije toliko izražena (Budisavljević i sur., 2012). Najčešća mjesta udaljenih metastaza su mozak, pluća, jetra i kosti (Fajdić i sur., 2011). Upravo zbog tog visokog potencijala metastaziranja, osobito je važna dijagnostika u početnim stadijama dok se još nisu razvile udaljene metastaze pa je izlječenje gotovo 100%.

Udio melanoma u svim malignim tumorima kože je svega 4-5% što ga čini jednom od najrjeđih takvih bolesti. Međutim, melanom je najsmrtonosnija vrsta raka kože sa čak 80%-om smrtnošću. Također je jedan od tumora s najvećom godišnjom porastom incidencije od prosječno 3-8% u različitim dijelovima svijeta te 5% u europskim zemljama. Melanom čini oko 2% svih malignih tumora, a najviše oboljelih imaju Australija i Novi Zeland što je izravno povezano s najvećom ozonskom rupom koja se nalazi upravo iznad tih područja zbog čega veće količine UV zračenja dopijevaju na Zemlju. U Hrvatskoj je tijekom posljednjih petnaest godina zabilježen značajan porast incidencije melanoma čime je melanom od 2000. godine u našoj zemlji postao petnaest najčešćom malignom bolešću s udjelom od oko 3% u ukupnoj incidenciji malignih tumora.

Melanom pogađa gotovo sve dobne skupine (20-60 godina), no incidencija raste sa starošću pa je tako najrizičnija peto i šesto desetljeće života. Prema nekim studijama, u

američkim zemljama melanom podjednako pogađa oba spola, dok je u većini europskih zemalja njegova učestalost dva puta veća kod žena nego kod muškaraca. Kod muškaraca se najčešće javlja u području trupa, gornjih ekstremiteta, glave i vrata, a kod žena u području potkoljenice, leđa, gornjih ekstremiteta, glave i vrata.

### 3. RIZICI NASTANKA

Razvoj melanoma uglavnom je povezan s ultraljubičastim (UV) zračenjem koje emitira Sunce. S obzirom na valnu duljinu ( $\lambda$ ), postoje tri tipa UV zračenja: UVA ( $\lambda = 320-400$  nm), UVB ( $\lambda = 280-320$  nm) i UVC ( $\lambda = 200-280$  nm). U vezi s UV zračenjem važno je spomenuti ozonski omotač u Zemljinj atmosferi koji apsorbira zračenje valnih duljina kraćih od 300 nm pa takvo zračenje ne dolazi do površine Zemlje (UVC i dio spektra UVB zračenja). Ozonski omotač tako djeluje kao prirodni štitič za život na Zemlji i o njemu ovisi koliko je štetnog UV zračenja dopjeto do zemljine površine, pa je oštećenje ozonskog omotača izravno povezano s povećanom incidencijom melanoma u nekim dijelovima svijeta. Na nastanak zloćudnih kožnih tumora najviše utječe UVB zračenje. Ono djeluje na susjedne pirimidinske baze jednog lanca DNA i tako stvara oštećenja u njemu u obliku timinskih dimera ili 6,4 fotoprodukata. Dugo vremena UVB zračenje smatrano je lošim zračenjem, a UVA dobrim, bezopasnim zračenjem. Međutim, neke novije studije pokazale su da i UVA zračenje utječe na nastanak malignih melanoma kože. UVA zračenje čini 90-95% svih UV zraka koje dopiru na zemljinu površinu, no to je zračenje vrlo male energije. Iako DNA slabo apsorbira takvo zračenje, UVA zrake koje prodiru u dublje slojeve kože mogu uzrokovati starenje kože i nastanak reaktivnih kisikovih radikala, kao što su vodikov peroksid, superoksid, peroksinitrit, „singlet“ kisik. Takvi radikali indirektno oštećuju DNA stvarajući i purinske oksidativne fotoprodukte (8-okso-7,8-dihidro-2'-deoksi-gvanozin), a također mogu olakšati i metastaziranje tumora tako što oštećuju endotelne stanice. Iako epidermis sadrži antioksidativne enzime (katalaza, glutation peroksidaza), snažno UVA zračenje poništava njihovo djelovanje (Gruber i sur., 2008). Studije su pokazale da je nastanak melanoma, za razliku od drugih tipova kožnih tumora, povezan s povremenim, ali intenzivnim izlaganjem Suncu (sunčeve opekline), a smatra se da je djelovanje UV zračenja kumulativno. Pokazalo se i da su najštetnije sunčeve opekline nastale u djetinjstvu i adolescentnoj dobi. Osim sunčevih zraka, rizik od razvoja malignog melanoma povećava i sunčanje u solarijima.

Sljedeći imbenik koji povećava rizik od nastanka melanoma jest prisutnost displastičnih nevusa, tj. atipičnih madeža. Ustanovljeno je da se melanom može razviti iz takvih pigmentiranih kožnih lezija uslijed traume, iritacije ili upale nevusa te bilo kakvih kroničnih podražaja. Nevusi koji su maligno alterirali razlikuju se od normalnih nevusa izgledom i oblikom pa je Svjetska zdravstvena organizacija uvela „ABCDE“ pravilo koje opisuje karakteristike nevusa koji su potencijalno maligno alterirali (Tablica 1.)

**Tablica 1.** „ABCDE“ pravilo (prilagođeno prema Budisavljević i sur., 2012; Fajdić i sur., 2011)

Karakteristika	Opis
A-asymmetry (nepravilnost oblika, asimetrija)	Lezija gubi pravilno simetrični kuglasti oblik, asimetričnost jedne polovice lezije u odnosu na drugu polovicu
B-border (rub)	Dok su rubovi kod nevusa oštro ograničeni od okolne kože pravilnom kružnom linijom, kod melanoma su rubovi lezije često nazubljeni, nepravilni, uz pojavu zrakastog širenja
C-colour (boja)	Više od jedne boje u leziji, neravnomjerna pigmentiranost lezije
D-diameter (promjer)	Promjer veći od 6 mm, ali taj kriterij je danas u drugom planu zbog porasta broja melanoma i manjih od 6 mm
E-elevation (povećanje)	Uzdignutost pigmentirane lezije

Osim iz displastičnih nevusa, melanom se može razviti i iz nekih drugih prekursorskih lezija kao što su *lentigo maligna* i melanocitni plavi nevus te kod bolesti *xeroderma pigmentosum*.

Nadalje, rizik na skupina za nastanak melanoma su osobe svijetle puti. Uočeno je da je rizik pojave malignog melanoma u osoba svijetle kose čak do sedam puta veći u usporedbi s osobama crne kose, skoro četiri puta veći u osoba svijetlosmeđe kose i dva puta veći u osoba smeđe kose (Budisavljević i sur., 2012). Osim toga, melanom mnogo češće pogađa bijelce nego crnce, pa je tako prema nekim studijama on 10 puta češći kod bijelaca nego kod crnaca koji žive u istom području. Ovakve razlike u učestalosti pojave melanoma posljedica su toga što svjetlije osobe imaju manje količine zaštitnog pigmenta melanina od tamnijih ljudi.

Kao važan faktor rizika treba navesti i obiteljsku sklonost razvoju melanoma. Osobe čiji su srodnici u prvoj generaciji oboljeli od melanoma imaju dva puta veći rizik da i sami obole od te bolesti. S razvojem melanoma povezane su različite kromosomske



abnormalnosti i genske mutacije, od kojih su kod obiteljskog melanoma osobito izražene mutacije u CDKN2A, CDK4 i MC1R. Kako su ovi geni zaduženi za kontrolu stani nog ciklusa, mutacije u njima uzrokuju poreme aje u zaustavljanju stani nog ciklusa pa stanice postaju besmrtne i mogu se nekontrolirano dijeliti.

Od ostalih rizi nih imbenika mogu se još spomenuti ioniziraju e zra enje, razne kemikalije, lijekovi, dob (incidencija raste sa staroš u) te imunosupresija (osobe koje uzimaju lijekove koji suprimiraju imunološki sustav, npr. pri transplantaciji, imaju pove an rizik od razvoja melanoma, kao i osobe zaražene HIV-om).

## 4. TIPOVI MELANOMA

Prema načinu rasta, melanom se može podijeliti na mnogo različitih tipova. U ovom poglavlju opisana su četiri najčešća tipa melanoma (SSM, NM, ALM i LMM), dok su ostali rjeđi oblici samo pobrojani.

### 1. Površinsko šireći melanom (engl. superficial spreading melanoma-SSM)

SSM javlja se u čak 70% slučajeva, što ga čini najčešćim malignim melanomom kože. Uglavnom se javlja kod osoba srednje dobi i to kod žena na stražnjoj strani potkoljenice, a kod muškaraca na leđima. Histološki gledano, pri razvoju SSM-a događa se pagetoidno širenje atipičnih stanica. Stanice su velike i bogate citoplazmom s pleomorfnom vezikuloznom jezgrom i naglašenom eozinofilnom jezgricom (Budisavljević i sur., 2012). Stanice prvo dugo horizontalno rastu u epidermisu, nakon čega probijaju bazalnu membranu i prodiru u dermis čime započinje vertikalna, invazivna faza rasta.

### 2. Nodularni melanom (NM)

Ovaj tip melanoma javlja se u 10-15% slučajeva, najčešće na trupu i ekstremitetima i uglavnom pogađa muškarce. U histološkom pogledu, prisutni su tvorci i građani od velikih epiteloidnih melanocita s izraženim jezgrama, a atipični melanociti imaju svijetle jezgre s izraženim jezgricama. Za razliku od ostalih tipova melanoma, ovdje atipični melanociti rastu samo vertikalno bez početne horizontalne faze rasta, pa je zbog toga ovaj tip melanoma izrazito agresivan. Prema nekim autorima, ovaj melanom može se podijeliti na porast i aplanirani tip.

### 3. Akralni lentiginozni melanom (ALM)

ALM čini 5-10% cjelokupnog broja melanoma, a najčešće se javlja kod ljudi tamnije rase. Lokaliziran je na stopalima, dlanovima, prstima, peti i ispod nokta (najčešće palca). Histološki, atipični vretenasti melanociti hiperkeratotske jezgre i izražene jezgre zamjenjuju bazalne keratinocite u donjim dijelovima epidermisa. U ovaj tip melanoma

ubraja se i melanom sluznice usne šupljine i anogenitalne regije koji nazivamo akrolentiginozni mukozni melanom (ALMM).

#### **4. Lentigo maligna melanom (LMM)**

Ovaj tip melanoma javlja se sa učestalošću od oko 5% i to uglavnom na koži oštećenoj suncem, najčešće kod osoba starije životne dobi. Razvija se iz neinvazivne lezije *lentigo maligna* koja može dugi niz godina rasti radijalno u obliku atipičnih melanocita koji su smješteni uzduž dermoepidermalne membrane, a mogu zahvaćati i dlačne folikule. Kada melanociti prijeđu bazalnu membranu i prodru u dermis, razvija se LMM.

#### **Ostali rjeđi tipovi melanoma:**

- Desmoplastični melanom
- Amelanotični melanom (AM)
- Miksoidni melanom
- Melanom balonskih stanica
- Melanom stanica „prstena pečatnjaka“
- Osteogeni melanom
- Rabdoidni melanom
- Mukozni melanom
- Melanom bez primarnog tumora

## 5. KLASIFIKACIJA MELANOMA

Klasifikacija melanoma, kao i drugih malignih tumora, omogućuje kliničarima: ujednaenu nomenklaturu temeljenu na prognozi, razvrstavanje bolesnika u rizične skupine ovisno o preživljenju, kriterije za razvrstavanje i izvještavanje o rezultatima kliničkih istraživanja, mogućnost usporedbe različitih oblika liječenja te pomoć pri donošenju kliničkih odluka u liječenju bolesnika (Rudman Franjo, 2010). U ovom poglavlju opisane su histološka, molekularna i TNM klasifikacija melanoma.

### 5.1. Histološka klasifikacija melanoma

Prvu klasifikaciju ovakvog tipa napravili su Clark i suradnici 1969. godine. Uoči toga da prognoza melanoma ovisi o fazi rasta i dubini invazije melanoma u kožu, klasificirali su ga u pet stupnjeva gdje prvi stupanj predstavlja najbezopasniji tip melanoma s najboljom prognozom, tzv. melanom *in situ*, a peti stupanj predstavlja najopasniji tip melanoma s najlošijom prognozom. U sklopu toga, histološki gledano, postoje tri faze razvoja melanoma: melanom *in situ* (najranija faza razvoja gdje je melanom u potpunosti smješten u epidermisu), faza horizontalnog širenja (atipični melanociti prodiru kroz bazalnu membranu u gornji sloj dermisa) i faza vertikalnog širenja (atipični melanociti prodiru dublje u dermis). Clark je također opisao i različite histološke forme melanoma.

**Tablica 2.** Clarkova klasifikacija melanoma na temelju histološke razine kože koju tumor zahvaća (prilagođeno prema Budisavljević i sur., 2012; Rudman Franjo, 2010.)

Stupanj	Histološke karakteristike
I	Tumor zahvaća samo epidermis (melanom <i>in situ</i> )
II	Tumor prodire u papilarni dermis
III	Tumor ispunjava papilarni dermis i dopire do papilarno retikularne granice

IV	Tumor infiltrira u retikularni dermis
V	Tumor zahvaća retikularni dermis i subkutis (potkožno masno tkivo)

Godinu dana nakon Clarka, Breslow je uveo svoju klasifikaciju gdje je podijelio melanom u nekoliko stupnjeva s obzirom na debljinu tumora.

**Tablica 3.** Klasifikacija melanoma po Breslowu (preuzeto iz Rudman Franjo, 2010).

Stupanj	Maksimalna debljina melanoma
I	0,75 mm
II	0,76 – 1,50 mm
III	1,51 – 4,00 mm
IV	4,01 mm

Krajem 1970-tih objavljene su prve kontrolirane studije u kojima je pokazano da mjerenje debljine melanoma po Breslowu ima statistički značajniju prognostičku vrijednost nego mjerenje dubine invazije melanoma po Clarku (Rudman Franjo, 2010).

## 5.2. TNM klasifikacija

American Joint Committee on Cancer uveo je 1992. godine sustav klasifikacije melanoma s obzirom na tri važna prognostička parametra: osobine primarnog tumora, tj. njegova debljina (T), postojanje metastaza regionalnih limfnih čvorova (N) i postojanje udaljenih metastaza (M). Ovakav sustav klasifikacije nastao je na osnovu prognostičkih čimbenika utvrđenih višegodišnjim praćenjem bolesnika s malignim melanomom, a temelji se na patohistološkom nalazu, tj. statusu kirurški dobivenih limfnih čvorova. U ovoj klasifikaciji, melanom je svrstan u četiri stadija, a prognoza je lošija što je stadij viši. Stadiji I i II odnose se na lokalizirane melanome, stadij III na melanom kod kojeg su se razvile metastaze u regionalnim limfnim čvorovima, a stadij IV na melanom s udaljenim metastazama. Za razliku od svih ostalih tumora, u TNM klasifikaciju melanoma uvrštena je i vrijednost LDH (M1c kategorija). Ta iznimka je uključena zbog toga što povišena koncentracija LDH u serumu značajno negativno utječe na preživljenje bolesnika s udaljenim metastazama. TNM sustav klasifikacije mijenjao se i nadopunjavao tijekom godina, a danas se najpotpunijom smatra verzija iz 2010. godine.

**Tablica 4.** TNM klasifikacija melanoma (preuzeto iz Budisavljevi i sur., 2012.)

<b>Primarni tumor (T)</b>	<b>Opis</b>
<b>Tx</b>	nepoznati primarni tumor
<b>T0</b>	bez primarnog tumora
<b>Tis</b>	melanoma <i>in situ</i>
<b>T1</b> <b>T1a</b> <b>T1b</b>	1.0 mm s ili bez ulceracije 1.0 mm i Clark II ili III bez ulceracije 1.0 mm i Clark IV ili V ili s ulceracijom
<b>T2</b> <b>T2a</b> <b>T2b</b>	1.01 – 2.0 mm s ili bez ulceracije 1.01 – 2.0 mm bez ulceracije 1.01 – 2.0 mm s ulceracijom
<b>T3</b> <b>T3a</b> <b>T3b</b>	2.01 – 4.0 mm s ili bez ulceracije 2.01 – 4.0 mm bez ulceracije 2.01 – 4.0 mm s ulceracijom
<b>T4</b> <b>T4a</b> <b>T4b</b>	> 4.01 mm s ili bez ulceracije > 4.01 mm bez ulceracije > 4.01 mm s ulceracijom
<b>Limfni vor (N)</b>	<b>Opis</b>
<b>Nx</b>	nepoznati
<b>N0</b>	bez regionalnih metastaza
<b>N1</b> <b>N1a</b> <b>N1b</b>	metastaza u jednom limfnom voru klini ki okultna (mikroskopska) metastaza klini ki vidljiva (makroskopska) metastaza
<b>N2</b> <b>N2a</b> <b>N2b</b> <b>N2c</b>	metastaze u 2 ili 3 regionalna vora ili intralimfati na regionalna metastaza bez metastaze u limfnom voru klini ki okultna (mikroskopska) metastaza klini ki vidljiva (makroskopska) metastaza sateliti ili <i>in transit</i> metastaze bez metastaze u limfnom voru
<b>N3</b>	metastaze u 4 ili više regionalnih limfnih vorova ili <i>in transit</i> metastaze ili sateliti s metastazama u regionalne limfne vorove
<b>Distalne metastaze (M)</b>	<b>Opis</b>
<b>Mx</b>	nepoznate
<b>M0</b>	bez distalnih metastaza
<b>M1</b> <b>M1a</b> <b>M1b</b> <b>M1c</b>	distalne metastaze metastaze u koži, potkožnom masnom tkivu ili limfnom voru udaljenom od regionalnog limfnog vora metastaze u plu ima metastaze u ostale visceralne organe ili povišena serumska laktička dehidrogenaza (LDH)

### **5.3. Molekularna klasifikacija**

Posljednjih godina u medicini se javio novi trend istraživanja bolesti kroz prizmu molekularne biologije. Proučavaju i bolesti na razini procesa koji se događaju u stanici i molekula koje sudjeluju u tim procesima, molekularna je medicina otkrila brojne signalne putove koji su odgovorni za nastanak i razvoj bolesti. To je izmislilo u ostalog omogućilo i razvoj tzv. pametnih lijekova koji, za razliku od ostalih lijekova i metoda koje su korištene u medicini, nisu neselektivni, već vrlo specifični pa tako djeluju ciljano na to određeni signalni put ili molekulu.

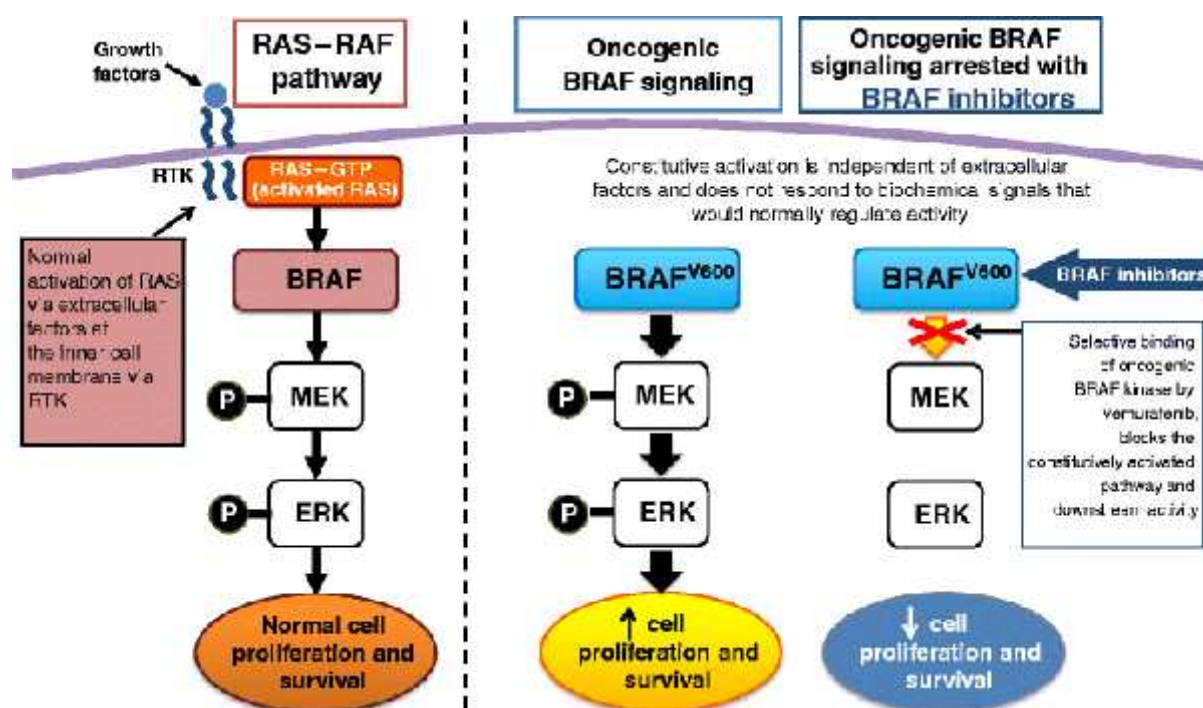
U slučaju melanoma, molekularna medicina dovela je do otkrića brojnih mutacija koje su odgovorne za njegov nastanak te lijekova koji ciljano djeluju na te mutacije. Molekularna klasifikacija melanoma se dakle temelji na mutacijama: CDKN2A mutacija, ciklin D1 mutacija i B-RAF mutacija. Kod prve navedene mutacije, mutiran je gen CDKN2A koji kodira za dva tumor supresorska proteina, a kako su oni uključeni u kontrolu stani nog ciklusa, mutacijom se ta kontrola gubi i stanica se počinje nekontrolirano dijeliti. Kod druge pak mutacije, mutiran je gen koji kodira za onkogen ciklin D1. Ciklin D1 povećava sposobnost stanice za rast tako što ubrzava G1 fazu stani nog ciklusa preko ciklin ovisnih kinaza (CDK4 i CDK6). Posljednja mutacija je B-RAF mutacija koja je detaljno opisana u nastavku.

#### **5.3.1. B-RAF mutacija-signalni put i ciljana terapija**

B-RAF je serin/treonin proteinska kinaza kodirana genom BRAF, a dio je MAPK (mitogen-aktivirani protein kinazni put) signalnog puta. Signalni put započinje vezanjem faktora rasta na tirozin kinazne receptore na staničnoj membrani uslijed čega dolazi do aktivacije proteina RAS. Nakon toga RAS aktivira protein RAF izoforme B (BRAF) koji fosforilacijom aktivira protein MEK. U zadnjem koraku ovih kaskadnih reakcija, aktivirana serin/treonin kinaza MEK fosforilacijom aktivira kinazu ERK i MAPK. Shematski prikaz ovog signalnog puta dan je na Slici 1. Mutacija u genu BRAF uzrokuje poremećaj normalne funkcije proteina BRAF koji je kao protoonkogen važan za rast i diferencijaciju stanica. Mutacija djeluje tako što stimulira fosforilacijsku aktivnost BRAF



kinaze uslijed čega dolazi do aktivacije nizvodnih kinaza što uzrokuje nekontroliranu proliferaciju stanica. U većini slučajeva (preko 90%) BRAF mutacija događa se tako što dolazi do točkaste mutacije u 600. kodonu pri čemu je valin zamijenjen glutaminskom kiselinom (V600E tip BRAF proteina: nukleotid 1799 T>A; kodon GTG>GAG).



**Slika 1.** RAS-RAF signalni put. Shema lijevo predstavlja signalni put stanice u normalnim uvjetima. Shema u sredini prikazuje signalni put uslijed V600E mutacije gena BRAF. Shema desno pokazuje kako je signalni put blokiran inhibitorom (vemurafenib). RTK: receptor tirozin kinaze. (Preuzeto iz Ascierto et al., 2012).

Osim V600E tipa BRAF mutacije, postoje još i V600K (GTG>AAG), V600R (GTG>AGG), V600 'E2' (GTG>GAA, vrlo rijetko-zamjena 2 baze), V600D (GTG>GAT). BRAF mutacija javlja se u oko 50% slučajeva melanoma i značajan je imbenik loše prognoze. Uglavnom se javlja u površinsko širem i nodularnom tipu melanoma, a vrlo rijetko u tumorima koji nastaju na koži opejenoj suncem. Melanomi koji ne nastaju na koži nego u nekim drugim melanocitnim tkivima, također vrlo rijetko imaju BRAF mutaciju. No istraživanja su pokazala da se BRAF mutacija nalazi i u nevusima i polipima crijeva, pa prema tome ona nije sama odgovorna za progresiju nevusa u melanom već ovisi o dodatnim mutacijama. Dokazano je da BRAF mutacija i mutacija tumor supresorskog proteina p53 zajedno dovode do snažnijeg invazivnog

u inka i pojave metastaza, dok kod nevusa naveden signalni put dovodi do inhibitornog u inka. Iz toga se može zaključiti da je razlika između melanoma i nevusa u različitim inhibitornim imbenicima RAS-RAF signalnog puta.

Kao što je već spomenuto, razumijevanje signalnih putova i molekularnih zbivanja u stanici omogućilo je razvoj „pametnih“ lijekova specifičnog djelovanja. Jedan takav lijek koji se koristi u liječenju melanoma je *vemurafenib*, koji je u upotrebi od 2011. godine kada ga je odobrila FDA (U.S. Food and Drug Administration), odnosno 2012. godine kada ga je odobrila i EMA (European Medicine Agency). *Vemurafenib* prekida gore opisani signalni put tako što selektivno inhibira V600E mutacijsku formu BRAF enzima i tako uzrokuje programiranu smrt stanica s mutacijom. Također, slično inhibitorско djelovanje, *vemurafenib* pokazuje i u slučaju V600K mutacije BRAF enzima. Istraživanja su pokazala da je lijek vrlo učinkovit, bolesnici tretirani njime pokazuju značajno poboljšanje bolesti, a osim toga je i nisko toksičan za organizam. No ipak, *vemurafenib* ne djeluje na sve tipove melanoma jer svaki od njih ima svoj specifični onkogeni put nastanka. Osim ovog lijeka, inhibitor BRAF proteina je i lijek *sorafenib*, no on je manje učinkovit od *vemurafeniba* jer inhibira i B i C izoformu BRAF enzima pa je manje selektivan. Znanstvenici intenzivno rade na usavršavanju postojećih i otkrivanju novih „pametnih“ lijekova, a samo neki koji se trenutno ispituju su: *dabrafenib*, RAF-265, XL281, CEP-32496.

## 6. SAŽETAK

Cilj ovog rada bio je dati pregled melanoma kože kroz njegove opće karakteristike, rizike za nastanak i različite tipove s naglaskom na molekularni aspekt bolesti. Melanom je jedan od najzloćudnijih i najagresivnijih tumora zbog velikog potencijala stvaranja udaljenih metastaza, a najvažniji čimbenik u njegovu liječenju jest dijagnostika u ranoj fazi razvoja. Na temelju različitih karakteristika melanoma, napravljena je njegova klasifikacija u brojne kategorije što ima za cilj pomoći liječnicima u predviđanju prognoze i planiranju liječenja bolesnika. Nažalost, incidencija i smrtnost ove bolesti nezaustavljivo rastu, a posljednjih godina tome značajno doprinosi sve veća oštećenja ozonskog omotača zbog sve veće količine UV zračenja dopiru do zemljine površine, a upravo se to zračenje smatra glavnim faktorom nastanka melanoma. Ipak, posljednjih godina dogodio se veliki napredak u medicini otkrićem molekularne podloge melanoma što je omogućilo dizajn specifičnih lijekova koji ciljano djeluju na određene molekule i tako selektivno ubijaju tumorske stanice bez štetnosti za ostatak organizma. Budućnost medicinskih istraživanja usmjerena je na otkrivanje novih lijekova kako bi se veliki postotak smrtnosti melanoma smanjio, dok na smanjenje broja novo oboljelih možemo utjecati i sami zaštitom ozonskog omotača.

## 7. SUMMARY

The goal of this work was to give a short overview of melanoma based on its general characteristics, risks of occurrence and different types of melanoma with the special focus on molecular aspect of the disease. Melanoma shows a high level of malignancy and aggressiveness because of its massive metastatic potential. That's why the early diagnosis greatly increases the chances for successful treatment. Melanoma has been classified in different categories based on its characteristics which should help doctors in making prognosis and plans for patient's treatment. Unfortunately, in the past few years the incidence and mortality of melanoma have constantly been rising, partly because of depletion of the ozone layer so huge amount of UV radiation reaches Earth and exactly this radiation contributes the most to inception of melanoma. However, in the past few years there was a big improvement in medical research. Discovery of molecular basis of melanoma led to the development of targeted therapy which blocks the growth of cancer cells by interfering with specific targeted molecules needed for carcinogenesis and tumor growth. In the future, medical research will be definitely focused in discovering some new "smart drugs" to reduce high mortality rates of melanoma. Moreover, we could all contribute to reducing the number of new cases of melanoma by protecting the ozone layer.

## LITERATURA

- Ascierto et al. (2012). The role of BRAF V600 mutation in melanoma. *Journal of Translational Medicine*.
- Budisavljević i sur. (2012). Patohistološki pokazatelji i mitotski indeks kao prognostički faktori kod primarnih melanoma kože. *Medicina fluminensis*, 48, 164–172.
- Fajdić i sur. (2011). Ileus izazvan metastazom kožnog malignog melanoma: prikaz bolesnika. *Acta Medica Croatica*, 65, 279–283.
- Gruber i sur. (2008). Molecular and Genetic Mechanisms in Melanoma. *Collegium antropologicum*, 32, 147–152.
- Malatestini i sur. (2011). Increasing Burden of Melanoma in Croatia. *Collegium antropologicum*, 35, 267–270.
- Mueller Danko. (2012). B-Raf mutacija te izraženost beta-ksenina, ciklina D1 i p16 u melanomu-doktorski rad.
- Rudman Franjo. (2010). Odnos debljine melanoma i debljine kože kao prognostički pokazatelj metastaza u sentinel limfnom čvoru-disertacija.