Tumor supresorski geni u raku dojke

Franić, Ivana

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of Chemistry / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za kemiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:182:836136

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Repository of the Department of Chemistry, Osijek







Sveučilište J. J. Strossmayera u Osijeku

Odjel za kemiju

Preddiplomski studij kemije

Ivana Franić

Tumor supresorski geni u raku dojke

Tumor suppressor genes in breast cancer

Završni rad

Mentor:

doc. dr. sc. Martina Šrajer Gajdošik

Osijek, 2017.

SAŽETAK

Rak dojke je najčešća zloćudna bolest u žena u razvijenim zemljama svijeta. Iako mehanizam nastajanja raka dojke još uvijek nije u potpunosti razjašnjen, epidemiološka istraživanja utvrdila su razne rizične čimbenike za obolijevanje od ove bolesti, među kojima se razlikuju negenetski i genetski čimbenici. Utvrđeno je da dvije skupine gena imaju ključnu ulogu u indukciji raka, to su onkogeni i tumor supresorski geni. Danas je poznato deset tumor supresorskih gena, koji su uključeni u regulaciju genomskog sadržaja, povezanih s rakom dojke. Tu pripadaju *TP53*, *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM, RAD50, PTEN*, *APC*, *CDH1, RB* i *PALB2*. Mutacije u *BRCA1* i *BRCA2* genima povezane su s obiteljskim nasljeđivanjem raka dojke, te predstavljaju visoki rizik ranog obolijevanja od ove bolesti. Iako se funkcije ovih gena znatno razlikuju svi su oni uključeni u popravke oštećenja DNA i održavanje genomske stabilnosti. Mutacije koje nastaju na tumor supresorskim genima uzrokuju gubitak njihove funkcije i moguće je da je upravo taj mehanizam ključan za razvoj raka dojke. U ovome radu pobliže ću opisati svojstva i funkcije nekih tumor supresorskih gena, njihov doprinos razvoju raka dojke, ujedno ću spomenuti ulogu hormona i negentetskih čimbenika te važnost tumorskih markera pri dijagnostici i liječenju ove zloćudne bolesti.

Ključne riječi: rak dojke, onkogeni, tumor supresorski geni, tumorski markeri

ABSTRACT

Breast cancer is the most common malignant disease in women in developed countries in the world. Although the mechanism of breast cancer development has not yet been fully clarified, epidemiological research has identified various risk factors for the developmentof this disease, where the not genetic and genetic factors play a significant role. It was found that two groups of genes play a key role in inducing cancer, namely oncogenes and tumor suppressor genes. Today, ten tumor suppressor genes, involved in the regulation of genomic contents, are associated with breast cancer. These include *TP53, BRCA1, BRCA2, ATM, RAD50, PTEN, APC, CDH1, RB* and *PALB2*. Mutations in *BRCA1* and *BRCA2* genes are associated with family breast cancer syndrome, and represent a high risk of early breast cancer development. Although the functions of these genes differ significantly, they are all involved in DNA damage repair and maintainenc of genomic stability. Mutations occuring in tumor suppressor genes cause loss of their function and it is possible that this is the mechanism crucial to the development of breast cancer. In this paper I will describe in more detail the properties and functions of some tumor suppressor genes, their contribution to the development of breast cancer, as well as the role of hormones, external factors and the importance of tumor markers in the diagnosis and treatment of this malignant disease.

Key words: breast cancer, oncogenes, tumor suppressor genes, tumor markers

SADRŽAJ

1. Uvod 1
2. Etiologija raka dojke 3
3. Utjecaj hormona na rak dojke 5
4. Uloga gena u raku dojke 9
   4.1. Onkogeni 9
   4.2. Antionkogeni (tumor supresorski geni) 10
      4.2.1. TP53 11
      4.2.2. Rb 14
      4.2.3. BRCA1 16
      4.2.4. BRCA2 18
      4.2.5. ATM 20
      4.2.6. APC 21
      4.2.7. CDH1 22
5. Tumorski markeri raka dojke 25
   5.1. CEA 26
   5.2. CA 15-3 26
   5.3. HER 27
   5.4. NESTIN 28
6. Rano otkrivanje i prevencija raka dojke 29
7. Zaključak 31
8. Literatura 32

1. UVOD

Rak dojke je najčešća zloćudna bolest u žena. U razvijenim je zemljama po učestalosti na prvome mjestu, a u svijetu čini 1/3 svih zloćudnih karcinoma kod žena. Osim kod žena, rak dojke pojavljuje se i kod muškaraca, no u znatno manjoj mjeri. Očituje se pojavom zloćudne tvorbe u području dojke [1,2].

Za vrijeme puberteta u dojkama djevojaka dolazi do razvitka mliječnih žlijezda i tijekom reproduktivne dobi žene, mliječne žlijezde čine veći udio tkiva dojke. Razvoj mliječnih žlijezda uključuje diferencijaciju, proliferaciju i apoptozu stanica [2]. Ovi stanični procesi regulirani su na razini gena. Ukoliko na genima nastanu određene mutacije djelovanjem vanjskih ili unutarnjih čimbenika, gen gubi svoju primarnu funkciju, odnosno gubi mogućnost kontrole nad stanicama, stanice se počinju nekontrolirano dijeliti, a takvo nekontrolirano ponašanje prati i pretvorba zdravih stanica tkiva u tumorske stanice. Tumorske stanice imaju sposobnost da se odvoje od tumorske nakupine i kao takve putuju krvlju do drugih tkiva i organa gdje se nakupljaju i metastaziraju. Mutacija na samo jednom genu nije dovoljna za nastanak tumora, postoje mehanizmi popravka oštećenja DNA koji štite svoj genetski materijal od mogućih promjena. No povezivanjem većeg broja takvih neovisnih događaja dovodi do nastanka tumora [2].

Dvije skupine gena imaju ključnu ulogu u indukciji raka, a to su onkogeni i tumor supresorski geni. Navedeni geni kontroliraju proteine koji sudjeluju u kontroli rasta stanica i proliferaciji. Mutacije onkogena i tumor supresorskih gena dovode do razvitka raka [3].

Onkogeni su geni koji su normalno uključeni u rast i razvoj stanica, međutim kada navedeni gen mutira, dolazi do nastanka nekontroliranog broja kopija ovoga gena. Mutirani onkogen sprječava sazrijevanje stanice i staničnu diferencijaciju na način da potiče stanicu na dijeljenje. Za aktivaciju onkogena potreban je gubitak heterozigotnosti samo jednog alela. Kada obavlja normalnu funkciju, onkogen nosi naziv proto-onkogen, naziv onkogen poprima tek kada se aktivira. Aktivacija onkogena može se odvijati putem 3 mehanizma, to su: (1) mutacija proto-onkogena koja rezultira nastajanjem proteinskog produkta koji ima promijenjenu funkciju, (2) reduplikacija DNA segmenata koji uključuju proto-onkogen što dovodi do povećane

ekspresije proteina i (3) kromosomska translokacija koja uzrokuje neodgovarajuću ekspresiju gena jer kontrolu gena sada obavlja drugi promotor [3].

Tumor supresorski geni su geni koji usporavaju dijeljenje stanica, popravljaju oštećenja DNA i usmjeravaju stanice prema programiranoj smrti. Bez njihove pravilne funkcije stanice prekomjerno rastu. Bitna razlika između onkogena i tumor supresora je da onkogeni nastaju aktivacijom proto-onkogena i tada uzrokuju rak, dok inaktivacija tumor supresorskih gena potiče razvoj raka [4].

Mutacije brojnih tumor supresorskih gena nađene su u nasljednom karcinomu dojke. Analize genoma raka dojke pokazuju da postoji nekolicina tih gena koji su vrlo često mutirani, nasuprot velikog broja onih čije su mutacije znatno rjeđe. Danas je poznato deset tumor supresorskih gena, koji su uključeni u regulaciju genomskog sadržaja, a koji su povezani s nasljednim rakom dojke. To su *TP53, BRCA1, BRCA2, ATM, RAD50, PTEN, APC, CDH1, RB* i *PALB2*. Mutacije u *TP53, BRCA1* i *BRCA2* povezane su sa znatno povišenim rizikom obolijevanja od raka dojke. Do razvijanja tumora dolazi zbog somatskih mutacija na navedenim genima ili zbog gubitka hetereozigotnosti preostalog normalnog alela [5].

Osim promjena na genima koji imaju utjecaj na razvoj raka dojke, postoje i drugi čimbenici koji dovode do malignih promjena, a to su: dob, reproduktivne značajke, kontracepcija, životni stil (pušenje i alkohol) i prekomjerna tjelesna težina.

Sve navedene čimbenike, kao i genske mutacije potrebne za gubitak normalne funkcije gena i proteina pobliže ćemo objasniti u daljnjem tekstu.

2. ETIOLOGIJA RAKA DOJKE

Epidemiološka istraživanja utvrdila su razne rizične čimbenike za obolijevanje od raka dojke, među kojima značajnu ulogu imaju negenetski čimbenici kao što su dob, prehrana i način života, tjelesna aktivnost, porast tjelesne mase, izloženost zračenju, rasna pripadnost i socioekonomski status [1, 6]. Važnu ulogu imaju i mutageni čimbenici, spolni hormoni, slobodni radikali i enzimi koji metaboliziraju karcinogene tvari [7, 8]. Skup čimbenika zajedno uzrokuje promjene u epitelu dojke koje rezultiraju pojavom procesa karcinogeneze, stoga je etiologija raka dojke iznimno kompleksna. Rak dojke zastupljeniji je kod žena nego kod muškaraca, što ujedno govori o utjecaju spolno-steroidnih hormona na razvoj raka dojke. Žene kojima su jajnici u nekom periodu života jednostrano ili obostrano odstranjeni imaju manju vjerojatnost obolijevanja od raka dojke. Spolni hormoni povećavaju mitotsku aktivnost. Estrogeni su iznimno važni u patogenezi raka dojke. Studije proliferacije stanica dojke tijekom različitih faza menstrualnog ciklusa, pokazuju da su estradiol i progesteron povezani s povećanom proliferativnom aktivnošću, a samim time i s rizikom obolijevanja od raka dojke [9].

Na temelju istraživanja koje je provodila Svjetska zdravstvena organizacija, a kojim je obuhvaćeno nekoliko milijuna žena iz različitih zemalja svijeta, utvrđeno je da uzimanje oralne kontracepcije radi sprječavanja trudnoće ili kao hormonski nadomjesna terapija nakon menopauze, povećava rizik obolijevanja od raka dojke sa 1,3 na 1,5 [10]. Estrogeni hormoni povezani su i s pretilošću. Pretile osobe imaju povećani postotak masnoga tkiva koje proizvodi estrogene. Glavni izvor estrogena u masnom tkivu je pretvorba androgenog hormona androstenediona u estron. Povećano lučenje estrogena ima negativan učinak na epitelne stanice dojke, pravilan omjer estrogena i progesterona bitan je za interakcije strome, epitela i čimbenika rasta tijekom karcinogeneze [1, 11, 12].

Rak dojke pojavljuje se kod žena različite životne dobi, no najčešće poslije tridesete godine života [1, 13]. Djevojke koje obolijevaju od raka dojke u razdoblju od osamnaeste do dvadesetpete godine najčešće imaju genetske predispozicije. Geni koji utječu na razvoj raka dojke nasljeđuju se od oba roditelja kao autosomno dominantno svojstvo koje ima ograničeno „prodiranje“ tj. taj gen može biti sadržan u jednom ili oba roditelja bez da se očituje, odnosno bez da dođe do razvoja raka [1, 12]. Žene koje dolaze iz obitelji u kojima je rak dijagnosticiran njihovoj majci ili

sestri imaju dva do tri puta veći rizik nego žene koje nemaju obiteljske predispozicije. Ukoliko se radi o drugom koljenu srodnosti, rizik je manji od dva. Smatra se kako je čak 10-15% slučajeva raka dojke povezano s obiteljskom predispozicijom te se uglavnom povezuje s mutacijom nasljednog gena *BRCA1*, dok mutacije gena *BRCA2* povećavaju rizik obolijevanja od raka jajnika. Osim navedenih gena, uz nasljednu pojavu raka dojke veže se i tumor supresorski gen *TP53* te onkogen *Ha-ras*. *BRCA1* i *BRCA2* imaju karakteristike tumor supresorskih gena, te imaju zaštitnu ulogu sve dok je jedan od njih heterozigotan. Nasljeđivanje mutacija tih dvaju gena rezultira povećanjem rizika obolijevanja od raka dojke za 85%, ranim pojavljivanjem bolesti te velikim brojem oboljelih u obitelji [1, 10].

Utvrđeno je da i reproduktivne značajke imaju znatan utjecaj na rizik obolijevanja od raka dojke. Rana menarha (do 11 godina) i kasna menopauza (55 godina i više) povećavaju rizik. Kraći vremenski razmaci između dvaju menstrualnih ciklusa također imaju negativan utjecaj na pojavu raka dojke. Prva trudnoća sa 30 godina ili više, povećava rizik za dva puta u odnosnu na prvu donesenu trudnoću prije 20. godine života, koja ima pozitivan, zaštitnički učinak jer potiče mijenjanje nasljednih stanica strukturno i funkcionalno što povećava otpornost stanica prema karcinogenim činiteljima. Nerađanje povećava rizik, a dojenje djeteta ga smanjuje, posebice ako žene doje dijete duži period (godinu dana i više) [14].

Što se tiče negenetskih činitelja, prehrana bogata mastima posebice onih životinjskog podrijetla, povezuje se s nastankom raka dojke. Prema testiranjima provedenim na miševima, Ω-6 nezasićene masne kiseline imaju negativan učinak, dok Ω-3 masne kiseline imaju zaštitni učinak [1]. Nastanak raka dojke povezuje se i s pretjeranim unosom kalorija te konzumiranjem alkohola. Ionizirajuće zračenje jedini je negenetski čimbenik koji ima dokazano karcinogeno djelovanje. Učinak ionizirajućeg zračenja je najjači tijekom adolescentne i mlađe odrasle dobi. Ionizirajuće tvari su tvari topljive u lipidima stoga se nakupljaju u sadržaju lipida u dojci gdje uzrokuju promjenu epitelnih stanica, ulaze u metaboličke procese i vežu se na DNA i na taj način izazivaju promjene nukelotida. Prisutnost karcinogenih tvari koje su posljedica ionizirajućeg zračenja, utvrđena je u cistama u području dojke, aspiratima bradavice pa i u samome mlijeku [15].

3. UTJECAJ HORMONA NA RAK DOJKE

Postoje hormonski neovisni (ER- PR-) i hormonski ovisni (ER+ PR+ ili ER+ PR) rak dojke [13]. Estrogeni su usko povezani sa etiologijom raka dojke, posebice jer su brojna istraživanja dokazala kako duže izlaganje ženskim spolnim hormonima, hormonska nadomjesna terapija te nakupljanje estrogena u masnom tkivu uvelike povećavaju rizik obolijevanja od raka dojke. Kako bi hormon mogao djelovati na određene stanice potrebno je zadovoljiti tri uvjeta. Prvi uvjet je vezanje hormona na specifični receptor ciljane stanice, zatim se taj kompleks hormon-receptor mora povezati s mehanizmom koji će odaslati signal. Koji će pak izazvati promjene u unutarstaničnim procesima. Receptori za steroidne hormone nalaze se u jezgri ili citoplazmi. Stoga, steroidni hormoni moraju ući u stanicu, vezati se na receptor i zajednički djelovati na molekule DNA, dakle, informacija za stvaranje signala sadržana je u kompleksu hormon-receptor. Iako postoje hormoni koji mogu djelovati putem različitih receptora, većinom je jedan receptor specifičan za jedan hormon [1].

Estrogeni su steroidni hormoni, nastaju u jajnicima iz kolesterola, te manje iz acetil-CoA. Najvažniji estrogeni su 17β-estradiol, estron i estriol. Tijekom života žene ti hormoni izlučuju se u različitim količinama i oblicima jer između ostalog ovise i o reproduktivnim značajkama i o starosti žene. Najveće količine estrogena izlučuju jajnici, tijekom trudnoće dodatne količine estrogena izlučuje i posteljica. Kod žena koje su ušle u menopauzu količine izlučivanog estrogena vrlo su male. Estrogen i progesteron vežu se, slabom vezom, za plazmatski albumin i kao takvi prenose krvlju, no nakon kraćeg vremena otpuštaju se u tkiva gdje djeluju preko specifičnih receptorskih molekula. Receptorske molekule su bjelančevine koje sadržavaju domenu za ligand i domenu za DNA. U odsutnosti hormona, receptorske molekule su inaktivne i vezane u kompleks s drugim molekulama. Ukoliko je estrogen vezan za receptor, receptor se aktivira i taj kompleks hormon-receptor iz citoplazme prelazi u jezgru gdje se veže za molekulu DNA i regulira prepisivanje gena. Jednako tako, estrogen sa svojim metabolitima može izazvati mutacije DNA. Stoga se može zaključiti da estrogeni imaju dvostruki učinak na dojku: zaštitni i genotoksični.

U normalnoj dojci estrogeni bi poticali aktivnost tumor supresorskih gena na popravak oštećenja DNA. Ukoliko zbog djelovanja nekih toksičnih učinaka dođe do mutacije tumor supresorskih gena, zaštitni učinak estrogena bit će potisnut, a njegov

genotoksični učinak doći će do izražaja [1]. Postoje dvije vrste receptora za estrogene: klasični ERα i novi ERβ. Ti su receptori kodirani različitim genima, dok za progesteron postoje receptori PR-A i PR-B, koje kodira isti gen [1, 14]. ER je podijeljen u nekoliko domena od A-F i započinje N-terminalnim krajem. Svaka domena sadrži nekoliko regija. A/B regija sadržava o ligandu neovisnu transaktivacijsku funkciju (TAF-1) za koju se smatra da ima ulogu u inhibirajućem djelovanju antiestrogena. U C-domeni ER-a nalaze se dva aminokiselinska slijeda s cisteinskim ostacima koji, koordinirani cinkovim ionom stvaraju motiv cinkovog prstena. Na karboksilnom kraju cinkovog prstena vezane su tri aminokiseline za koje se smatra da imaju glavnu ulogu prepoznavanja elemenata na DNA koji kodiraju hormone. D–domena predstavlja promjenjivu regiju koja sadrži nekoliko bazičnih aminokiselinskih ostataka. E-regija sadrži ligand-vezno mjesto, ligand ovisnu transaktivacijsku funkciju (TAF-2). Uloga F-domene još uvijek nije u potpunosti razjašnjena [15]. Vezanjem estrogena na receptor, dolazi do aktivacije receptora nizom promjena konformacije, nastaje stabilni homodimer koji se veže na specifično mjesto na DNA i od tog mjesta započinje transkripcija gena djelovanjem RNA-polimeraze II. Novonastale mRNA prenose genetičku informaciju u citoplazmu. U citoplazmi određeni hormon inducira sintezu proteina te dolazi do aktivacije strukturalnih proteina i enzima koji potiču rast i promjenu stanice [9].

Estrogenski i progesteronski receptori važni su čimbenici u procjeni stupnja hormonske ovisnosti raka dojke. Kod hormonski ovisnog raka dojke, estrogen potiče proliferaciju tumorskih stanica te prepisivanje gena odgovornih za diobu stanice i lučenje faktora rasta. Otkrićem novih lijekova kao što je tamoksifen, hormonska terapija postala je glavni oblik liječenja hormonski ovisnog raka dojke, na način da ti antiestrogeni djeluju na estrogene sprječavajući njihovo stvaranje ili djelovanje, a time posredno blokiraju proliferaciju stanicu te njihov rast [13]. Ono što može negativno utjecati na endokrinu terapiju je promjenjivost raka. Hormonski ovisan rak dojke često može uznapredovati u hormonski neovisan rak dojke, to ujedno znači i napredovanje bolesti, odnosno nastanak agresivnijeg oblika raka [9]. Prisutnost i koncentracija ER-a i PR-a u raku dojke pokazatelji su terapijskog odgovora na razne hormonske terapije. Iako 70% od ukupne populacije raka dojke izražava prisutnost ER-a, samo će 30% oboljelih pozitivno reagirati na endokrinu terapiju. Nakon određenog vremena velik broj tumora koji su dali odgovor na određenu terapiju,

postaju na nju rezistentni, odnosno postaju hormonski neovisni. Razlog tome leži u gubitku ekspresije ER-a i PR-a [16].

Kada tijekom dužeg vremena ne dolazi do lučenja dovoljne količine estrogena, stanice raka pronalaze mehanizme kojima smanjuju potrebe za estrogenima. Ti mehanizmi se sastoje od nekoliko različitih čimbenika koji zajedničkim djelovanjem dovode do razvoja rezistencije na hormonsku terapiju. Jedan od mogućih razloga razvitka hormonske rezistencije su mutacije na hormonskim receptorima. Strukturalne promjene ER-a mogu biti dovoljne da prouzroče funkcionalne promjene i napredovanje hormonske neovisnosti [17]. Dokazano je da postoji nekoliko vrsta ER mutanata u staničnoj kulturi raka dojke. U hormon-veznoj domeni estrogenskog receptora stimuliranoj tamoksifenom nađene su točkaste mutacije [18]. Jednako tako, nađene su i ER sa izbrisanim eksonom slične mRNA u humanom raku koje pokazuju da je povećana ekspresija ER-a sa brisanim eksonima u međusobnoj povezanosti sa smanjenom osjetljivošću na estrogene te da je promijenjena ekspresija mutiranih ER-a povezana s napredovanjem iz hormonski ovisnog u hormonski neovisni rak dojke [19].

Drugi način kojim stanice raka mogu promijeniti svoj odgovor na endokrinu terapiju je uključivanje izmijenjenih transkripcijskih čimbenika s kojima ER surađuje u adaptaciji transkripcije i njihovog staničnog odgovora. ER je i transkripcijski čimbenik stoga može reagirati s određenim sekvencijama DNA na promotorskom mjestu gena za estrogenski receptor. Primjenom tehnologije rekombinantne DNA antiestrogenske (ER-) stanice raka mogu se prevesti u estrogenske (ER+). U tom slučaju estrogen djeluje kao inhibitor staničnog rasta što ukazuje da je izražavanje transkripcijskih čimbenika važno u vrijeme antiestrogenskog i estrogenskog djelovanja. Promjene transkripcijskih čimbenika kao što su razni čimbenici kromatina i akceptorski proteini na matriksu mogu promijeniti odgovor ER-a, kada su povezani određenim ligandom. Kromatin i nuklearni matriks su vrlo bitni u genskoj ekspresiji, stoga promjene ovih čimbenika pridonose hormonskoj otpornosti i napredovanju hormonski ovisnog raka dojke [8].

Iako postoji više vrsta mehanizama koji dovode do hormonske rezistencije i do progresije raka dojke još uvijek nije u potpunosti rasvijetljen njihov učinak. Stoga je potrebno provoditi istraživanja koja će dovesti do jasnijih odgovora i do boljeg razumijevanja samog odvijanja mehanizma i promjena koje dovode do napredovanja

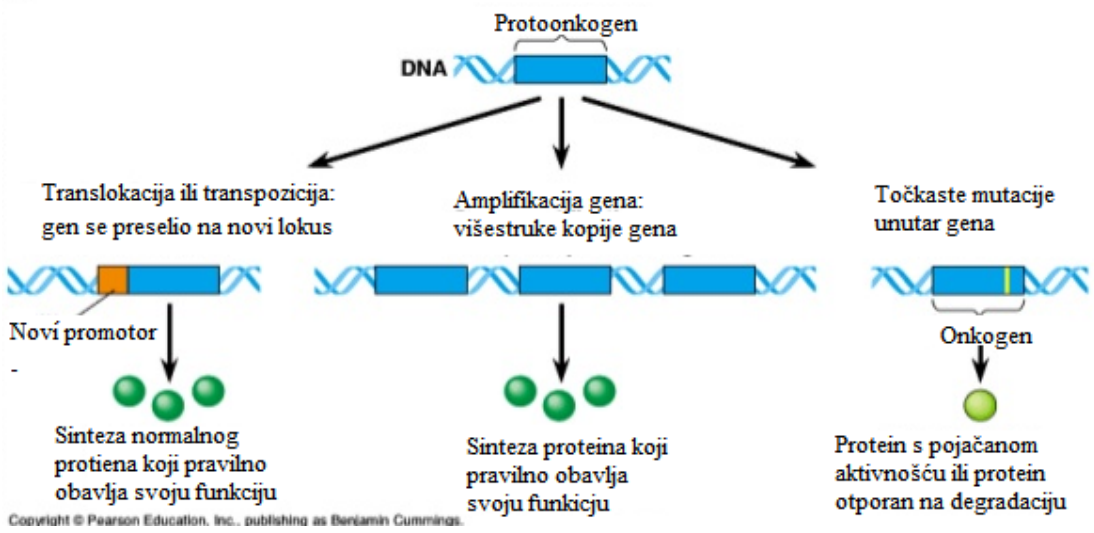
bolesti te pomoću dobivenih rezultata osmisliti nove strategije i lijekove za liječenje ove nemilosrdne bolesti.

4. ULOGA GENA U RAKU DOJKE

Opće poznata činjenica je da su nastanak i progresija raka posljedica stupnjevitih promjena gena. Stanični ciklus reguliraju geni koji djeluju na raznim razinama normalnog života stanice: množenju, diferencijaciji, programiranoj smrti [20]. Geni koji se povezuju s nastankom različitih vrsta tumorna najčešće se dijele u dvije skupine: onkogeni i tumor supresorski geni (antionkogeni). Onkogeni se u svom normalnom obliku nazivaju protoonkogenima. Naziv onkogeni dobivaju tek kada njihova pretjerana aktivnosti pridonosi karcinogenezi. Temeljni uzrok koji dovodi do malignog razvoja stanica je poremećaj ravnoteže između tih dvaju skupina gena. Poremećaj ravnoteže uzrokuju genetske promjene kojima se antionkogeni inaktiviraju ili protoonkogeni prijeđu u onkogene koji su nenormalno aktivni [8]. Identificiranih onkogena ima oko sto, a tumor supresorskih gena više od dvadestak. Identifikaciju ovih gena omogućila je njihova promjenjiva struktura i eskpresija u tumorima [1].

4.1. ONKOGENI

Onkogeni su geni koji svojom mutacijom uzrokuju nekontrolirani rast i diobu stanica te dovode do nastanka tumora. Onkogeni zaustavljaju pojedine korake stanične diferencijacije te inhibiraju stanično sazrijevanje tako da određenu stanicu potiču na proliferaciju [21]. Aktivacija onkogena odvija se putem umnažanja gena, translokacijom gena i točkastim mutacijama (*Slika 1.*). Koja će se od tih promjena dogoditi ovisi o vrsti tumorskih stanica. Za aktivaciju onkogena dovoljna je promjena samo jednog alela. Neki od najčešćih onkogena su: *sis* – čimbenici rasta; *erbB1*, *erbB2* - receptori za čimbenike rasta; *ab1* – protein kinaze itd. Tanslokacijom se povećava aktivnost protoonkogena. Povećavajući svoju aktivnost, protoonkogeni, tvore hibridne gene čiji je produkt aktivniji od normalnoga gena [9]. Točkaste mutacije dovode do aktivacije *c-ras* gena u mnogim tumorima dok amplifikacija aktivira *c-erbB2* gen u raku dojke [8, 9].



Slika 1. Aktivacija protoonkogena u onkogen odvija se na tri načina. 1. Translokacija protoonkogena na novi lokus. Kao produkt protoonkogena nastaje protein koji pravilno obavlja svoju funkciju. 2. način aktivacije podrazumijeva umnažanje gena, proteinski produkt koji nastaje je u potpunosti funkcionalan. 3. način aktivacije uključuje brojne mutacije na protoonkogenima koje mogu nastati tijekom umnažanja, a kao posljedica mutacija nastaje protein koji nije sposoban obavljati primarnu funkciju. Tada protoonkogen poprima naziv onkogen [22].

4.2. TUMOR SUPRESORSKI GENI (ANTIONKOGENI)

Tumor supresorski geni imaju bitnu ulogu u nastanku i progresiji raka. Prvotna uloga tumor supresorskih gena je da štite stanicu od štetnih učinaka te da sprječavaju zloćudnu pretvorbu stanice i rast tumora. Tumor supresorski geni otkriveni su hibridizacijom zdravih i zloćudnih stanica. Spajanjem zloćudnih i normalnih stanica suzbija se tumorski fenotip uz preduvjet da hibridi sadrže sve kromosome zdrave stanice. Time je dokazano da ljudski genom ima sposobnost „ispravka“ zloćudnih stanica u normalne. [20]. Gubitak funkcije ovih gena dovodi do nastanka tumorna. U brojnim tumorima može se otkriti gubitak heterozigotnosti (LOH, eng. *loss of heterozygosity*), koji nastaje gubitkom jednog od alela tumor supresorskog gena u

usporedbi s alelima u zdravom tkivu. Tri su moguće kombinacije alela tumor supresorskog gena koje mogu dovesti do nastanka karcinoma: homozigotni (-/-), normalni (+/+) i heterozigotni (+/-). Kod normalnih alela karcinom može nastati ukoliko dođe do mutacije oba alela, dok je kod homozigotnih, za razvoj karcinoma, dovoljna mutacija samo jednog alela, jer je jedan od alela već naslijeđen mutiran. Kako bi tumor supresorski geni uopće izgubili svoju funkciju najprije se moraju inaktivirati, a to se za razliku od onkogena postiže inaktivacijom obaju alela [23]. Sve dok je jedan od alela homozigotan tumor supresorski geni zadržavaju svoju normalnu funkciju. U slučaju kada su naslijeđene somatske stanice heterozigotne jer je jedan alel inaktiviran, postoji mogućnost da tijekom života dođe do inaktivacije i drugog alela. Stoga osobe koje nasljeđuju heterozigotne alele sklone promjenama imaju veći potencijal za razvitak zloćudnih bolesti [8, 23].

Retinoblastom (*Rb*) je prvi tumor supresorski gen koji se pokazao promijenjenim u raku dojke. Gubitak funkcije *Rb* može dovesti do agresivne proliferacije i rezistencije na hormonsku anti-estrogensku terapiju. Osim *Rb*, *BRCA1* i *BRCA2* su dva osjetljiva tumor supresorska gena karakteristična za rak dojke.

Mutacije u *BRCA1* i *BRCA2* genima povezane su s obiteljskim sindromom raka dojke, te predstavljaju visoki rizik ranog obolijevanja. Nasljedne mutacije *TP53* gena, znane kao Li-Fraumenijev sindrom, očituju se sklonošću za različite zloćudne bolesti, između ostalih i ovaj [8, 24].

4.2.1. TP53

Gen *TP53* naziva se čuvarom genoma, a njegov produkt je protein p53 koji ima važnu ulogu u regulaciji staničnog ciklusa. Sam gen *TP53* nalazi se na 17. kromosomu na položaju 13.1.

Mutacije gena *TP53* nađene su i na eksonima i na intronima te uvelike utječu na njegovu tumor supresorsku ulogu. Genetske promjene u eksonima dovode do nastanka tumora zbog ne djelotvornog produkta, proteina p53. Promjene koje se događaju u intronima *TP53* gena su najčešće, no još uvijek nije u potpunosti istražen uzrok njihova nastajanja. Dokazano je da promjene u intronima mogu inhibirati tumor supresorsku ulogu p53, uzrokujući pogrešno cijepanje pre-mRNA, čime novonastala mRNA dovodi do nastanka nefunkcionalnog proteina p53. Istraživanja

su pokazala kako do razvitka nekih vrsta tumora dolazi zbog promjene u strukturi DNA introna 6 *TP53* gena [25].

Produkt tumor supresorskog gena *TP53* može aktivirati ili suzbiti velik broj ciljanih proteina koji su uključeni u različite funkcije, uključujući indukciju apoptoze, regulaciju ciklusa, održavanje genoma te popravak DNA [24]. Protein p53 se sastoji od 393 aminokiseline i podijeljen je u četiri domene koje se strukturno i funkcionalno razlikuju [23, 24]. U odnosu na ostale domene, karboksi-terminalna domena najviše se izdvaja zbog sadržaja regulacijske i tetramerizacijske regije koje se vežu na određeni dio proteina te na taj način sprječavaju njegovu interakciju s DNA. Između centralne domene, koja veže DNA, i karboksi-terminalne domene, nalazi se regija preko koje se vrši translokacija proteina p53 iz citoplazme stanice u jezgru. Kofaktor opisanog proteina je cinkov ion [25]. U odnosu na druge tumor supresorske gene čije mutacije dovode do smanjenje proizvodnje proteinskog produkta, mutacije *TP53* zbivaju se uglavnom u jednom alelu, što uzrokuje nakupljanje p53 proteina u stanici i gubitak drugog alela te smanjenje do hemizigotnosti [23].

U normalnim uvjetima, koncentracija p53 su stanici je vrlo niska i regulirana je degradacijom ovisnoj o ubikvitinaciji [23, 24]. Bitnu ulogu u kontroli funkcije p53 ima produkt *MDM2* gena. Ta dva proteina regulirana su mehanizmom povratne sprege. Protein p53 inicira transkripciju gena *MDM2*, a protein MDM2 ima ubikvitin-ligaznu aktivnost koja potiče degradaciju p53 [25]. Također, p53 može postojati u inaktivnom obliku no mora biti aktiviran kako bi sudjelovao u regulaciji tanskripcije [23]. Osim genetskih promjena koje dovode do inaktivacije ovoga gena, inaktivaciju gena *TP53* uzrokuje metilacija promotora, koja dovodi do smanjenja ili obustavljanja transkripcijske aktivnosti samoga gena. Ujedno i prisutnost različitih mikroRNA utječe na inaktivaciju p53 [25]. *TP53* je jedan od najčešće mutiranih gena u humanom raku i ima ključnu ulogu u suzbijanju staničnog rasta i induciranju apoptoze kao odgovora na oštećenje DNA, koje može nastati djelovanjem regentskog zračenja, zračenja UV zrakama i djelovanjem kemijski supstancija, hipoksiju[1], povećano izlučivanje onkogenskih produkata i druge signale stresa (*Slika 2.)* [23, 24].

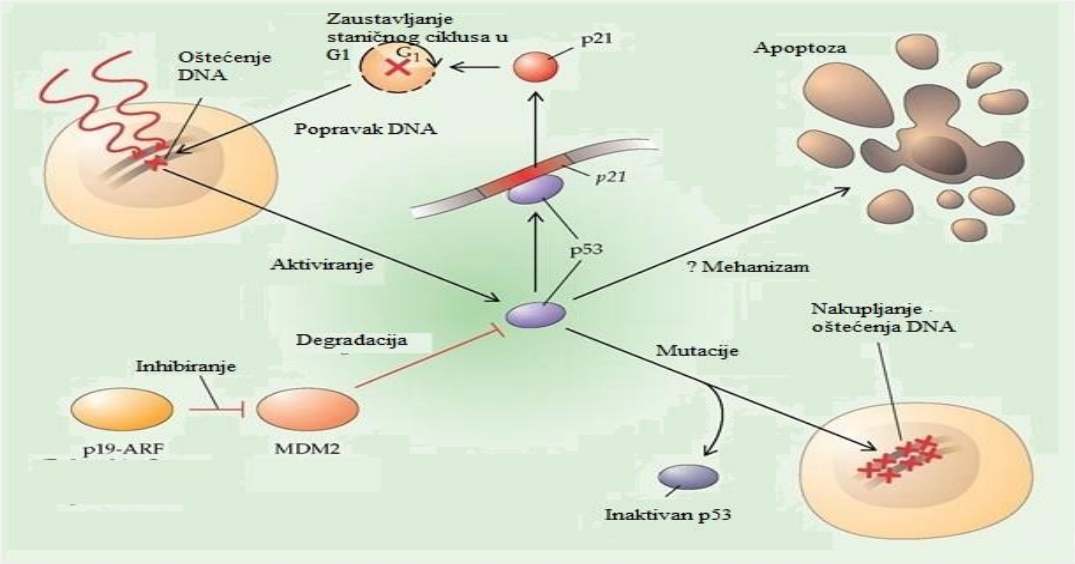
[1] Stanje smanjene opskrbe tkiva i stanica kisikom, što za posljedicu ima poremećaj u funkcioniranju organa.

Aktivirani p53 utječe na transkripcijsku aktivnost brojnih gena uključujući *p21*[2], *MDM2*[3] i *IGFBP3* (eng. *insulin like growth factor binding protein 3*) [23, 24]. Aktivacija p53 rezultira supresijom rasta putem zaustavljanja staničnog ciklusa ili indukcije apoptoze. p53 stanicama s normalnom DNA omogućuje prijelaz u S fazu staničnog ciklusa, dok stanicama s oštećenom DNA molekulom sprječava taj prijelaz. Stoga ga još nazivamo i regulatorom staničnog ciklusa [23, 24, 25]. Supresija rasta posredovana p53 uglavnom se pripisuje blokiranju faze G1[4] staničnog ciklusa, kroz transkripcijsku aktivaciju ili inhibiciju gore navedenih gena. Mutacije *TP53* gena dokazane su u više od 50% svih rakova i loš su prognostički čimbenik [8]. Najčešće mutacije *TP53* gena događaju se u veznoj domeni DNA. Jednako tako p53 je uključen i u kontrolni mehanizam G2/M, kontrolne točke oštećenja DNA. Djelovanje divljeg tipa p53 prestaje u G2/M. Kada je mutirani p53 prekomjerno eksprimiran, može doći do dominacije negativnog učinka koji dovodi do gubitka funkcije divljeg tipa p53 [23, 24]. Mutirani proteinski produkt gena *TP53* je otporan na razgradnju ubikvitinom stoga se duže zadržava u stanici [25]. U odsutnosti divljeg tipa p53, stanice prolaze kroz novu sintezu, bez da su prošle kroz mitozu, što kao posljedicu ima ne udvostručavanje stanica.

Nedavna su istraživanja pokazala da mutacije na *TP53* mogu uzrokovati otpornost na lijekove, uključujući rezistenciju stanica raka na antineoplastik doxorubicin [23]. Ona je rezultat inhibicije apoptoze inducirane lijekom u stanicama s mutiranim *TP53* genima, budući da kemoterapija, kao jedan od oblika liječenja raka, ubijanjem stanica uzrokuje oštećenje DNA i time potiču apoptozu. Stoga, terapija usmjerena na obnavljanje divljeg tipa p53 ne bi samo inhibirala rast tumora, obnovom kontrole kontrolnih točaka staničnog ciklusa, nego bi i tumorske stanice učinila osjetljivim na kemoterapiju [23, 24].

Genske promjene na *TP53* povezane su i s pojavom različitih oblika tumora glave i vrata, mozga, karcinoma debelog crijeva i jetre, karcinoma pluća itd. 30-40% slučajeva raka dojke povezano je sa gubitkom heterozigotnosti alela gena *TP53* [23].

[2] Ciklin ovisan inhibitor kinaza 1
[3] E3 ubikvitin protein kinaza
[4] Podfaza interfaze staničnog ciklusa. Faza u kojoj se događa udvostručavanje.



Slika 2. Oštećenje DNA aktivira p53 protein, koje rezultira dvama staničnim odgovorima: apoptozom ili zaustavljanjem G-faze staničnog ciklusa, odnosno indukcijom inhibitora p21. Zaustavljanjem staničnog ciklusa osigurava se vrijeme za popravak oštećenja. Nemogućnost popravka oštećenja DNA dovodi do akumulacije mutacija. Aktivacija p53 regulirana je *MDM2* i *p19-ARF* genom. MDM2 inducira degradaciju p53 proteina, a p19-ARF inhibira učinak MDM2 i doprinosi aktivaciji p53 [26].

4.2.2. Rb

Gen *Rb* prvi je otkriveni tumor supresorki gen. Njegovo postojanje dokazano je proučavanjem rijetkog dječjeg tumora oka pod nazivom retinoblastom. Retinoblastom je nasljedna bolest, stoga su se istraživanja zasnivala na proučavanju genoma oboljele osobe. Utvrđeno je da do nastanka ove bolesti dolazi mutacijom ili gubitkom normalnih alela *Rb* u stanicama tumora. Istraživanjima provedenim na stanicama retinoblastoma utvrđeno je da stanice retinoblastoma nisu sposobne razvijati tumore kada se u njih unese normalan gen *Rb*, time je ujedno dokazano njegovo tumor supresorsko djelovanje [25]. *Rb* je jedan od genetskih čimbenika uključenih u inicijaciju i/ili napredovanje nekoliko dugih ljudskih karcinoma, uključujući rak dojke, osteosarkom, karcinome mokraćnog mjehura i prostate [27].

Izolacija tumor supresorskog gena *Rb*, bazirana na fizičkoj lokalizaciji, uspješno je izvedena položajnim kloniranjem na kromosomu 13q14. *Rb* kodira Rb protein, fosfoprotein čiji su serinski i treoninski ostaci različito fosforilirani tijekom staničnog ciklusa. Hipofosforilirani Rb prevladava u G1 fazi staničnog ciklusa, a fosforilacija ciklin ovisnim kinazama (CDK) dovodi do ulaska u S fazu [23].

Biokemijske studije pokazale su da Rb djeluje kao transkripcijski modulator koji kontrolira ekspresiju gena bitnih za napredovanje staničnog ciklusa. Osim toga, ima i ključnu ulogu u održavanju stabilnosti kromosoma i kontrolira specifikaciju i diferencijaciju staničnih linija. Rb protein sprječava početak staničnog ciklusa na način da se veže na transkripcijski čimbenik E2F (eng. *transcription factor 1*) i time uzrokuje njegovu inaktivaciju. E2F je stimulator rasta i može potaknuti onkogenu transformaciju, putem transkripcijskog aktiviranja različitih gena uključenih u napredovanje staničnog ciklusa. Tijekom fosforilacije Rb proteina ciklin-ovisnom kinazom (CDK), Rb protein otpušta E2F, koji se zatim aktivira i potiče transkripciju gena i sintezu proteina nužnih za replikaciju [8, 23]. Iako precizan mehanizam djelovanja kojim Rb suzbija rast tumorskih stanica još uvijek nije u potpunosti jasan, njegova interakcija s E2F i ATF-2 (eng. *activating transcription factor 2*) proteinima igra važnu ulogu. Nedavna identifikacija drugih članova E2F obitelji pridonijela je razjašnjenju učinka tkiva specifičnog za *Rb* [23].

U raku dojke je zabilježeno da je oko 20-35% primarnih tumora dojke izgubilo *Rb* ekspresiju, dok su u 7-37% ovoga karcinoma nađene različite mutacije i strukturalne abnormalnosti *Rb*. Osim mutacija i gubitka kromosoma postoje različiti načini inaktiviranja Rb. Nedavne studije pokazuju da metilacija Rb promotora dovodi do značajnog smanjenja Rb produkta, što znači da Rb može biti inaktiviran u tumorima metilacijom jednog alela i gubitkom drugog alela. Također, aktivacija estrogena potiče fosforilaciju, a time i inaktivaciju Rb. Aktivirani ER je sposoban inicirati ekspresiju ciklina D1 i zatim povećati stvaranje kompleksa ciklin D1/CDK4 (ciklin ovisna kinaza 4) koji zauzvrat inaktivira Rb fosforilacijom i omogućava napredovanje staničnog ciklusa. Kod terapija raka dojke, anti-estrogenski tretmani antagoniziraju ER funkciju, dovode do inhibicije ekspresije ciklina D1 i stoga sprječavaju aktiviranje CDK4 i fosforilaciju Rb te inhibiraju napredovanje staničnog ciklusa [23, 24].

Inaktivacija drugih tumor supresorskih gena, ali ne nužno i inaktivacija samog *Rb*, može poticati rast stanica. U staničnim linijama raka dojke, nedostatak Rb

proteina mogao bi potaknuti proliferaciju stanica i ubrzati rast tumorskih stanica. Tumori s nedostatkom Rb obično su više proliferativni, a nedostatak Rb proteina upućuje na lošu prognozu bolesti [23, 24].

4.2.3. BRCA1

Dokazano je da 10% slučajeva raka dojke posljedica genetske predispozicije koja se može pratiti mutacijama u genima *BRCA1* i *BRCA2* [28]. Primarna uloga proteina, produkata ovih gena je inhibiranje abnormalnog dijeljenja i rasta stanica te popravak oštećenja DNA (*Slika 3.)* [29]. Nasljeđivanje ovih gena je autosomno dominantno s ograničenim prodiranjem. To znači da se mutirani gen može prenijeti i preko muškog i preko ženskog roditelja kao i drugih članova obitelji bez da se očituje razvoj raka kod tih srodnika. Ukoliko osoba naslijedi mutirani gen od jednog roditelja, postoji povećan rizik za razvoj raka dojke i raka jajnika.

Oba gena, *BRCA1* i *BRCA2*, su izrazito velika, a mutacija se može dogoditi na bilo kojem položaju, stoga je otkrivanje mutacije kod pojedinaca metodom molekularnog *screening-a* izrazito zahtjevno. Karcinogeneza kod osoba s mutacijom *BRCA* gena zahtijeva somatsku inaktivaciju preostalog alela divljeg tipa, što upućuje na to da su *BRCA* geni ujedno i tumor supresorski [29, 30]. *BRCA1* i *BRCA2* sadrže velike količine ponavljanih elemenata, što pridonosi kromosomskoj nestabilnosti ovih gena. Kromosomska nestabilnost kao posljedica nedostatka *BRCA1* ili *BRCA2* produkata može biti patogena osnova za stvaranje tumora dojke. U žena koje nasljeđuju inaktivacijsku mutaciju, nedostatak BRCA je kritičan za razvoj bolesti i rezultat je naslijeđenog inaktiviranja alela i somatskog genomskog gubitka alela u epitelnim stanicama dojke ili jajnika. Somatske promjene *BRCA1* i *BRCA2* zajednički su potaknute preraspodjelom ponavljajućih elemenata [29]. Različiti genetički mehanizmi mogu biti odgovorni za somatsku inaktivaciju oba alela *BRCA1* i *2*. Jedna je mogućnost da isti mehanizam može biti odgovoran za gubitak heterozigotnosti obaju alela, ali ne istodobno [28, 29]. Većina karcinoma dojke uzrokovanih genetskom mutacijom pojavljuje se prije 65. godine života, a osobe koje imaju jaku genetsku predispoziciju za razvoj raka dojke kod kojih do tada, još uvijek nije došlo do njegova razvoja, vjerojatno nisu naslijedile genetsku mutaciju [30, 31].

BRCA1 gen nalazi se na 17. kromosomu, to je iznimno veliki gen koji sadrži 24 eksona. Veličinom se posebno ističe ekson 11. *BRCA1* gen kodira protein koji sadrži 1863 aminokiseline i sastoji se od nekoliko domena [23]. Njegova uloga je supresija proliferacije epitelnih stanica u o tkivu majke ovisnom o estrogenima, također utječe na i regulaciju staničnog ciklusa i transkripcije [28]. Dokazano je da BRCA1 dijeli slična svojstva s Rb. Štoviše, pokazano je da zaustavljanje rasta uzrokovano pretjeranom ekspresijom BRCA1 ovisi i o Rb. BRCA1 u interakciji s BRCA2 i p53, te ostalim proteinima koji su uključeni u kontrolnu točku G2-M staničnog ciklusa obavlja različite funkcije. Također, BRCA1 stupa u interakcije s brojnim transkripcijskim aktivatorima i represorima te proteinima koji se javljaju kao odgovor na oštećenje DNA, osobito s onima koji su uključeni u homolognu rekombinaciju (HR) i popravak dvostrukih lanaca. H2AX (eng. *histone family memeber X*) i BRCA1 iniciraju popravak modificiranjem lokalne strukture kromatina na način da dopuštaju prolaz proteinima odgovornim za popravak DNA na oštećeni dio molekule [24, 29]. Do fosforilacije BRCA1 dolazi uslijed oštećenja DNA, pri čemu taj protein gubi svoju funkciju što kao posljedicu ima nezaustavljanje stanica u G2 fazi staničnog ciklusa. Gubitak funkcije BRCA1 često je povezan i s hipermetilacijom njegovog promotora.

Karcinomi dojke s nasljednim mutacijama *BRCA1*, trostruko su negativni bazalni karcinomi (ER/ PR/ HER2). Na temelju istraživanja koje su Liu i suradnici [32] proveli na mišjim modelima, koristeći ljudske stanice dojke, dokazana je da je BRCA1 ekspresija potrebna za diferencijaciju ER negativnih matičnih stanica ili progenitorskih stanica u ER pozitivne luminalne stanice [24]. Važnost ekspresije BRCA1 ukazuje da se stanice dojke s mutiranim *BRCA1* mogu ponašati slično u matičnim i progenitorskim stanicama. Ustanovljeno je da mutacije u *BRCA1* mogu biti prvi korak preobrazbe normalnih matičnih stanica u stanice raka u obiteljskim slučajevima [24].

Dosada je opisano 132 različite mutacije *BRCA1*. Mutacija na karboksi-terminalnom kraju ovoga gena kao posljedicu ima nastanak proteina kojemu nedostaje zadnjih 10 aminokiselina, točnije protein je skraćen za 10 aminokiselina. Upravo taj nedostatak aminokiselina je povezan sa razvojem raka dojke što upućuje na to da je zadnjih 10 aminokiselina ovoga proteina potrebo za njegovo normalno funkcioniranje [23].

Ustanovljeno je da u 50-75% nasljednih karcinoma dojke postoji gubitak heterozigotnosti na području gena *BRCA1*. Postoji vjerojatnost od 51% da će žene s naslijeđenom mutacijom *BRCA1* gena do 50. godine života oboljeti od raka dojke [33].

4.2.4. BRCA2

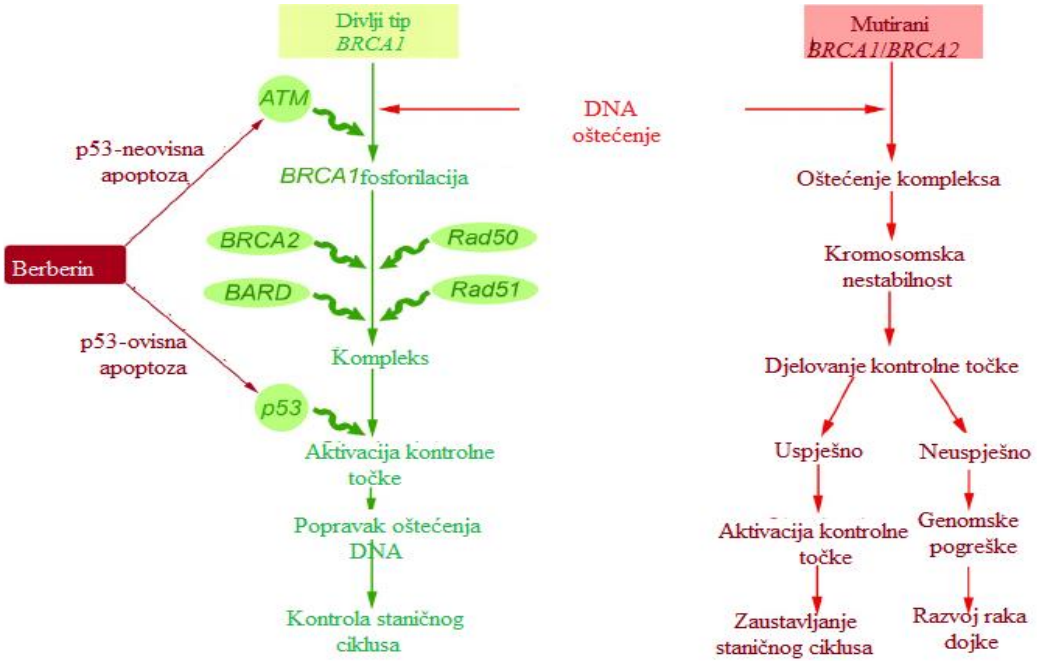
BRCA2 gen lokaliziran je na 13. kromosomu. To je također veliki gen koji sadrži 27 eksona, a njegov proteinski produkt se sastoji od 3418 aminokiselina. *BRCA2* gen kodira za sintezu protein koji djeluje kao tumor supresor, odnosno sprječava brzo i nekontrolirano dijeljenje stanice [34]. Mutacije ovoga gena imaju sličnu tendenciju razvoja raka dojke i jajnika kao i mutacije *BRCA1*. Međutim, mutacije *BRCA2* znatno su češće nego mutacije *BRCA1* [29, 30, 31].

Iako ne postoji snažna povezanost između *BRCA1* i *BRCA2*, oba gena sadrže veliki ekson 11, stoga oba gena imaju sličnu funkciju [23]. BRCA2 je uključen u popravak oštećenja DNA i u održavanje integriteta kromosoma. U normalnim stanicama BRCA2 se veže na protein RAD51 (eng. *recombination and double-stranded break repair protein homolog 1*), te zajedno s njim omogućuje popravak prekida DNA lanca. Prekidi lanaca mogu biti uzrokovani prirodnim ili medicinskim zračenjem, ili zbog djelovanja drugih čimbenika iz okoliša, a pojavljuju se kada kromosomi izmjenjuju genetske materijale u pripremi za podjelu stanica. [24, 34]. RAD51, kao i njegovi homolozi, u ostalim eukariotima i prokariotima popravljaju prekide dvostruke uzvojnice DNA, vezanjem na jednolančanu DNA potiču stvaranje nukeloproteinskog filamenta koji se može ugraditi u dvostruku uzvojnicu DNA molekule [35]. Iz navedenog se može zaključiti da BRCA2 ima ključnu ulogu u održavanju stabilnosti genetske informacije stanica [34].

Postoje mnoge mutacije identificirane u *BRCA2* genu i sve su povezane s razvojem raka dojke. Nastale mutacije rezultat su brisanja ili umetanja manjeg broja nukelotida, time dolazi do proizvodnje abnormalno malih kao i nefunkcionalnih verzija BRCA2 proteina iz jedne kopije gena u svakoj stanici. Time je stanici na raspolaganju manja količina ovog funkcionalnog proteina kojim bi se mogla popraviti oštećenja na DNA. Nakupljanje niza mutacija na genima i nepravilnosti na

DNA, potiču stanicu na rast i nekontrolirano dijeljenje što dovodi do nastanka tumora [24, 34]. Mutacije samo jednog alela u genu *BRCA2* povećavaju osjetljivost na pojavu raka dojke i drugih vrsta tumora, dok mutacije obaju alela gena *BRCA2* uzrokuju recesivni, autosomni sidrom zvan Fanconijeva anemija[5]. Iako BRCA2 obavlja slične funkcije kao i BRCA1, mehanizam pretvorbe matičnih stanica u tumorske stanice ostaje nepoznat, jednako tako još uvijek nije nađen odgovor na pitanje sudjeluje li BRCA2 u toj transformaciji matičnih stanica [24, 33, 34].

Za obitelji koje nose mutacije ovih gena često se kaže da su pogođene nasljednim sindromom raka dojke i jajnika. Žene s mutacija *BRCA2* gena imaju 12-25% veće šanse za razvoj raka jajnika u odnosu na opću populaciju. Jednako tako, više od 30 naslijeđenih mutacija gena *BRCA2* pronađeno je da povećavaju rizik od raka prostate. Muškarci koji nose mutacije ovih gena imaju veću vjerojatnost razvoja raka prostate u mlađoj dobi i često agresivnije nastupanje bolesti [34].



Slika 3. Odgovor *BRCA1* I *BRCA2* na oštećenja DNA u stanicama raka dojke. Uslijed oštećenja DNA, BRCA1 se fosforilira pomoću ATM. Mutirani *BRCA1* i *BRCA2* uzrokuju disfunkciju kontrolne točke što za posljedicu ima razvoj stanica raka u dojci. Berberin je anti-karcinogeni spoj za kojeg se smatra da stanice raka usmjerava ka uništenju putem p53- nezavisnog puta [36].

[5] Jedan od rijetkih nasljednih sindroma zatajenja koštane srži, a nastaje zbog ne mogućnosti popravka oštećenja DNA.

4.2.5. ATM

Među tumor supresorskim genima raka dojke je i *ATM*. *ATM* se nalazi na kromosomu 11q23. Taj gen daje upute za sintezu proteina koji se prvenstveno nalazi u jezgri stanice, gdje pomaže u kontroli brzine rasta stanica i dijeljenje [37]. Protein kodiran *ATM* genom pripada obitelji PI-3[6] kinaza. Članovi ove obitelji sadrže karboksi-terminalnu kinaznu domenu. Nekoliko članova ove obitelji kinaza uključujući proteine kvasca Mecl (eng. *multicatalytic endopeptidase complex*) i Rad3[7] (eng. *protein kinase rad3*), uključene su u popravak DNA i kontrolu kontrolnih točaka staničnog ciklusa. Izravna povezanost između ove obitelji kinaza i popravka DNA dobivena je otkrićem da je DNA-ovisna protein kinaza (DNA-PK) član ove obitelji [38]. Signalizacija PI-3 kinaza utječe na rast stanica, metabolizam, preživljavanje i metastaziranje. PI-3 kinaze aktiviraju faktori rasta i signali iz izvanstaničnog matriksa. Promjene u komponentama PI-3 kinaza, kao što su receptorske tirozinske kinaze česte su kod raka dojke [5].

ATM je vrlo važna serin/treonin kinaza koja djeluje kao kontrolna točka staničnog ciklusa. Ona fosforilizira i na taj način regulira brojne proteine, uključujući proteine tumor supresorskih gena *TP53* i *BRCA1*. Smatra se da je ovaj protein i ATR kinaza, djeluju kao glavni regulatori signalnih putova koji su nužni za reakciju stanica na oštećenje DNA i stabilnost genoma [39]. ATM također igra bitnu ulogu u normalnom razvoju i djelovanju nekoliko tjelesnih sustava, uključujući imunološki i živčani sustav. Navedeni protein pomaže stanicama pri prepoznavanju oštećenih ili pokidanih DNA lanaca. Oštećenja lanca nastaje uslijed toksičnog djelovanja kemikalija ili ionizirajućeg zračenja. ATM protein upravlja popravkom DNA na način da aktivira enzime koji popravljaju razlomljene niti [37].

Mutacije *ATM* gena prvenstveno su povezane s pojavom bolesti ataksija-teleangiektazija (AT). Bolest je još poznata pod nazivom Louis-Bar sindrom. To je iznimno rijetka, autosomno recesivna bolest koja uzrokuje težak oblik invalidnosti. Osobe kod kojih dođe do razvoja ove bolesti najčešće su naslijedile mutacije u obje kopije *ATM* gena u svakoj stanici.

[6] Fosfatidilinozitol-3-kinaza

[7] ATP-ovisna DNA helikaza koja je uključena u popravak DNA oštečenja uzrokovanih UV zračenjem ili djelovajem sredstava za umrežavanje.

4.2.6. APC

APC (eng. *adenomatous polyposis coli*) je ključni tumor supresorski gen čije su mutacije otkrivene ne samo u karcinomu dojke, nego i u karcinomu jetre, debelog crijeva i u drugim vrstama raka. Položaj *APC* gena je na kromosomu 5q21 [20]. Produkt ovoga gena je protein koji se sastoji od 2843 aminokiseline. APC protein sudjeluje u kontroli dijeljenja stanica i pomaže osigurati da je broj kromosoma u stanici ispravan nakon njezina dijeljenja. APC protein ove funkcije najčešće obavlja u sklopu s drugim proteinima, posebice onima koji sudjeluju u udruživanju stanica i staničnoj signalizaciji [20, 40, 41]. APC protein se sastoji se od nekoliko domena kojima se veže na različite proteine, uključujući, između ostalih, aksin, β-katenin i mikrotubule. APC igra ulogu u staničnoj migraciji i adheziji, formiranju mreža mikrotubula itd. Nedovoljna regulacija tih procesa uzrokovana mutacijama *APC* gena je uključena u inicijaciju i progresiju raka dojke [40].

Mutacije u obje kopije *APC* gena pronađene su u 60% nasljednih karcinoma. Mutacije *APC* najčešće rezultiraju nastankom proteina bez značajnih količina karboksi-terminalnih skupina [42]. Budući da skraćenje lanca uzrokuje gubitak domena na koju se vežu β-katenin preko kojeg APC vrši funkciju međustaničnog signaliziranja i mikrotubule citoskeleta, interakcija APC sa β-kateninom i mikrotubulama smatra se neophodnim za njegovu tumor supresorsku aktivnost. Skraćeni protein ne može stupati u interakciju sa β-kateninskim proteinom koji sprječava raspad β-katenina kada više nije potreban. Višak β-katenina promiče podjelu stanica i nekontrolirani rast, čime se stvaraju tumori [40]. Uvođenjem divljeg tipa APC u tumorske stanice, dolazi do preobrazbe tumorskih stanica u normalne stanice. A samu preobrazbu prati i smanjenje koncentracije β-katenina [42].

Iako se mutacije raspršuju na 5' kraju kodirajućeg slijeda, većina somatskih mutacija *APC* sadržana je u središnjem lokaliziranom području, zvanom MCR (eng. *mutation cluster region*). Čak 95% somatskih mutacija nađenih u tumorima FAP (eng. *familial adenomatous polyposis*) pacijenata su ograničene na MCR područje. Utvrđeno je da i FAP pacijenti koji nasljeđuju mutaciju na MCR području imaju lošiju prognozu bolesti [41]. Tip mutacija koje pogađaju gen su točkaste mutacije i mutacije pomaka okvira čitanja [20].

APC ima središnju ulogu u suzbijanju Wnt signalnog puta koji kontrolira diferencijaciju i staničnu proliferaciju u imunološkom sustavu, koži, crijevima i

mozgu. Wnt signalizacija koristi DNA vezujuće transkripcijske faktore, zvane TCF proteini, koji mogu aktivirati transkripciju ciljanih gena u prisutnosti Wnt signala ili potiskivati ekspresiju ciljanih gena u odsutnosi Wnt signala [43]. Prilikom stimulacije ovog puta, β-katenin stimulira transkripciju Wnt- ciljnih gena ovisnih o TCF-u. Postoje dokazi koji ukazuju da APC inhibira katenin/TCF ovisnu transkripciju kroz nekoliko mehanizama. APC osigurava prijenos uništenog kompleksa zajedno sa aksinom koji potiče fosforilaciju i degradaciju katenina ovisno o ubikvitinu. U drugom mehanizmu inhibicije APC potiče izvoz β-katenina iz jezgre što smanjuje količinu kompleksa katenin/TCF. U zadnjem mehanizmu APC se veže na β-katenin onemogućavajući njegovu interakciju s TCF-om [40].

Prema teoriji Kinzlera i Vogelsteina [44], gen *APC* djeluje kao čuvar umnažanja stanica epitela debelog crijeva. U normalnim stanicama uloga čuvara gena je da kontrolira i održava stalnu razinu stanica prilikom njihove sinteze. Ukoliko dođe do mutacija na genima čuvarima nastaje neravnoteža između diobe stanica i apoptoze. No, sve dok *APC* gen čuvar pravilno obavlja svoju funkciju ne može doći do nekontroliranog rasta stanica. Ulogu *APC* kao čuvara gena moguća je samo u stanicama debelog crijeva, dok u drugim tkivima drugi geni obavljaju tu funkciju [20].

Postoji nekoliko studija koje opisuju gubitak heterozigotnosti na *APC* lokusu u bolesnika s rakom dojke, a postotak mutacija ovoga gena nađen u raku dojke varira od 11% do 38%. Iako su mnoga istraživanja usmjerena na proučavanje uloge *APC* u raku dojke još uvijek se u potpunosti ne može reći da li inaktivacija *APC* gena uzrokuje razvitak i progresiju raka dojke [23].

4.2.7. CDH1

1998. godine otkrivena je osjetljivost raka želudca na genetske promjene, točnije na mutacije u inaktivacijskim linijama gena *CDH1*. Na Novom Zelandu proučavane su tri velike Maori obitelji sa ranim razvitkom raka želudca i dokazano je da u većini slučajeva do razvitka raka dolazi zbog nasljeđivanja autosomno, dominantnog gena s visokim prodorom. Daljnjim istraživanjima je dokazano da se nasljedni karcinom

želudca (HDGC) uzrokovan germinalnim mutacijama *CDH1* gena pojavljuje u brojnim obiteljima s različitim etničkim podrijetlom [45].

CDH1 je smješten na kromosomu 16q22, daje upute za sintezu proteina koji se zove epitelni kadherin ili skraćeno E-kadherin. E-kadherin sadrži pet ekstracelularnih kadherinskih ponavljanja, transmembransku regiju i visoko očuvani citoplazmatski rep. Djeluje kao kalcij ovisni stanični adhezijski glikoprotein [45]. Ovaj protein nalazi se unutar membrane koja okružuje epitelne stanice, odnosno stanice koje povezuju površinu i šupljine tijela. E-kadherin pripada obitelji bjelančevina čija je funkcija stanična adhezija[8], prijenos kemijskih signala unutar stanica, kontrola staničnog sazrijevanja te regulacija aktivnosti nekih gena. Kako bi E-kadherin ostao na predodređenom mjestu u staničnoj membrani brine se p120-katenin, proizveden iz *CTNND1* gena, i nekoliko tirozinskih kinaza. Protein p120-katenin sprječava da se E-kadherin prebaci u stanicu procesom koji se zove endocitoza. Interakcije između ova dva proteina važne su za normalan razvoj glave i lica, uključujući i razvoj zubi i kapaka [46].

CDH1 djeluje kao tumor supresorski gen. Gubitak njegove funkcije metilacijom promotora ili inaktivacijom mutacijama dovodi do razvoja i progresije raka nedostatkom inhibicije stanične adhezije, do povećane proliferacije stanica i metastaziranja. U većini slučajeva do nastanka mutacija na *CDH1* genu dolazi zbog gubitka heterozigotnosti divljeg tipa alela [47]. Adhezijska funkcija E-kadherina ovisi o interakciji njegove citoplazmatske domene sa β-kateninom i γ-kateninom. Katenini povezuju kadherine na aktinski citoskelet [45, 46]. Kompleks kadherin-katenin-aktin bitan je za ulogu kadherina kao posrednika stanične adhezije. Važnosti ovoga kompleksa doprinosi i interakcija β-katenina sa *APC* tumor supresorskim genom. Mutirani APC gubi sposobnost reguliranja β-katenina jer ne može ostvariti vezu s kateninima i tako potiče njegovu degradaciju, što rezultira povišenjem nuklearnih i citoplazmatskih koncentracija β-katenina. Zbog gubitka međustanične interakcije, kadherini i katenini zajedno sa APC-om uključeni su u stvaranje ranih neoplazija epitela [20]. I mutacije β-katenina povećavaju njegovu razinu u melanomima i kolorektalnim tumorima, čime se β-katenin klasificira kao onkogeni produkt. Fosforilacijom navedenih katenina moguće je regulirati staničnu adheziju E-kadherina [20, 45, 47].

[8] Prianjanje susjednih stanica jedne uz drugu radi lakšeg formiranja tkiva.

E-kadherin je postao poznat po jakoj aktivnosti suzbijanja invazije u velikom broju eksperimentalnih sustava tumorskih stanica. Dokazano je da je njegova ekspresija često regulirana nizom različitih ljudskih karcinoma. [47]. Osim HDGC, mutacije *CDH1* gena povezane su s povećanom učestalošću lobularnog[9] karcinoma dojke u žena i raka prostate u muškaraca. Nasljedne mutacije *CDH1* gena zauzimaju samo mali udio svih slučajeva raka dojke i uobičajeno se javljaju kod žena bez obiteljske povijesti bolesti. Somatske mutacije ovoga gena ne nasljeđuju se nego se razviju tijekom života i pojavljuju se samo u određenim stanicama dojke. Zbog nedostatka E-kadherina dolazi do rasta stanica grudi i njihova dijeljenja bez kontrolne provjere što za posljedicu ima razvoj kancerogenog tumora. Jednako tako, nedostatak E-kadherina omogućuje odvajanje tumorskih stanica od primarnih tumora i ubrzano metastaziranje u druge dijelove tijela [46].

[9] Pojava lobularnog karcinoma dojke označava razvoj raka dojke u mliječnim žlijezdama koje proizvode mlijeko.

5. TUMORSKI MARKERI RAKA DOJKE

Kada dođe do preobrazbe zdravih stanica tkiva u tumorske stanice, imunološki sustav se aktivira na način da pokušava obraniti organizam od razvitka raka. Međutim kada obrambeni mehanizam organizma zakaže dolazi do nagomilavanja tumorskih stanica i razvitka raka. Kao odgovor na taj proces luče se tumorski markeri [48]. Tumorski markeri ili tumorski biljezi su biomarkeri koji se nalaze u urinu, krvi ili drugim tkivima bolesnika, a nastaju kako odgovor imunološkog sustava na prisutnost raka ili nekih benignih tvorbi. Razvojem raka dolazi do povećanog lučenja tumorskih markera, kao što smo rekli, od strane imunološkog sustava ili kao produkt samoga tumora. Jednako tako ti se markeri u tjelesnim tekućinama i u zdravim tkivima nalaze u manjim koncentracijama [48, 49, 50].

Uloga tumorskih markera je višestruka. Tumorski markeri se koriste pri dijagnostici karcinoma i prognozi bolesti, za praćenje tijeka bolesti i kao dobar pokazatelj odgovora na određenu radioterapiju i kemoterapiju te uspješnost liječenja [48].

Idealni tumorski marker bio bi maksimalno osjetljiv, specifičan i potpuno usklađen sa stanjem bolesti. Međutim, takav tumorski marker ne postoji, jer koncentracija markera može biti povišena pri različitim stanjima, stoga daju velik broj pozitivnih, lažnih rezultata. S druge stane ne luči svaki tumor svoj specifični marker stoga nastaje i niz lažno negativnih rezultata. Većina markera su proizvodi različitih tumora iste vrste tkiva. Jedan od razloga zbog kojeg se tumorski markeri ne mogu koristiti u otkrivanju raka dojke, već prvenstveno imaju ulogu praćenja tijeka bolesti i odgovora na terapiju, je taj što tumorske markere mogu stvarati i normalne stanice [8, 49, 50].

Tumorski markeri u bolesnica s rakom dojke mogu biti lipidne, ugljikohidratne ili proteinske molekule. Postoji trinaest kategorija markera raka dojke. Tumorski markeri koji su predloženi za upotrebu u dijagnostici raka dojke od strane Američkog društva za kliničku onkologiju su: CEA (karcino-embrionski antigen), CA15-3 i CA27-29 (ugljikohidratni antigeni), ER (receptor estrogena), PR (receptor progesterona) te niz drugih markera koji se koriste za *screening* raka dojke no nemaju dovoljno dokaza o njihovoj učinkovitosti kao što su p53, katepsin D, ciklin E i nestin [8, 48, 49].

5.1. CEA

CEA ili karcino-embrionalni antigen ime je dobio po tome što je izoliran iz karcinoma debelog crijeva i embrionalnog tkiva fetusa [50]. CEA pripada obitelji glikoproteina. Osim u karcinomu debelog crijeva, povišene koncentracije ovoga markera karakteristične su i za kolorektalni, plućni i karcinom dojke te u manjoj mjeri za karcinom štitne žlijezde, jajnika, bubrega i vrata maternice [47, 49, 50].

Budući da CEA nije specifična i ne javlja se kao odgovor na samo jednu vrstu karcinoma, ne može se koristiti za neovisno dijagnosticiranje raka, ali zato nalazi primjenu u kontroli liječenja. Redovito praćenje promjene koncentracije ovoga antigena može objasniti rak koji ne reagira na liječenje ili se vraća nakon liječenja jer povećanje razine ovoga markera prethodi nekoliko mjeseci kliničkim znakovima povratka bolesti [48, 49].

CEA je povišen u 40-60% bolesnica s metastaziranim rakom dojke, stoga se može zaključiti da je povišena razina CEA povezana s uznapredovalom bolešću. Sve vrijednosti karcino-embrionalnog antigena više od 10 ng/ml ukazuju na metastaziranje bolesti. Kombinacija CEA s CA 15-3 markerom povećava osjetljivost i specifičnost, stoga koristi za pravilnu dijagnozu u bolesnika sa uznapredovalim rakom dojke [8, 9, 49].

5.2. CA 15-3

CA 15-3 (karcinom antigen) je tumorski antigen specifičan za rak dojke. Jedna od metoda kojima se ovaj marker određuje je imunološki metoda ELISA (eng. *enzyme-linked immunosorbent assay*) [51].

CA 15-3 je transmembranski glikoprotein s velikom izvanstaničnom domenom koji se sastoji od O-vezane glikolizirane proteinske jezgre. CA 15-3 je protein koji sadrži ugljikohidratne jedinice zvane mucin, a sam protein je produkt *MUC1* gena. Poznato je da proteinski produkt *MUC1* gena ometa djelovanje kadherina E i time izravno pridonosi metastaziranju raka [49, 52].

CA 15-3 luče stanice sekretornog receptora, povećane vrijednosti ovoga markera moguće su u malignim tkivima dojke, kao i kod raka pluća, prostate i jajnika. Dopuštena vrijednost CA 15-3 iznosi 24 ng/ml. Umnažanjem stanica tumora koncentracija ovoga markera ubrzano raste [48, 50, 51]. Koncentracija CA 15-3 markera u krvi može se koristiti za *screening* raka dojke kao i drugih malignih bolesti iako pouzdanije rezultate prikazuje pri praćenju tijeka bolesti [49]. Mali postotak žena sa dijagnosticiranim lokaliziranim rakom dojke imaju povišenu koncentraciju opisanog markera u krvi, dok je kod uznapredovalog, odnosno metastaziranog raka dojke ovaj antigen povećan u 50-80% pacijentica. U kombinaciji sa srodnim tumorskim markerom CA 27-29, CA 15-3 je glavni pokazatelj uspješnosti liječenja raka dojke i pojava metastaza jer do povećanje koncentracije ovoga markera u krvi nastupa tri mjeseca ranije nego kod drugih pokazatelja bolesti, tj. tumorskih markera [50].

5.3. HER-2/neu

Dokazano je da aktivacija i prekomjerna ekspresija onkogena igra važnu ulogu u razvoju raka [48]. *HER-2/neu* je onkogen za humani epidermalni čimbenik rasta-2, a proteinski produkt ovoga gena jer receptor za HER-2 protein u stanicama dojke, koji ima ulogu u nekontroliranom rastu tumorskih stanica [1].

Drugi naziv za *HER-2/neu* je *c-erbB-2*, a nalazi se na 17. kromosomu. HER-2 je dio obitelji epidermalnih čimbenika rasta s funkcijom tirozin kinaze [53]. HER-2 receptor se sastoji od jednostruke transmembranske domene, ekstracelularne ligandne vezne domene E te unutar stanične tirozin kinaze. Ekstracelularna domena prolazi kroz proteolitičko cijepanje, čime u krv oslobađa proizvode koji se mogu detektirati [49]. Aktivacija receptora nastupa vezanjem liganda i tada dolazi do povezivanja niza događaja koji dovode stanicu u S-fazu staničnog ciklusa.

U zdravim stanicama dojke HER-2 receptori kontroliraju rast, dijeljenje i popravljanje zdravih stanica dojke. Međutim, u 1/3 karcinoma dojke, HER-2 ne radi ispravno i prekomjerno se umnaža. Novonastali dodatni *HER-2/neu* geni potiču stanice dojke na prekomjernu ekspresiju HER-2 proteina. Time stanice dojke rastu i

dijele se na nekontrolirani način. Rak dojke s prekomjernom ekspresijom HER-2 proteina nazivaju se HER-2 pozitivni karcinomi dojke. Takvi karcinomi dojke imaju bržu tendenciju rasta, brzo se šire i vračaju u usporedi sa HER-2 negativnim rakom [54].

Na temelju istraživanja HER-2 agresivnijih karcinoma dojke na hormonsku terapiju ili kemoterapiju, utvrđeno je da ovakvi karcinomi imaju smanjeni odgovor na tamoksifen i bolji odgovor na hormonske terapije koje sadrže antraciklin te na terapiju herceptinom koji se koristi za liječenje HER-2 pozitivnih karcinoma dojke, što ujedno predstavlja „povoljniju“ stanu prekomjerne ekspresije HER-2 proteina [55]. Herceptin je antitijelo koje se veže na HER-2 receptor, točnije na ekstracelularnu domenu HER-2 receptora i dokazano je da ovaj lijek inhibira rast tumorskih stanica [1]. Pokazano je da je herceptin djelotvoran u kombinaciji sa kemoterapijama, za liječenje ranog stadija raka dojke kao i za liječenje metastaziranog HER-2/neu pozitivnog raka dojke [53]. Osobe oboljele od raka dojke koje su bile podvrgnute kemoterapiji i čiji tumori u prevelikoj mjeri eksprimiraju HER-2/neu, liječenje uz pomoć herceptina u 20% slučajeva daje pozitivan odgovor i ukazuju na uspješnost terapije [1].

5.4. NESTIN

Nestin je ime proteina nastalog iz *NES* gena. Nestin je protein srednjeg filamenta (eng. *intermediate filament,* IF) [49]. Ovaj protein ima bitnu ulogu u stabilizaciji strukture matičnih stanica jer se regenerira i ulazi u stanice kćeri [49, 56].

Nestin je biomarker koji se uspješno identificira u bazalnom i epitelnom sloju, te mliječnim žlijezdama i upravo zbog toga se koristi kao tumorski marker za epitelni rak dojke. Zdravo epitelno tkivo dojke normalno proizvodi nestin, međutim ukoliko dođe do pretvorbe zdravih stanica u stanice raka, količina nestina u stanicama tumora prekomjerno raste [49].

Nestin se pokazao kao učinkovit prognostički čimbenik bazalnog epitelnog karcinoma dojke, najviše zbog toga što se u ovakvim agresivnim karcinomima njegova ekspresija znatno povećava [49].

6. PREVENCIJA I RANO OTKRIVANJE RAKA DOJKE

Postoji više rizičnih čimbenika koji dovode do nastanka raka dojke, između ostalog tu su prehrambene navike, dob, genetske predispozicije, loše životne navike kao što su pušenje i konzumacija alkohola. Iako mehanizam kojim ovi čimbenici dovode do nastanka raka nije u potpunosti poznat, ono što je jasno je da svaki od njih pojedinačno ili u kombinaciji pridonosi zloćudnoj pretvorbi stanica.

U RH svakoga dana šest žena oboli od raka dojke, a u godini dana broj oboljelih dosegne više od dvije tisuće. U 90% slučajeva rak dojke može se uspješno liječiti i izliječiti ako se otkrije u ranom stadiju, stoga je važno osvijestiti ne samo žene, nego i muškarce koji od ove bolesti obolijevaju u znatno manjem broju u odnosu na žene, na važnost prevencije i ranog otkrivanja raka dojke [57].

Znamo da ne možemo utjecati na naše genske mutacije, kao ni na spol, dob ili obiteljsku anamnezu, no primarna prevencija odnosi se na rizične čimbenike na koje se može utjecati. Smatra se kako dugotrajno uzimanje kontracepcije ili hormonski nadomjeske terapije povećava mogućnost razvoja raka dojke. Primarna prevencija odnosi se i na rađanje u ranim 20-tim godinama života i produženo dojenje, jer se dojenjem na epitelnim stanicama dojke stvara zaštitni učinak. Životni stil pojedinca također je potrebno mijenjati, prvenstveno se misli na promjenu loših životnih navika kao što je pušenje i konzumacija alkohola. Iako ne postoje znanstveni dokazi koji ukazuju da pušenje povećava rizik od raka dojke, no svakako ima štetne posljedice na zdravlje. Ne treba piti više od čaše jednog alkoholnog pića na dan. Jednako tako potrebno je više vremena posvetit tjelesnoj aktivnosti, vježbanjem se smanjuju masne naslage u tijelu čime se sprječava akumulacija estrogena i ostalih štetnih čimbenika u masnome tkivu. Bitnu ulogu igra i zdrava prehrana, izbjegavanje masti u prehrani i što veća konzumacija hrane bogate vitaminom C i A [1, 8, 11].

Sekundarna prevencija raka dojke odnosi se na samopregled dojke, klinički pregled dojke, dijagnosticiranje bolesti i njegovo liječenje u ranom stadiju [11]. Za dijagnosticiranje bolesti, između ostalog, koriste se UZV i mamografija. UZV je pogodniji pri pregledu mlađih žena jer je osjetljivi u tom području i znatno precizniji. U svrhu ranog otkrivanja raka dojke, žene bez genetskih predispozicija u dobi od 20 pa do 35 godina, jednomjesečno trebali bi obavljati samopregled dojke te UZV pregled svake dvije godine. Za žene starije od 35 godina, uz navedene preglede za

mlađu dob, preporučuje se i mamografija. S obzirom da vjerojatnost obolijevanja od raka dojke raste s godinama, potrebno je prilagođavati preglede i njihovu učestalost starosti osobe [57]. Žene sa genetskom predispozicijom za razvoj raka dojke trebale bi u dogovoru sa svojim liječnikom već u ranijoj životnoj dobi proći određene testove da se odredi mogućnost razvijanja ove smrtonosne bolesti [1].

Iz svega navedenog može se zaključiti da ključ ka ozdravljenju leži u ranom otkrivanju.

7. ZAKLJUČAK

Rak dojke je najsmrtonosnija bolest u žena, od ove bolesti dnevno u RH oboli 6 žena, u svijetu taj broj vrtoglavo raste. Utvrđeno je da brojni čimbenici pridonose razvoju raka dojke. Postoje negenetski čimbenici na koje je moguće utjecati i na taj način smanjiti rizik od nastanka raka dojke. Postoje i genetski čimbenici kako što su onkogeni i tumor supresorski geni na koje se, nažalost, za sada ne može utjecati. Tumor supresorski geni igraju bitnu ulogu u razvoju raka dojke. To su geni čija je prvotna uloga višestruka, osim što osiguravaju stabilnost genoma, omogućuju popravak oštećenja DNA nastalih djelovanjem vanjskih čimbenika, tumor supresorski geni sudjeluju u replikaciji, rekombinaciji, prijenosu signala, kontroli staničnog ciklusa i u brojnim drugim procesima. U karcinomu dojke bitnu ulogu imaju *TP53, BRCA1, BRCA1, ATM, RB, APC* i drugi tumor supresorski geni. Smatra se da upravo mutacije ovih gena imaju znatnu ulogu u razvitku tumora. Mutacije koje pogađaju alele tumor supresorskih gena dovode do gubitka heterozigotnosti, takav tumor supresorski gen gubi svoju primarnu funkciju i potiče nekontrolirani rast i dijeljenje stanice, odnosno pretvaranje normalnih stanica tkiva dojke u tumorske stanice. Mnogi od ovih gena povezani su i s nasljednim sindromom raka dojke. Tumor supresorski geni mogu utjecati i na rezistentnost raka dojke na hormonsku terapiju. Niti jedan mehanizam djelovanja tumor supresorskih gena nije u potpunosti razjašnjen. Za dijagnostiku, određivanje stupnja bolesti i kao pokazatelji uspješnosti liječenja koriste su tumorski markeri. Tvari koje prirodno proizvodi organizam ili su produkt nastalog tumora. Nedostatak tumorskih markera je njegova nespecifičnost i neosjetljivost na niske stadije bolesti pa se ne mogu koristit za *screening* raka dojke.

Zaključno se može reći da je potrebno uložiti više vremena u daljnje istraživanje, identifikaciju i karakterizaciju mutacija tumor supresorskih gena kako bi se u budućnosti mogle formirati konkretne strategije liječenja koje bi „napadale“ kontrolne točke staničnog ciklusa i na taj način sprječavale razvoj mutacija bez posljedica na zdrave stanice tkiva. Ujedno je potrebno uvesti nove tumorske markere u kliničku upotrebu i razviti studije koje bi izrazito proučavale moguću specifičnost određenog markera. Bitno je napomenuti da primarna prevencija i rano otkrivanje raka dojke, također mogu dovesti do smanjenja stope smrtnosti osoba oboljelih od raka dojke.

8. LITERATURA

1. M. Šamija, S. Juzbašić, V. Šeparović, V. D. Vrdoljak, *Tumori dojke*, Medicinska naklada, Zagreb, 2007; 1-50.
2. http://www.onkologija.hr/rak-dojke/kako-nastaje-rak-dojke/ (10.07.2017.)
3. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21662/ (10.07.2017)
4. https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/genetics/genes-and-cancer/oncogenes-tumor-suppressor-genes.html (10.07.2017.)
5. E.Y.H.P. Lee, W.J. Muller, Oncogenes and Tumor Suppressor Genes, *CSH Perspect. Biol.*, **2** (2010), a003236
6. M. Boranić, *Karcinogeneza*, Medicinska naklada, Zagreb, 2000.
7. L.S. DeBruin, P.D. Josephy, Perspectives on the chemical etiology of breast cancer, *Environ. Health Persp*., **110** (2002), 119.
8. J.G. Brody, R.A. Rudel, Environmental pollutants and breast cancer, *Environ. Health Persp*., **111** (2003), 1007.
9. J. Fajdić, *Bolesti dojke*, Globus, Zagreb, 1998.
10. B.S. Hulka, E.T. Liu, R.A. Lininger, Steroid hormones and risk of breast cancer, *Cancer*, **74 (**1994), 1111-1124.
11. B.S. Hulka, A.T. Stark, Breast cancer: cause and prevention, *The Lancet*, **346** (1995), 883-887.
12. J.A. Williams, D.H. Phillips, Mammary expression of xenobiotic metabolizing enzymes and their potential role in breast cancer, *Cancer Res.*, **60** (2000), 4667-4677.
13. https://www.zdravobudi.hr/clanak/599/svjetski-dan-borbe-protiv-raka-dojke (12.07.2017)
14. J.G. Moggs, G. Orphanides, Estrogen receptors: orchestrators of pleiotropic cellular responses, *EMBO Rep.*, **2** (2001), 775-781.
15. M.T. Tzukerman, A. Esty, D. Santiso-Mere, P. Danielian, M. G. Parker, R. B. Stein, J. W. Pike, D. P. McDonnell, Human estrogen receptor transactivational capacity is determined by both cellular and promoter context and mediated by two functionally distinct intramolecular regions, *Mol. Endocrinol*., **8** (1994), 21-30.

16. R.E. Taylor, T. J. Powles, J. Humphreys, R. Bettelheim, M. Dowsett, A. J. Casey, A. M. Neville, R. C. Coombes, Effects of endocrine therapy on steroid-receptor content of breast cancer, *Brit. J. Cancer*, **45** (1982), 80.
17. M.L. Graham, N. L. Krett, L. A. Miller, K. K. Leslie, D. F. Gordon, W. M. Wood, L. L. Wei, K. B. Horwitz, T47DCO cells, genetically unstable and containing estrogen receptor mutations, are a model for the progression of breast cancers to hormone resistance, *Cancer Res*., **50** (1990), 6208-6217.
18. P.S. Karnik, S. Kulkarni, X.P. Liu, G. T. Budd, R.M. Bukowski, Estrogen receptor mutations in tamoxifen-resistant breast cancer, *Cancer Res*., **54** (1994), 349-353.
19. H. Dotzlaw, M. Alkhalaf, L.C. Murphy, Characterization of estrogen receptor variant mRNAs from human breast cancers, *Mol. Endocrinol*., **6** (1992), 773-785.
20. http://medicinar.mef.hr/assets/arhiva/supresori.pdf (20.07.2017)
21. R.A. Weinberg, Oncogenes, antioncogenes, and the molecular bases of multistep carcinogenesis, *Cancer Res*., **49** (1989), 3713-3721.
22. https://www.slideshare.net/mpattani/the-genetics-of-cancer (16.09.2017.)
23. S. Oesterreich, S.A. Fuqua, Tumor suppressor genes in breast cancer, *Endocr-Relat. Cancer*, **6** (1999), 405-419.
24. W.W. Hwang-Verslues, K.J. Chang, E.Y.H.P. Lee, W.H. Lee, Breast cancer stem cells and tumor suppressor genes, *J. Formos. Med. Assoc*., **107** (2008), 751-766.
25. V. Gunjević, *Gubitak heterozigotnosti tumor supresurskog gena TP53 u meningeomima*, Diss. University of Zagreb. Faculty of Food Technology and Biotechnology. Department of Biochemical Engineering. Laboratory for Biology and Microbial Genetics., Zagreb, 2015.
26. http://what-when-how.com/acp-medicine/molecular-genetics-of-cancer-part-2/ (16.09.2017.)
27. A. Banerjee, H.J. Xu, S.X. Hu, D. Araujo, R. Takahashi, E. . Stanbridge, W.F. Benedict, Changes in growth and tumorigenicity following reconstitution of retinoblastoma gene function in various human cancer cell types by microcell transfer of chromosome 13, *Cancer Res*., **52** (1992), 6297-6304.
28. M.C. King, J.H. Marks, J.B. Mandell, Breast and ovarian cancer risks due to inherited mutations in BRCA1 and BRCA2, *Science*, **302** (2003), 643-646.
29. P.L. Welcsh, M.C. King, BRCA1 and BRCA2 and the genetics of breast and ovarian cancer, *Hum. Mol. Genet*., **10** (2001), 705-713.

30. L. Ottini, G. Masala, C. DAmico, B. Mancini, C. Saieva, G. Aceto, D. Gestri, V. Vezzosi, M. Falchetti, M. De Marco, M. Paglierani, A. Cama, S. Bianchi, R. Mariani-Costantini, D. Palli, BRCA1 and BRCA2 mutation status and tumor characteristics in male breast cancer, *Cancer Res*., **63** (2003), 342-347.
31. K. McPherson, C.M. Steel, J.M. Dixon, ABC of breast diseases. Breast cancer--epidemiology, risk factors and genetics, *BMJ: Brit. Med. J.*, **309** (1994), 1003.
32. S. Liu, C. Ginestier, E. Charafe-Jauffret, E. Charafe-Jauffret, H. Foco, C. G. Kleer, S. D. Merajver, G. Dontu, M. S. Wicha, BRCA1 regulates human mammary stem/progenitor cell fate, *ProcNatl Acad Sci USA*, **105** (2008), 1680–5.
33. J. Fajdić, M. Bišćan, B. Brkljačić, *Suvremena dijagnostika bolesti dojke*, Medicinska naklada, Zagreb, 2001.
34. https://ghr.nlm.nih.gov/gene/BRCA2 (02.08.2017)
35. R. Scully, D.M. Livingston, In search of the tumour-suppressor functions of BRCA1 and BRCA2, *Nature*, **408** (2000), 429.
36. https://www.researchgate.net/figure/264976148_fig3_Fig-4-BRCA1-and-BRCA2-function-in-DNA-repair-in-breast-cancer-cells-When-DNA-damage (16.09.2017.)
37. https://ghr.nlm.nih.gov/gene/ATM (04.08.2017.)
38. Y. Xu, D. Baltimore, Dual roles of ATM in the cellular response to radiation and in cell growth control, *Gene. Dev.*, **10** (1996), 2401-2410.
39. http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=ATM (04.08.2017)
40. K. Aoki, M.M. Taketo, Adenomatous polyposis coli (APC): a multi-functional tumor suppressor gene, *J. Cell Sci.*, **120** (2007), 3327-3335.
41. https://ghr.nlm.nih.gov/gene/APC (07.08.2017.)
42. B. Rubinfeld, I. Albert, E. Porfiri, S. Munemitsu, P. Polakis, Loss of β-catenin regulation by the APC tumor suppressor protein correlates with loss of structure due to common somatic mutations of the gene, *Cancer Res*., **57** (1997), 4624-4630.
43. F. Yi, B.J. Merrill, Stem Cells and TCF Proteins: A Role for β-Catenin—Independent Functions, *Stem Cell Rev*., **3** (2007), 39-48.
44. K.W. Kinzler, B. Vogelstein, Lessons from hereditary colorectal cancer, *Cell*, **87** (1996), 159-170
45. J.A. Norton, C. M. Ham, J. Van Dam, R. B. Jeffrey, T. A. Longacre, D. G. Huntsman, N. Chun, A. W. Kurian, J. M. Ford, CDH1 truncating mutations in the E-cadherin gene: an indication for total gastrectomy to treat hereditary diffuse gastric cancer, *Ann. Surg*., **245** (2007), 873.

46. https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CDH1 (10.08.2017)
47. G. Berx, K.F. Beceker, H. Höfler, F. van Roy, Mutations of the human E-cadherin (CDH1) gene, *Hum. Mutat*., **12** (1998), 226-237.
48. http://www.nalaz.org/v2/bs/tumorski-markeri-u-dijagnostici-zlocudnih-tumora/ (12.08.2017.)
49. A.M. Kabel, Tumor markers of breast cancer: New prospectives, *J. Onco. Sci*., **3** (2017).
50. http://www.cybermed.hr/clanci/tumorski_biljezi_tumorski_markeri (12.08.2017.)
51. http://poliklinika-analiza.hr/usluge?task=2&id=117 (13.08.2017.)
52. M.J. Duffy, CA 15-3 and related mucins as circulating markers in breast cancer, *Ann. Clin. Biochem*., **36** (1999), 579-586.
53. Z. Mitri, T. Constantine, R. O'Regan, *The HER2 receptor in breast cancer: pathophysiology, clinical use, and new advances in therapy*, Hindawi Publishing Corporation (N. F. Saba), Atlanta, 2012., 1-7.
54. http://www.breastcancer.org/symptoms/diagnosis/her2 (14.08.2017.)
55. M. Dowsett, Overexpression of HER-2 as a resistance mechanism to hormonal therapy for breast cancer, *Endocr-Relat. Cancer*, **8** (2001), 191-195.
56. D. Guérette, P. A Khan, P. E Savard, M. Vicent, Molecular evolution of type VI intermediate filament proteins, *BMC Evol. Biol*., **7** (2007), 164.
57. http://ordinacija.vecernji.hr/zdravlje/ohr-savjetnik/prevencija-raka-dojke/ (16.08.2017)