

# Biopokazatelji malignih bolesti crijeva

---

**Brajković, Marija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2018**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:401901>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-08**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



**Marija Brajković**

**Biopokazatelji malignih bolesti crijeva**

**DIPLOMSKI RAD**

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018.

Ovaj je diplomski rad prijavljen na predmetu Biokemija Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za medicinsku biokemiju i hematologiju pod stručnim vodstvom prof. dr. sc. Karmele Barišić.

*Srdačno zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Karmeli Barišić koja je svojim strpljenjem, prijateljskim pristupom i stručnim vodstvom omogućila realizaciju ovoga rada.*

*Hvala svim djelatnicima Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta koji su svojim radom olakšali moje studiranje. Hvala svim mojim prijateljima i kolegama koji su mi uljepšali studentske dane. Zahvaljujem cijeloj svojoj obitelji i bratu, a ponajviše se zahvaljujem svojim roditeljima koji su mi uvijek davali ljubav i podršku u svim studentskim i životnim trenucima, te mi svojim primjerom pokazali najvažnije životne vrijednosti.*

*I na kraju sve moje zahvale idu Tebi Bože bez čije milosti ne bih nikada došla do cilja.*

*Ovaj diplomski rad posvećujem svom pokojnom djedu koji je podlegao tumoru debelog crijeva.*

## SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
1.1. Tumori .....	3
1.1.1. Mehanizam nastanka raka .....	3
1.1.2. Stanica raka .....	4
1.1.3. Uzroci raka .....	5
1.2. Anatomija i histologija crijeva .....	5
1.3. Fiziologija crijeva.....	6
1.4. Maligni tumori debelog crijeva .....	7
1.4.1. Rizici za razvoj tumora debelog crijeva .....	8
1.4.2. Patologija.....	10
1.4.3. Klinička slika.....	10
1.4.4. Probir i dijagnoza .....	11
1.4.5. Klasifikacija tumora debelog crijeva.....	12
1.4.6. Terapija.....	16
2. OBRAZLOŽENJE TEME .....	18
3. MATERIJALI I METODE .....	20
4. REZULTATI I RASPRAVA .....	22
4.1. Biopokazatelji tumorskih bolesti crijeva.....	23
4.2. Kromosomska nestabilnost (CIN).....	24
4.2.1. Aurora.....	24
4.2.2. POLO – slična kinaza (Plk).....	24
4.2.3. Adenomatозна polipoza kolona (APC).....	26
4.2.4. RAS kinaza.....	27
4.2.5. RAF protein kinaze .....	28
4.2.6. Fosfatidil-inozitol-3-kinaza (PI3K).....	29
4.2.7. Tumorski supresorski protein p53.....	30
4.2.8. Gubitak heterozigotnog dijela kromosoma 18 .....	30
4.2.9. Receptor izbrisan u karcinomu kolona.....	30
4.3. Mikrosatelitska nestabilnost (MSI) .....	31
4.4. Fenotip metilatora CpG otoka .....	31
4.5. Proteinski biopokazatelji .....	32
4.5.1. Karcinoembrionalni antigen (CEA) i ugljikohidratni antigen 19-9 (CA 19-9).....	32

4.5.2. Metaloproteinaza izvanstaničnog matriksa-9 (MMP9).....	33
4.5.3. Neutrofilna želatinaza i s njom združeni lipokain (NGAL).....	33
4.5.4. Biopokazatelji povezani s matičnim stanicama.....	35
4.6. MikroRNA biopokazatelji.....	36
4.7. Novi terapijski koncepti .....	37
5. ZAKLJUČCI.....	38
6. LITERATURA.....	40
7. SAŽETAK/SUMMARY .....	50
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/BASIC DOCUMENTATION CARD	

## **1. UVOD**

Maligne bolesti crijeva nalaze se na trećem mjestu po učestalosti među svim zloćudnim tumorima, u razvijenim zemljama svijeta, sa konstantnim trendom porasta (De Rosa i sur., 2016).

Iako je riječ o malignoj bolesti koja ima visoku stopu smrtnosti, riječ je o tumoru čiji se se medicinski tretman i ishod može značajno unaprijediti. Potrebno je razviti mjere primarne i sekundarne prevencije, a istraživanjem uzroka nastanka, biopokazatelja, molekulskih značajki, dijagnostičkih i terapijskih postupaka kolorektalnog karcinoma bave se mnoge studije.

Kolorektalni karcinom nastaje kao rezultat histoloških i molekulskih poremećaja do kojih dolazi uslijed različitih genskih promjena te vanjskih utjecaja. Glavni cilj u liječenju ove bolesti jest pravovremeno otkrivanje bolesti, a da bi bila moguća takva intervencija, potrebno je poznavati potencijalne mehanizme nastanka kolorektalnog karcinoma i molekule koje su pokazatelji malignog oboljenja crijeva.

## **1.1. Tumori**

Najjednostavnija definicija tumora kaže da je riječ o abnormalnoj proliferaciji stanica, odnosno tkiva. Oni mogu proliferirati tako da nastanu benigni (dobarćudni) i maligni (zloćudni) tumori (Cooper i Hausman, 2010).

Glavna razlika dobroćudnog i zloćudog tumora jest zadržavanje tumora na mjestu nastanka. Dok je benigni tumor ograničen na mjesto nastanka, maligni tumor (rak) širi se na susjedno (zdravo) tkivo i na cijelo tijelo (metastaze) (Cooper i Hausman, 2010).

Prema vrsti stanica iz kojih nastaju oni se dijele u tri glavne skupine: karcinomi, sarkomi i leukemije ili limfomi.

Karcinomi su najzastupljeniji oblik tumora i oni čine 90% ukupnih zloćudnih oboljenja (Cooper i Hausman, 2010).

### **1.1.1. Mehanizam nastanka raka**

Osnova razvoja raka jest nenormalna proliferacija jedne stanice, iako sadrži svojstvo klonalnosti, stanica u početku nije stekla sve značajke stanice raka. Nastanak raka zahtjeva niz koraka u kojima dolazi do promjene stanice i ona postaje zloćudna.

Prvi korak nastanka raka je inicijacija tumora, dolazi do mutacije u jednoj stanici koja započinje proces abnormalne proliferacije, što dovodi do prekomjernog rasta monoklonske populacije tumorskih stanica. Drugi korak je progresija koja uključuje dodatne mutacije u tumorskim stanicama (Cooper i Hausman, 2010).

Najraniji stupanj nastanka karcinoma obuhvaća povećanu proliferaciju epitelnih stanica. Od jedne stanice nastaje mala dobroćudna tvorevina, nakon koje proliferacijom dolazi do nastanka većih adenoma. Iz dobroćudnih adenoma, razvijaju se zloćudni karcinomi koji nastavljaju širenje u susjedno tkivo, a i širenje krvnim i limfnim žilama koje im omogućuje metastaziranje širom organizma (Cooper i Hausman, 2010).



### 1.1.2. Stanica raka

Stanica raka nastaje zbog različitih poremećaja koji utječu na mnoge stanične mehanizme.

Apoptoza (programirana stanična smrt) služi kao zaštitni mehanizam protiv tumorigeneze. Tijekom onkogene transformacije neoplastičnih stanica one postaju otporne na apoptozu. Kod raka dolazi do promjene ključnih puteva koji kontroliraju apoptozu, a neke od njih su nakupljanje Bcl-2 (engl. B-cell lymphoma 2) proteina u citoplazmi, mutacija gena *TP53* i sl. Narušena regulacija apoptoze pokreće druge tumorigenske događaje, kao što je produženi životni vijek, akumulacija daljnjih genskih mutacija, angiogeneza i metastaza tumora te doprinosi terapijskoj rezistenciji (Zhang i Yu, 2013).

Normalne, zdrave stanice imaju mogućnost proliferacije ovisnu o gustoći, dok proliferacija stanica raka nije ovisna o gustoći i ne dolazi do inhibicije proliferacije nakon postizanja određenog stupnja gustoće stanica. Tumorske stanice ne ulaze u  $G_0$  fazu, nisu zaustavljene u fazi mirovanja, kao kod zdravih stanica. Stanice raka nastavljaju rasti jedna preko druge u više slojeva jer nema kontaktne inhibicije. Svakom idućom generacijom tumorska stanica gubi određeni stupanj diferencijacije, u konačnici ostaju zarobljene u ranoj fazi diferencijacije u kojoj su se sposobne dijeliti i umnažati (Cooper i Hausman, 2010).

U većini slučajeva stanice raka proizvode vlastite faktore rasta (autokrini stimulacija rasta) i nemaju potrebu za fiziološkim faktorima rasta, dok je u određenim slučajevima ovakvo ponašanje stanice rezultat poremećaja unutarstaničnog signalnog sustava. Osim problema stanične signalizacije na molekularnoj razini, javljaju se i problemi u interakciji između stanica i interakciji stanica i izvanstaničnog matriksa. Zbog smanjenog broja adhezijskih molekula na staničnoj površini stanice raka slabije adheriraju, a također su manje ograničene interakcijom s okolnim tkivom što uvelike olakšava širenje i metastaziranje raka (Cooper i Hausman, 2010).

Osim faktora rasta stanice raka luče proteolitičke enzime koji narušavaju strukturu izvanstaničnog matriksa, te olakšavaju prodiranje u zdravo tkivo. Također imaju i sposobnost lučenja faktora stimuliranja rasta novih krvnih žila, čiji rast nazivamo angiogeneza. Angiogenezom tumor olakšava opskrbu stanica raka kisikom i hranjivim tvarima, ali i zbog prodiranja novonastalih krvnih žila u krvožilni sustav olakšan je proces metastaziranja (Cooper i Hausman, 2010).

### 1.1.3. Uzroci raka

Rak je jako raširena bolest današnjice i svake godine bilježi se porast oboljelih. Ima i gensku i epigenetsku pozadinu. Genski temelji obuhvaćaju promjene u najvažnijim regulacijskim genima, uzrokovane virusima i drugim infektivnim agensima; okolišnim čimbenicima, zračenjem, nezdravim stilom života, i sl. (Tariq i Ghias, 2016).

Epigenetska pozadina raka nije vezana za izravne promjene na DNA, nego se odnosi na metilaciju, modifikacije histona, remodeliranja nukleosoma, procese koji modificiraju gensku ekspresiju.

## 1.2. Anatomija i histologija crijeva

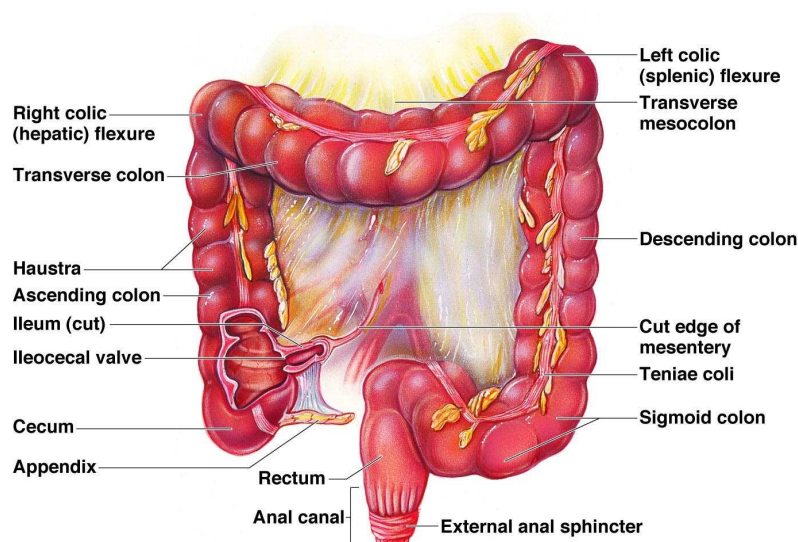
Crijeva su posljednji dio probavne cijevi smještena u trbušnoj šupljini.

Osnovna podjela crijeva jest podjela na tanko i debelo crijevo.

Debelo crijevo (lat. *intestinum crassum*) nastavlja se na tanko crijevo u donjem desnom dijelu trbuha, gdje započinje tvorbom koju nazivamo slijepo crijevo (lat. *caecum*), a na samom dnu slijepog crijeva nalazi se crvuljak (lat. *apendix vermiformis*) (Keros i sur., 1999).

Iz slijepog crijeva nastavlja se uzlazno obodno crijevo (lat. *colon ascendens*), koje se proteže do jetre i zavija na lijevo kao poprečno obodno crijevo (lat. *colon transversum*) koje se lijevom stranom trbušne šupljine od želuca spušta silaznim obodnim crijevom (lat. *colon descendens*) (Keros i sur., 1999).

Obodno crijevo na svom je zavšetku svijeno u zavojito crijevo (lat. *colon sigmoideum*), na kojeg se nastavlja završetak debelog crijeva, ravno crijevo (lat. *rectum*) čiji završetak čini proširenje (lat. *ampulla recti*), a otvara se čmarom (lat. *anus*), kroz koji se procesom defekacije izbacuje crijevni sadržaj (Keros i sur., 1999).



Slika 1. Prikaz anatomije debelog crijeva, preuzeto i prilagođeno prema <http://www.lifeinharmony.me>

Sluznica debelog crijeva obložena je mnogobrojnim Lieberkühnovim kriptama, ali na njoj, za razliku od tankog crijeva, nema resica. Epitelne stanice gotovo uopće nemaju enzima, to su uglavnom mukozne stanice koje izlučuju samo sluz. Sluz čini pretežan dio sekreta u debelom crijevu. Ona sadrži umjerene količine hidrogenkarbonatnih iona. Brzina izlučivanja sluzi ovisi o izravnom dodirnom podraživanju epitelnih stanica koje oblažu debelo crijevo i o lokalnim živčanim refleksima koji podražuju mukozne stanice u Lieberkühnovim kriptama. U debelom crijevu sluz štiti stijenku od oštećenja, a osim toga služi i kao ljepilo koje povezuje fekalne mase. Sluz također štiti crijevnu stijenku od goleme bakterijske aktivnosti u fecesu (Guyton i Hall, 2006).

### 1.3. Fiziologija crijeva

Glavna zadaća crijeva jest apsorpcija hranjivih tvari. Većina apsorpcije u probavnoj cijevi odvija se u crijevima i to najvećim dijelom u tankom crijevu.

Funkcija debelog crijeva je apsorpcija vode i elektrolita iz himusa i stvaranje čvrstoga fecesa koji se pohranjuje do njegova izbacivanja.

Oprilike, dnevno u lumen debelog crijeva dospije 1500 mL himusa. Većinu dospjele mase čini voda i ioni koji se gotovo u potpunosti apsorbiraju, tako da konačna tekućina koja se izbaci fecesom iznosi oko 100 mL. Najveći dio apsorpcije debelog crijeva odvija se u

njegovoj proksimalnoj polovici (apsorpcijski kolon), dok distalni dio debelog crijeva (spremišni kolon) služi za pohranu fekalnog sadržaja (Guyton i Hall, 2006).

Sluznica debelog crijeva ima velik kapacitet aktivne apsorpcije natrija, a gradijent električnog potencijala koji se time stvara uzrokuje i apsorpciju klorida. Spojevi između epitelnih stanica debelog crijeva mnogo su čvršći od onih u tankom crijevu. To sprječava povratnu difuziju i malo znatnijeg dijela iona kroz ta spojišta i sluznici debelog crijeva omogućuje mnogo potpuniju apsorpciju natrijevih iona, tj. apsorpciju protiv mnogo većeg koncentracijskog gradijenta od onoga u tankom crijevu. Sluznica debelog crijeva secernira hidrogenkarbonatne ione, a istodobno procesom zamjenjivanja apsorbira iste količine klorida. Hidrogenkarbonat pomaže pri neutralizaciji kiselih proizvoda koji u debelom crijevu nastaju bakterijskom aktivnošću. Apsorpcija natrijevih i kloridnih iona stvara osmotski gradijent kroz sluznicu debelog crijeva koji zatim uzrokuje apsorpciju vode (Guyton i Hall, 2006).

Apsorpcijski kolon pogodna je podloga za život mnogih bakterija koje tvore crijevni mikrobiom. Najprisutnija bakterija kolona je *Escherichia coli*. Bakterije svojom aktivnošću pridonose stvaranju vitamina K (osobito važan; dnevni unos ovog vitamina nedovoljan za normalan proces koagulacije), vitamina B<sub>12</sub>, tiamina, riboflavina, te kao nusprodukt njihove aktivnosti nastaju brojni plinovi, a najčešće ugljikov dioksid, vodik i metan.

Funkcije debelog crijeva ne iziskuju jake kretnje, pa su kretnje debelog crijeva vrlo trome. Tijekom kontrakcija kružnoga i uzdužnoga mišićja nepodraženi dijelovi debelog crijeva stvaraju ispupčene vrećaste tvorbe, prema van, nazvane haustracije. Haustracije obično postižu vrhunac snage za 30 sekundi, a nestaju tijekom sljedećih 60 sekundi. Kad feces stigne u rektum, rastezanje rektalne stijenke pobuđuje aferentne signale koji se šire mijenteričnim spletom i izazivaju stvaranje peristaltičnih valova u silaznom i sigmoidnom dijelu debelog crijeva te u rektumu, koji potiskuju feces prema anusu. Pošto se peristaltički val približi anusu, inhibicijski signali iz mijenteričnog spleta olabave unutarnji analni sfinkter. Ako se pritom svjesno i namjerno olabavi i vanjski analni sfinkter, doći će do defekacije (Guyton i Hall, 2006).

#### **1.4. Maligni tumori debelog crijeva**

Tumor debelog crijeva jest zloćudna novotvorina epitelnih stanica sluznice debelog crijeva. Rak debelog crijeva ide uzlaznom putanjom što se tiče pojavnosti tumora u svijetu, spada u skupinu tumora s najvećom incidencijom, a također zauzima i veliku stopu smrtnosti među tumorima od 10%. Treći je najčešći oblik raka kod muškaraca, a kod žena drugi (iza raka

dojke) (<http://hlpr.hr/rak/vijest/rak-debelog-crijeva>). Od ukupnog broja oboljelih u Republici Hrvatskoj 16% otpada na mušku populaciju, dok 15% obuhvaća žene, a svake godine broj oboljelih raste za 3000. Iako se o karcinomu debelog crijeva najčešće govori kao o bolesti starije životne dobi, može se javiti u svim životnim razdobljima (<http://hlpr.hr/rak/vijest/rak-debelog-crijeva>). Kod sporadičnih oblika najčešće je riječ o pacijentima iznad 60 godina, dok se nasljedni oblik tumora debelog crijeva javlja uglavnom oko tridesete godine (<http://hlpr.hr/rak/vijest/rak-debelog-crijeva>).

Smrtnost povezana s rakom debelog crijeva povećala se gotovo 40% u posljednjih 40 godina. Očekuje se daljnje povećanje od 60% u idućih 15 godina, te se procjenjuje da će 13 milijuna ljudi 2030. godine umrijeti od kolorektalnog karcinoma (Kuipers i sur., 2015).

#### **1.4.1. Rizici za razvoj tumora debelog crijeva**

Rak debelog crijeva uglavnom je sporadična bolest i kod 75% pacijenata nije riječ o pozitivnoj obiteljskoj anamnezi.

Rizik od tumora debelog crijeva dvostruko je veći kod osoba koje imaju člana obitelji komu je tumor dijagnosticiran u dobi između 50 i 70 godina, dok su šanse za pojavnost tumora jako visoke kod osoba kod kojih dva ili više članova obitelji imaju dijagnosticiran tumor u bilo kojoj dobi.

Kod pacijenata koji imaju nasljedni rizik, najčešći sindrom koji dovodi do razvoja tumora je Lynchov sindrom. Kod osoba s ovim sindromom dolazi do mutacije na genima *MLH1*, *MLH2*, *MSH6*, *PMS2* i *EPCAM*. Osobama s Lynchovim sindromom preporuča se redoviti odlazak na kolonoskopske pretrage kao bi se smanjio rizik, također se preporuča testiranje članova uže obitelji na navedeni poremećaj, jer je rizik da su i oni nositelji sindroma 50% (Kuipers i sur., 2015).

Još jedan nasljedni sindrom koji dodatno povećava rizik od raka debelog crijeva jest obiteljska adenomatozna polipoza kolona, kod kojeg dolazi do mutacije na *APC* genu. Pacijenti s ovim poremećajem skloniji su razvoju velikog broja kolorektalnih adenoma, te kolorektalnog karcinoma u mladoj dobi (Armaghan i sur., 2012).

Osim nasljednog rizika postoji i niz drugih čimbenika koji mogu utjecati na povećanje incidencije tumora debelog crijeva.

Jedan od njih je ulcerozni kolitis te Chronova bolest, a rizik je veći što su remisije kraće, dakle ako se bolest ne stavi pod kontrolu to uvelike povećava rizik od razvoja tumora.

Povećan rizik za nastanak kolorektalnog karcinoma imaju i osobe s dijagnosticiranim polipima kolona i/ili rektuma (Haggar i Boushey, 2009).

Na incidenciju raka debelog crijeva uvelike utječu i egzogeni čimbenici. Najčešći egzogeni čimbenici koji utječu na razvoj kolorektalnog karcinoma jesu kvaliteta ishrane (prehrana bogata mastima životinjskog porijekla, crveno meso, nedovoljan unos prehrambenih vlakana), način obrade namirnica (hrana s roštilja bogata heterocikličkim aminima), konzumiranje alkohola i duhanskih proizvoda, sjedilački način života te prekomjerna tjelesna masa.

Jedan od čimbenika koji također utječe na povećanje incidencije karcinoma debelog crijeva je i sve veći postotak starijeg stanovništva, s obizrom da s dobi raste i rizik od javljanja tumora (Haggar i Boushey, 2009).

Posljednjih se godina sve više istražuje veza između povećane tjelesne mase i raka debelog crijeva. Novije studije pokazuju da se za svaku jedinicu povećanja indeksa tjelesne mase rizik za rak povećava za 2-3% (Kuipers i sur., 2015). Pacijenti s dijabetesom tipa 2 također imaju povećan rizik od razvoja raka, što se može povezati s činjenicom da veliki broj pacijenata s ovim tipom dijabetesa pati od prekomjerne tjelesne težine (Le Marchand i sur., 1997).

Brojna istraživanja pridonijela su razvoju novih medicinskih pristupa u dijagnostici i terapiji karcinoma crijeva poput laparoskopije primarnog tumora, resekcije metastaza, radioterapije i neoadjuvantne terapije (Kuipers i sur., 2015).

Terapijski napredak i na kirurškoj i na farmakološkoj razini posljednjih je godina veliki, ali postotak izlječenja i preživljavanje se ne mijenja.

Osim terapijskoga aspekta i na dijagnostičkoj razini vidljiv je napredak, osobito kad je riječ o probirnoj kolonoskopiji (Kuipers i sur., 2015) te biokemijskim i molekulskim pokazateljima.

## 1.4.2. Patologija

Istraživanja pokazuju da je oko jedne trećina karcinoma debelog crijeva lokalizirano u području desnog kolona, a dvije trećine u području lijeve strane debelog crijeva i rektuma (Gomez i sur., 2004). Histološki karcinom debeloga crijeva dijele se na adenokarcinome, mucinozne adenokarcinome, medularne karcinome, nediferencirane karcinome, adenoskvamozne karcinome i druge tipove karcinoma (Fleming i sur., 2012). Adenokarcinomi su najzastupljeniji oblik i čine ukupno 95% karcinoma (<https://www.cancercenter.com>).

### OBILJEŽJA RAKA:

- izbjegavanje djelovanja imunskog sustava: imunosna supresija u tumorskom mikrookruženju djelovanjem lokalnih citokina;
- izbjegavanje inhibitora rasta: mutacija i smanjena regulacija inhibitora faktora rasta i njihovih receptora;
- genska nestabilnost i mutacija: inaktiviranje mehanizma popravka DNA;
- inhibicija mehanizma koji induciraju starenje i indukcija aktivnosti telomeraze;
- dereguliranje stanične energije: aerobna glikoliza i glutaminoliza;
- upala u svrhu razvoja tumora: indukcija faktora rasta i faktora koji potiču angiogenezu od strane proteina koje proizvode lokalne upalne stanice;
- indukcija angiogeneze: indukcija stvaranja novih krvnih žila;
- otpornost na programiranu staničnu smrt: bijeg od autonomnih i parakrinih medijatora apoptoze i drugih oblika stanične smrti (nekroza, nekrotoza);
- aktivacija širenja i metastaza: remodeliranje izvanstaničnog matriksa za lakši prodor stanica (Kuipers i sur., 2015).

## 1.4.3. Klinička slika

Kolorektalni karcinom raste sporo te je potrebno dugo razdoblje prije nego što se pojave simptomi bolesti, međutim neki pacijenti prvo imaju znakove i simptome metastatske bolesti.

Mjesto tumora, tip, proširenost i komplikacije uvelike utječu na simptome tumora ([www.msdprirucnici.placebo.hr](http://www.msdprirucnici.placebo.hr)).

Desni kolon je većeg promjera, tanje stijenke i njegov sadržaj je tekući, tako da opstrukcija nastaje kasnije. Krvarenje je obično skriveno. Umor i slabost uzrokovani teškom anemijom mogu biti jedini simptomi. Ponekad tumori toliko narastu da se prije pojave simptoma mogu napipati kroz abdominalnu stijenku. Lijevi kolon ima manji lumen, stolica je polučvrsta, a rak pokazuje tendenciju da kružno zahvaća crijeva uzrokujući izmjenjivanje opstipacije s učestalijim stolicama ili proljevima. Može se očitovati djelomičnom opstrukcijom s abdominalnim bolovima tipa kolika ili potpunom opstrukcijom. Stolica može biti prošarana ili pomiješana s krvlju. Neki pacijenti imaju znakove perforacija, obično ograničene (žarišna bol i osjetljivost), također, iako rijetko mogu imati difuzni peritonitis. Kod karcinoma rektuma najčešći simptom je krvarenje tijekom defekacije. Ukoliko nastupi rektalno krvarenje, čak i pri očitim hemeroidima ili pri poznatoj divertikulozi, treba isključiti koegzistirajući rak. Mogu se javiti tenezmi ili osjećaj nepotpune evakuacije stolice. Bol je česta kod perirektalne zahvaćenosti ([www.msd-prirucnici.placebo.hr](http://www.msd-prirucnici.placebo.hr)).

Uznapredovali stadij tumora debelog crijeva, osim crijevne stijenke, zahvaća i okolne limfne čvorove, a kasnije se širi i na udaljena područja kao što su jetra, pluća i kosti. Tada se mogu javiti smetnje koje su odraz zahvaćenosti tih organa (bol i lomovi kostiju, hepatomegalija, ascites, uvećanje supraklavikularnih limfnih čvorova, žutica, kašalj, zaduha).

#### **1.4.4. Probir i dijagnoza**

Od 2008. godine u Republici Hrvatskoj provodi se NACIONALNI PROGRAM RANOG OTKRIVANJA RAKA DEBELOG CRIJEVA koji obuhvaća probir među osobama u dobi između 50 i 74 godine. Test okultnog fekalnog krvarenja (FOBT) provodi se svake druge godine, dok se kod pacijenata koji imaju povišen rizik od razvoja raka debelog crijeva, provedba ovakvog testa preporučuje jednom godišnje.

Pacijente s pozitivnim testom na skriveno krvarenje te one sa znakovima anemije, opstrukcije crijeva te promjene u načinu pražnjenja crijeva (proljevi/zatvor), nužno je podvrgnuti detaljnoj kliničkoj obradi. Dijagnostički postupak uključuje fizikalni pregled, digitorektalni pregled, specifične dijagnostičke pretrage (fleksibilna sigmoidoskopija, kolonoskopija, irigografija, ultrazvučna dijagnostika raka debelog crijeva) te laboratorijske pretrage. Kad se rak dijagnosticira, potrebno je učiniti kompjuteriziranu tomografiju (CT) abdomena, rendgenski snimak (RTG) prsišta i rutinske laboratorijske pretrage radi otkrivanja metastatske bolesti, anemije i procjene općeg stanja. Preoperativna procjena uključuje CT cijelog abdomena i



određivanje koncentracije tumorskih biljega. Dva biljega povezana su s kolorektalnim karcinomom, karcinoembrionalni antigen (CEA) i ugljikohidratni antigen (CA) 19-9, a uz njih se još koristi CA 125. Povišen serumski CEA pronađen je u 70% pacijenata s kolorektalnim karcinomom, ali nije specifičan pa se ne preporučuje u pretraživanju. Međutim, ako je CEA prije operacije visok, a nizak nakon otklanjanja tumora kolona, praćenje CEA može poslužiti za otkrivanje recidiva (<http://www.msd-prirucnici.placebo.hr>).

Kod osoba povišenog i visokog rizika za razvoj raka debelog crijeva program ranog otkrivanja raka debelog crijeva potrebo je započeti u ranijoj životnoj dobi.

#### 1.4.5. Klasifikacija tumora debelog crijeva

U medicini se danas koristi TNM sustav definiranja stadija tumora utemeljen na patološko-histološkoj dijagnozi.

Tumor „T“ uz pridruženi broj definira koliko je duboko tumorsko tkivo ušlo u crijevnu sluznicu.

Node „N“ definira zahvaćenost limfnih čvorova metastazama i to regionalnih čvorova koji su blizini crijeva i rektuma.

Metastasis „M“ opisuje rak koji se putem limfe i krvi proširio u druge dijelove tijela, riječ je o udeljenim metastazama.

Tablica 1. TNM klasifikacija kolorektalnog karcinoma; preuzeto i prilagođeno prema Puerta-García i sur., 2015

TNM klasifikacija tumora debelog crijeva	
Primarni tumor (T)	
<b>Tx</b>	Ne može se procijeniti postojanje primarnog tumora
<b>T0</b>	Nema dokaza o postojanju tumora
<b>Tis</b>	Tumor <i>in situ</i> : intraepitelni ili invazija na <i>laminu propria</i>
<b>T1</b>	Tumor napada submukozu
<b>T2</b>	Tumor prodire u <i>muscularis propria</i>
<b>T3</b>	Tumor prolazi kroz mišićno tkivo u perikolorektalna tkiva
<b>T4a</b>	Tumor prodire do površine viscelarnog peritoneuma
<b>T4b</b>	Tumor izravno napada ili prijanja na druge organe i tkiva

<b>Regionalni limfni čvorovi (N)</b>	
<b>Nx</b>	Regionalni limfni čvorovi se ne mogu procijeniti
<b>N0</b>	Nema metastaza na regionalnim limfnim čvorovima
<b>N1</b>	Metastaze u 1 do 3 regionalna limfna čvora
<b>N1a</b>	Metastaze u 1 regionalnom limfnom čvoru
<b>N1b</b>	Metastaze u 2-3 regionalna limfna čvora
<b>N1c</b>	Nakupine tumorskih stanica u okolnom masnom tkivu, korijenu debelog crijeva bez metastaza u regionalne limfne čvorove.
<b>N2</b>	Metastaza u 4 ili više regionalnih čvorova
<b>N2a</b>	Metastaze u 4-6 regionalnih čvorova
<b>N2b</b>	Metastaze u 7 ili više regionalnih čvorova
<b>Udaljene metastaze (M)</b>	
<b>M0</b>	Nema udaljenih metastaza
<b>M1</b>	Udaljene metastaze
<b>M1a</b>	Metastaze ograničene na jedan organ ili jedno mjesto (npr. jetra, pluća, jajnik, ne-regionalni čvor)
<b>M1b</b>	Metastaze na više organa i mjesta ili u peritoneumu

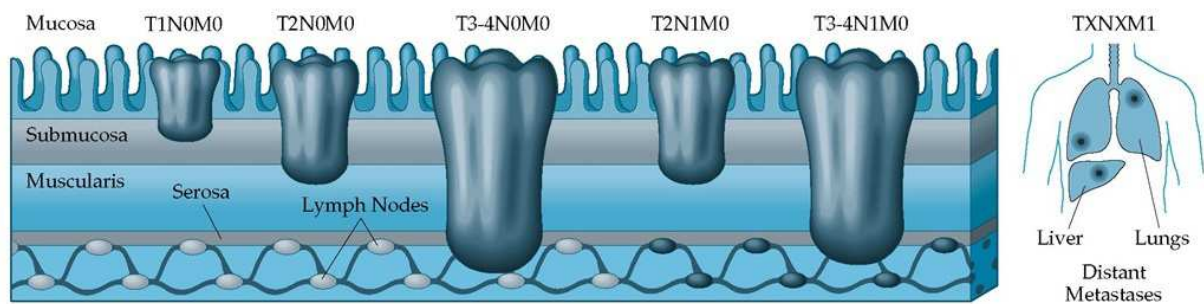
Kombinacijom T, N i M klasifikacije može se odrediti stadij tumorske bolesti. Riječ je o najnovijem AJCC (engl. American Joint Committee on Cancer) sustavu, naziva se još i kirurškim stupnjevanjem tumora. Ovakav je pristup detaljniji i točniji od samog ispitivanja prije operacije, koje uključuje fizički pregled, biopsiju i testove snimanja.

Tablica 2. Stadiji kolorektalnog karcinoma; preuzeto i prilagođeno prema <https://www.cancer.org>

<b>AJCC faze</b>	<b>TNM</b>	<b>Opis faze</b>
<b>0</b>	Tis N0 M0	Rak je u najranijoj fazi. Ova faza je poznata i kao karcinom <i>in situ</i> ili intramukozni karcinom (Tis). Nije narasla preko unutarnjeg soja (sluznice) debelog crijeva ili rektuma.
<b>I</b>	T1 ili T2 N0 M0	Rak je prešao iz mukoze u submukozu (T1), a može također prijeći u <i>muscularis propria</i> (T2). Nije se proširio na obližnje limfne čvorove (N0) ili na udaljena mjesta (M0).

<b>IIa</b>	T3 N0 M0	Rak je prodro u najudaljenije slojevedebelog crijeva ili rektuma, ali nije prošao kroz njih (T3). Nisu dosegnuti obližnji organi. Nije se proširio na obližnje limfne čvorove (N0) ili na udaljenija mjesta (M0).
<b>IIb</b>	T4a N0 M0	Rak je prošao kroz zid debelog crijeva ili rektuma, ali nije prešao na druga obližnja tkiva ili organe (T4a). Još se nije proširio na obližnje limfne čvorove (N0) ili na udaljena mjesta (M0).
<b>IIc</b>	T4b N0 M0	Rak je prošao kroz zid debelog crijeva ili rektuma i prilčvršćen je ili je prešao na obližnja tkiva i organe (T4b). Još se nije proširio na obližnje limfne čvorove (N0) ili na udaljena mjesta (M0).
<b>IIIa</b>	T1 ili T2 N1/N1c M0	Rak je prošao kroz sluznicu u submukozu (T1), a može također prodrijeti i u <i>muscularis propria</i> (T2). Širi se na 1-3 obližnja limfna čvora (N1) ili u područja masnog tkiva oko limfnog čvora, ali ne i sam limfni čvor (N1c). Nije se proširio na udaljena mjesta (M0).
	T1 N2a M0	Rak je prešao iz sluznice u submukozu (T1). Proširio se na 4-6 obližnjih limfnih čvorova (N2a). Nije se proširio na udaljena mjesta (M0).
<b>IIIb</b>	T3 ili T4a N1/N1c M0	Rak je ušao u najudaljenije slojeve debelog crijeva ili rektuma (T3) ili kroz viscelarni peritoneum (T4), ali nije dosegao obližnje organe. Širi se na 1-3 obližnja limfna čvora (N1a ili N1b) ili u područje masnog tkiva u blizini limfnih čvorova (N1c). Nije se proširio na udaljena mjesta (M0).
	T2 ili T3 N2a M0	Rak je prošao u <i>muscularis propriu</i> (T2) ili u najudaljenije dijelove debelog crijeva ili rektuma (T3). Širi se na 4-6 obližnjih limfnih čvorova (N2a). Nije se proširio na udaljena mjesta (M0).
	T1 ili T2 N2b M0	Rak je prošao kroz sluznicu u submukozu (T1), a može također prijeći u <i>muscularis propria</i> (T2). Proširio se na 7 ili više obližnjih limfnih čvorova (N2b). Nije se proširio na udaljena mjesta (M0).
	T4a	Rak se proširio kroz zid debelog crijeva ili rektuma

<b>IIIc</b>	N2a M0	(uključujući i visceralni peritoneum), ali nije dosegao obližnje organe (T4a). Širi se na 4 do 6 obližnjih limfnih čvorova (N2a). Nije se proširio na udaljena mjesta (M0).
	T3 ili T4a N2b M0	Rak je izrastao u najudaljenije slojeve debelog crijeva ili rektuma (T3) ili kroz visceralni peritoneum (T4a), ali nije dosegao obližnje organe. Proširio se na 7 ili više obližnjih limfnih čvorova (N2b). Nije se proširio na udaljena mjesta (M0).
	T4b N1 ili N2 M0	Rak je prošao kroz zid debelog crijeva ili rektuma i pričvršćen je ili je ušao u druga obližnja tkiva ili organe (T4b). Proširen je na najmanje jedan obližnji limfni čvor ili na područja masnog tkiva u blizini limfnih čvorova (N1 ili N2). Nije se proširio na udaljena mjesta (M0).
<b>IVa</b>	T N M1a	Rak se može ili ne mora proširiti kroz zid debelog crijeva ili rektuma (T). Može se ili ne mora proširiti na obližnje limfne čvorove (N). Rasprostranjen je na jedan udaljeni organ (kao što su jetra ili pluća) ili udaljeni skup limfnih čvorova, ali ne i udaljene dijelove peritoneuma (M1a).
<b>IVb</b>	T N M1b	Rak se mogao, ali i nije morao proširiti kroz zid debelog crijeva ili rektuma (T). Mogao se, ali nije morao proširiti i na obližnje limfne čvorove (N). Proširen je na više od jednog udaljenog organa (poput jetre ili pluća) ili udaljene skupine limfnih čvorova, ali ne i udaljene dijelove peritoneuma (M1b).
<b>IVc</b>	T N M1c	Rak je mogao narasti kroz zid debelog crijeva ili rektuma (T). Mogao se proširiti na obližnje limfne čvorove (N). Proširio se na udaljene dijelove peritoneuma i udaljene organe ili limfne čvorove (M1c).



Slika 2. Kirurško stupnjevanje tumora (AJCC); preuzeto i prilagođeno prema <http://what-when-how.com>

#### 1.4.6. Terapija

##### I. stadij (T1 - T2, N0, M0)

Radikalni kirurški zahvat osnovna je i dovoljna terapija početnog stadija bolesti. Nužno je postići negativne proksimalne, distalne i radijalne rubove. Zahvat uključuje i resekciju pripadajućeg mezenterija i drenirajućih limfnih čvorova. Smatra se da najmanje 12 limfnih čvorova treba biti odstranjeno i histološki negativno kao vjerodostojan dokaz da se radi o I. stadiju bolesti .

##### II. stadij (T3 - T4, N0, M0)

Nakon provedenog radikalnoga kirurškog zahvata još uvijek nema općeprihvaćenog stava o potrebi adjuvantne kemoterapije kod ovog stadija bolesti. Samim kirurškim zahvatom izliječi se 75-80% bolesnika. U najvećoj dosad objavljenoj kliničkoj studiji (QUASAR) adjuvantne kemoterapije kod više od 3000 bolesnika u II. stadiju bolesti postignuta je relativno malena, ali statistički značajna razlika ( $p = 0,02$ ) u petogodišnjem preživljavanju u korist liječenih kombinacijom leukovorin + fluorouracil (80%) u odnosu na samo operirane bolesnike (77%) (Brkić i Grgić, 2006).

##### III. stadij (T1 - T4, N1 – N2, M0)

Opće je prihvaćen stav da je nakon radikalnoga kirurškog zahvata nužna adjuvantna kemoterapija (Adjuvantna kemoterapija karcinoma kolona). Njezina osnovna uloga je da uništenjem mikrometastaza izliječi i dio bolesnika koje samim kirurškim zahvatom nije moguće izliječiti. U Hrvatskoj je u ovom trenutku standardna (od HZZO-a odobrena) adjuvantna kemoterapija leukovorin ( $20 \text{ mg/m}^2$  iv., 1. – 5. dan) + 5-fluorouracil ( $425 \text{ mg/m}^2$  iv., 1. – 5. dan), 6 ciklusa u 28-dnevnim razmacima. Adjuvantna monokemoterapija kapecitabinom pokazala se jednako djelotvornom kao i leukovorin + 5-fluorouracil uz znatno manje nuspojava i bolju kvalitetu života. Najbolji uspjeh postiže se FOLFOX-4 kombinacijom (leukovorin + 5-fluorouracil + oksaliplatina). Četverogodišnje preživljavanje

bez progresije bolesti kod bolesnika u III. stadiju liječenih FOLFOX-4 kombinacijom (12 ciklusa, 6 mjeseci) iznosi 70%, a liječenih infuzijskom kombinacijom leukovorin + fluorouracil (12 ciklusa, 6 mjeseci) 61%. Očekuje se da će se u budućnosti prema prognostičkim i prediktivnim faktorima moći individualno odrediti koji će bolesnici imati najviše koristi od adjuvantne kemoterapije, a koji se mogu poštediti ne smanjujući im šanse za izlječenje (Brkić i Grgić, 2006).

## **2. OBRAZLOŽENJE TEME**

Tumor debelog crijeva i rektuma, jedan je od najčešćih uzroka smrti u svjetskoj populaciji, a stopa smrtnosti se, unatoč dijagnostičkom napretku, ne smanjuje. S obzirom na značajnost ove bolesti kako u zdravstvenom tako i u ekonomskom smislu, tumor debelog crijeva intenzivno se istražuje s dijagnostičkog i terapijskog aspekta.

Cilj je ovog diplomskog rada proučiti znanstvenu i stručnu literaturu koja obrađuje maligne bolesti crijeva fokusirajući se pri tome na genske i molekulske biopokazatelje bolesti te na njima utemeljene terapijske koncepte.



### **3. MATERIJALI I METODE**

Ovaj diplomski rad obuhvatio je pregledavanje i obradu znanstvene i stručne literature iz bibliografske baze podataka PubMed pod odgovarajućim ključnim riječima: kolorektalni karcinom (engl. colorectal cancer), tumorigeneza kolorektalnog karcinoma (engl. colorectal cancer tumorigenesis), biopokazatelji (engl. biomarkers), genski biopokazatelji (engl. genetic biomarkers), prognostički biopokazatelji (engl. prognostic biomarkers), u vremenskom razdoblju od 2013. do 2018. godine.

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

#### 4.1. Biopokazatelji tumorskih bolesti crijeva

Prema Europskoj agenciji za lijekove, biopokazatelj je definiran kao biološki indikator koji je pokazatelj normalnih bioloških procesa, patogenih procesa i / ili odgovora za terapijsko ili neko drugo djelovanje (Puerta-García i sur., 2015).

Odnosi se na pokazatelje medicinskog stanja pacijenta na osnovu mjerljivih parametara. Bilo koje mjerenje koje odražava interakcije između biološkog sustava i potencijalne opasnosti koja može biti kemijske, fizičke ili biološke prirode može se definirati kao biopokazatelj bolesti (Strimbu i Tavel, 2010).

Prema njihovoj potencijalnoj kliničkoj primjeni, biopokazatelji mogu biti klasificirani kao prognostički, kada ukazuju na buduće kliničke simptome i tijek bolesti s obzirom na određene klinički ishode; prediktivni, ako pružaju informacije o odgovoru na terapiju; dijagnostički, kada su sposobni razlučiti između različitih osobina, biopokazatelji koji prate progresiju bolesti, kada mogu otkriti ponavljanje ili recidiv bolesti (Puerta-García i sur.,2015).

Epitelne matične stanice najzaštićenija su vrsta crijevnih stanica, nalaze se duboko u kriptama gdje su zaštićene od djelovanja toksina i mutagena, a presvučene su mukoznim slojem (Wright, 2000). Glavni je cilj stanice očuvati i zaštititi njihovu molekulu DNA, a tome pridonosi i asimetrična stanična dioba. Diobom matične stanice nastaju dvije stanice kćeri. Jedna stanica kćer živi tek 5-7 dana, a nakon toga se ljušti s crijevne sluznice, dok druga stanica kćer preuzima ulogu inicijalne stanice i formira novu matičnu stanicu. Ovakvim mehanizmom asimetrične raspodjele DNA, matična stanica štiti genom. Stanica je također razvila i dodatni mehanizam zaštite DNA od potencijalnih mutagena. Na staničnoj membrani producira Mdr1 (engl.multidrug resistance 1) protein koj svojom aktivnošću izbacuje potencijalne mutagene iz stanice. Ovakvo ponašanje stanice stvara i velike probleme u terapiji već postojećeg kolorektalnog karcinoma, djelovanjem Mdr1 dolazi i do izbacivanja kemoterapeutika iz stanice.

Međutim, unatoč tome opisane su pogreške, nestabilnosti u genomu matične stanice. Identificirana su tri različita aspekta genomske nestabilnosti: (1) kromosomska nestabilnost (CIN), (2) mikrosatelitska nestabilnost (MSI) i (3) putevi fenotipa CpG (Armaghany i sur. 2012). Kolorektalni tumor može nastati iz jednog ili iz kombinacije ova tri različita mehanizma.

## **4.2. Kromosomska nestabilnost (CIN)**

CIN slijedi predvidive i određene histološke promjene koje nastaju zbog gubitka ili dodatka dijelova gena ili cijelih kromosoma.

Kromosomska preraspodjela i promjena kromosoma najčešći je mehanizam odgovoran za razvoj CIN-a, a najčešće od svih javlja se aneuploidija. Aneuploidija nastaje zbog promjene u kontrolnoj točki mitoze koja uzrokuje pogrešno razdvajanje kromosoma. Dolazi do mutacija na genima čiji produkti kontroliraju mitotičke diobe kao što su hRod, hZwilch, hZw10 i protein vezan za centromeru (CENP) -E. Osim CENP-E može doći i do povećane ekspresije i drugih gena koji kodiraju centromerne proteine CENP-A i CENP-H te uzrokuju pogrešne lokalizacije na necentromernom dijelu kromatina.

Osim ovih proteina vezanih za mitotičku diobu, na razvoj kolorektalnog karcinoma mogu utjecati i kinaze izravno vezane na centrosom Aurora (AURK) i POLO – slična kinaza (Plk).

### **4.2.1. Aurora**

Aurora - A (AURKA) utječe na stvaranje mikrotubula i stabilizaciju diobenog vretena tijekom mitoze. Prekomjerna produkcija ovog proteina zaustavlja mitozu i uzrokuje polinukleaciju.

Aurora - B (AURKB) regulira modifikaciju histona, segregaciju kromosoma i citokinezu. Aurora - B također je prekomjerno izražena i povezana s tumorima naprednih stadija (Tariq i Ghias, 2016).

Za razliku od prethodna dva navedena proteina prekomjerna produkcija proteina Aurora - C (AURKC) onemogućava aktivaciju mitotičke kontrolne točke koja dovodi do tumorigeneze.

Uz to što utječe na stvaranje diobenog vretena, neuobičajene koncentracije proteina AURKA dovode do aktivacije Plk proteina koji su povezani s 73% kolorektalnih karcinoma s lošom prognozom (Puerta-García i sur.,2015).

### **4.2.2. POLO – slična kinaza (Plk)**

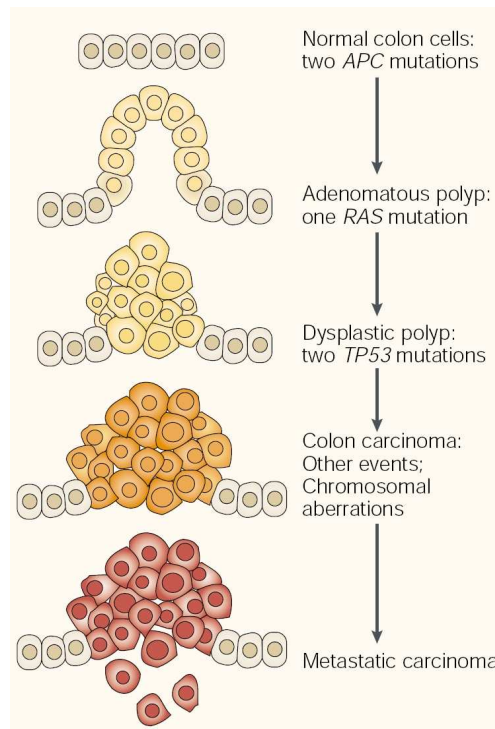
Plk predstavlja skupinu Ser/Thr kinaza (Plk1, Plk2 (Snk), Plk3 (Fnk/Prk), Plk4 i Plk5) koje su izravno uključene u razvoj i rast stanice. Navedeni proteini kroz cijeli stanični ciklus kontroliraju inicijaciju mitoze, formiranje centrosoma i citokinezu (Palmisiano i Kasner, 2015).

Funkcija Plk1 u svakoj od faza staničnog ciklusa razjašnjena je kroz desetljeća istraživanja. Razina proteina najniža je tijekom G<sub>1</sub> faze, povećava se u S i postiže najveću koncentraciju u

G<sub>2</sub>/M fazama staničnog ciklusa. Plk1 utječe na stanični ciklus kroz interakcije s drugim proteinima potrebnim za funkcioniranje centrosoma, tranziciju G<sub>2</sub>/M, koheziju sestrinskih kromatida i citokinezu. Ukratko, Plk1 ugrađuje gama-tubulinski kompleks u centrosome interakcijom s NLP (engl. ninein-like protein) omogućujući odgovarajuću polarizaciju i stabilizaciju mikrotubula (Palmisiano i Kasner, 2015).

Plk1 fosforilira inhibitorske regulatore mitoze, Wee-1 i MYT1 (engl. Myelin Transcription Factor 1), kao i pozitivan regulator, CDC25 (engl. cell division cycle) (Palmisiano i Kasner, 2015.). Ovi događaji aktiviraju CDK-1/ciklin B1 kompleks koji usmjerava stanice prema mitozu. Protein je također impliciran kao dio regulacijskog stroja kinetohorne funkcije i fosforilira SA2 podjedinicu kohezina, stabilizacijskog kompleksa kohezijskih sestrinskih kromatida prije podjele. To inducira kohezina da se odvoji od sestrinskih kromatida, čime se omogućava odvajanje. Na kraju, Plk dopušta umetanje stroja odgovornog za formiranje aktin-miozinskog prstena potrebnog za pravilnu formiranost cijepanja i citokinizaciju poslije mitoze (Palmisiano i Kasner, 2015).

Mnoge studije razjasnile su negativnu regulatornu interakciju između Plk1 i p53, središnjeg tumorskog supresora. Korištenjem tehnika malih interferirajućih RNA (siRNA), dobivene su stanične linije karcinoma s deficitom Plk1. One su pokazale povećano zaustavljanje staničnog ciklusa u fazi G<sub>2</sub> / M kao i povećanu ekspresiju p53. Inhibitorno djelovanje između p53 i Plk1 dodatno je razjašnjeno u staničnim linijama raka debelog crijeva bez p53. Oštećenje DNA p53 inaktivnih staničnih linija dovelo je do značajne regulacije G<sub>2</sub>/M i proteina kontrolne točke formiranja vretena, uključujući Plk1. Životinjski modeli s takvim stanicama ukazali su značajno povlačenje tumora kada se tretiraju malim molekulama inhibitora Plk-a1. To podrazumijeva da inaktiviranje p53 posredovano Plk-om omogućuje rast tumora u ovom modelu (Palmisiano i Kasner, 2015).



Slika 3. Model stanica debelog crijeva i njihova kancerogeneza, preuzeto i prilagođeno prema <https://www.nature.com>

#### 4.2.3. Adenomatozna polipoza kolona (APC)

*APC* je najčešći početni gen mutiran u obiteljski nasljeđenom i sporadičnom raku debelog crijeva. *APC* gen (kromosomska regija 5q21) kodira APC protein.

APC je protein za supresiju tumora koji inducira degradaciju onkogenog beta-katenina i negativno regulira Wnt signalizaciju. On ima ulogu u reguliranju migracije stanica, repliciranja /popravka DNA, mitoze i apoptoze. APC regulira adhezije stanica i stanične migracije aktivacijom APC-stimuliranog faktora razmjene nukleotida gvanina. Djeluje kao posrednik ERBB2-ovisne stabilizacije mikrotubula u staničnom korteksu. Potreban je za lokalizaciju MACF1 / ACF7 na staničnu membranu i ova lokalizacija MACF1 / ACF7 kritična je za njegovu funkciju u stabilizaciji mikrotubula (<https://www.ebi.ac.uk>).

Mutacije *APC*-a dovode do mnogih promjena: (1) velika većina identificiranih mutacija dovodi do skraćivanja APC produkata; (2) gotovo sve mutacije nalaze se u prvoj polovici kodirajuće sekvence, a somatske mutacije u kolorektalnim tumorima dodatno su grupirane u određenom području, mutacije su nazvane MCR (mutacije klaster područja); (3) najčešće identificirane točke mutacija u *APC* genu su prijelazi od citozina do drugih nukleotida; (4) lokacija mutacija inicijalne stanice povezana je s brojem kolorektalnih polipa kod pacijenata.

Potrebna je inaktivacija oba alela gena *APC* za razvoj većine adenoma i karcinoma u debelom crijevu i rektumu ([www.genecards.org](http://www.genecards.org)).

Akumulacije dodatnih mutacija (genomske promjene) najčešće uključuje aktivaciju gena *K-RAS* i inaktivacija tumor supresorskog gena *TP53* (kromosomska regija 17p13) i gubitak heterozigotnog dijela kromosoma 18 (18qLOH) (Armaghany i sur., 2012).

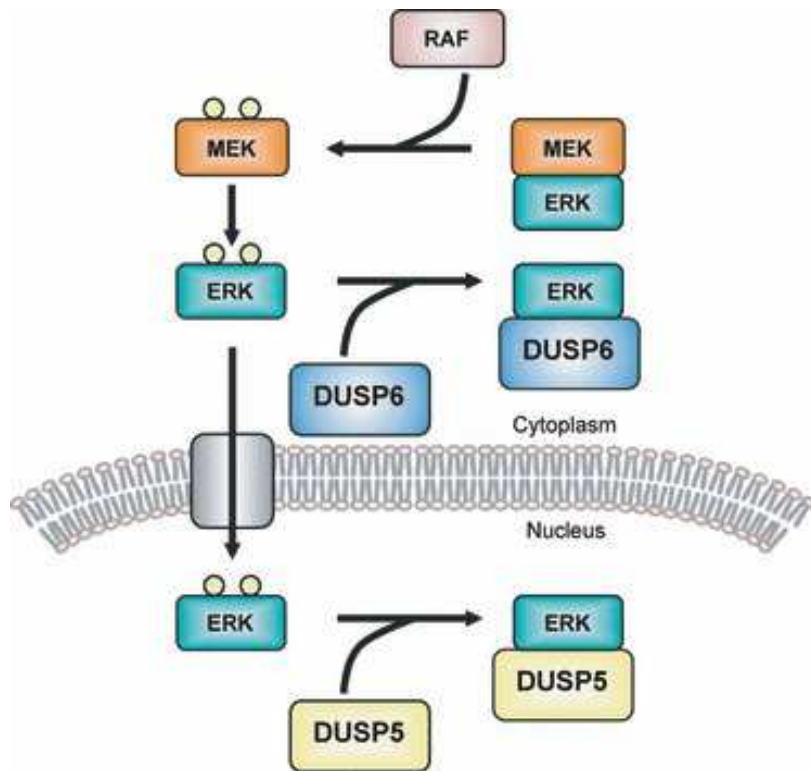
#### **4.2.4. RAS kinaza**

Ras je velika skupina proteina koji spadaju u GTP-aze.

K-RAS (homolog Ki-RAS kodiran virusom Kirsten sarkoma) sudjeluje u jednom od stanilčnih puteva signalizacije (Ras-Raf-MAPK signalni put). K-RAS protein veže gvaninski nukleotid, inaktivni oblik veže GDP, dok aktivni veže GTP. Aktivni K-RAS zatim djeluje s protein kinazom RAF, a RAF potiče kaskadu proteinskih kinaza koje aktiviraju Erk (engl. extracellular signal-regulated kinase), fosforilirani Erk prelazi u jezgru i tamo aktivira Elk-1 koji je transkripcijski faktor. Nakon fosforilacije djelovanje K-RAS-GTP prestaje zbog hidrolize kompleksa, odnosno GTP-a (Cooper i Hausman, 2010).

Glavni problem kod mutiranih K-RAS proteina jest kočenje hidrolize GTP-a, mutirani protein ostaje neprestano u aktiviranom obliku koji veže GTP i tako potiče nekontroliranu proliferaciju tumorskih stanica, čak i bez prisustva faktora rasta. Mutacije gena *KRAS* povezane su sa lošom prognozom kod kolorektalnog karcinoma (Cooper i Hausman, 2010).





Slika 4. Ras-Raf-MAPK signalni put, preuzeto i prilagođeno prema <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

#### 4.2.5. RAF protein kinaze

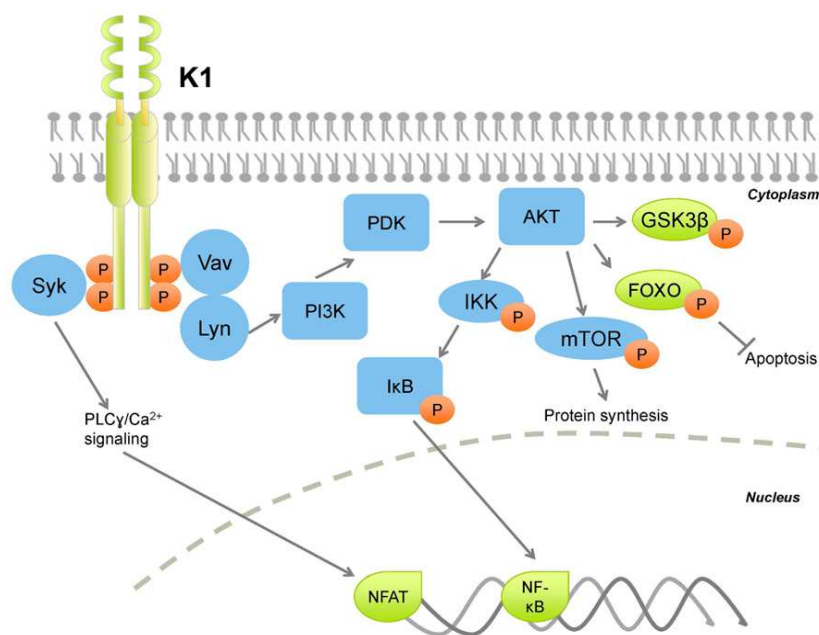
BRAF je samo jedan od tri proteina uz ARAF i CRAF koji spadaju u veliku skupinu RAF proteina. BRAF je kodiran proto-onkogenom koji se nalazi na položaju 7q34, posjeduje aktivnost serin-treonin kinaze i također djeluje na signalom putu Ras-Raf-MAPK, a utječe i na druge stanične procese, npr. apoptoza (regulacijom Bcl-2) (Barras, 2015).

Kolorektalni karcinom uzrokovan mutacijom u *BRAF* genu pokazuje različite karakteristike u usporedbi s karcinomima koji sadrže *BRAF* divljega tipa. Istraživanja su pokazala da su *BRAF* mutirani tumori češći kod žena i kod pacijenata starijih od 20 godina. Karcinom divljeg tipa široko se distribuira kroz debelo crijevo i rektum, dok se *BRAF* mutirani karcinom rijetko nalazi u silaznom obodnom debelom crijevu i rektumu, ali se nalazi u proksimalnom dijelu debelog crijeva. Kod pacijenata s *BRAF* mutacijama, metastazno širenje bilo je češće u peritoneum (46% nasuprot 24%) ili udaljene limfne čvorov (53% prema 38%) u usporedbi s *BRAF* tumorima divljeg tipa, ali je manje vjerojatno da će rezultirati metastazom pluća (35% nasuprot 49%) (Clarke i Kopetz, 2015).

#### 4.2.6. Fosfatidil-inozitol-3-kinaza (PI3K)

Uz Ras-Raf-MAPK signalni put, poremećaji u genskoj ekspresiji enzima fosfatidil-inozitol-3-kinaza (PI3 kinaza)/AKT signalnog puta također mogu aktivirati razvoj kolorektalnog karcinoma (Bhatt i Blossom, 2013). PI3K fosforilira PIP<sub>2</sub> (fosfatidilinozitol 4,5-bisfosfat), čime nastaje drugi glasnik PIP<sub>3</sub> (fosfatidilinozitol 1,4,5-trisfosfat). Glavni cilj PIP<sub>3</sub> je vezanje na Akt (protein-serin/treonin-kinaza) koja se zajedno s PDK1 (fosfoinozimid ovisna kinaza) veže za staničnu membranu i aktivira. Fosforilirana Akt fosfatnu skupinu prenosi na brojne proteine, a tako i proteine izravno povezane sa staničnim preživljavanjem (Cooper i Hausman, 2010).

Mutacije u *PIK3CA* genu koji kodira p110 $\alpha$  katalitičku podjedinicu PI3K, identificirane su u različitim humanim solidnim tumorima, uključujući kolorektalni karcinom. *PIK3CA* gen mutiran u 10% -30% kolorektalnih karcinoma (Ogino i sur., 2005). Nedavne studije pokazale su povećanje mortaliteta pacijenata s tumorom debelog crijeva mutiranog *PIK3CA*, u usporedbi s pacijentima s *PIK3CA* tumorima divljega tipa. Među pacijentima s K-Ras divljim tumorima, prisutnost *PIK3CA* mutacije korelirala je s značajnim povećanjem specifične smrtnosti kolorektalnog karcinoma. Nasuprot tome, *PIK3CA* mutacija nije značajno utjecala na smrtnost kod pacijenata s *KRAS* mutiranim tumorima. *PIK3CA* mutacija može biti potencijalno ograničena na pacijente s *KRAS* tumorima divljeg tipa (Ogino i sur., 2005).



Slika 5. PI3 kinaza/AKT signalni put, preuzeto i prilagođeno prema

<https://www.frontiersin.org>

#### **4.2.7. Tumorski supresorski protein p53**

Gen *TP53* značajno je uključen u kontrolu staničnog ciklusa i apoptoze i obično je mutiran kod kolorektalnog karcinoma. P53 protein inducira zaustavljanje staničnog ciklusa u G<sub>1</sub> fazi i olakšava popravak DNA prije nego se stanica „odluči“ na proces replikacije DNA. Ako je popravak DNA neuspješan, p53 inducira smrt stanice (apoptozu). Općenito se smatra da se *TP53* mutacija događa u vrijeme prijelaza iz adenoma u karcinom (Armaghany i sur., 2012).

*TP53* mutacija javlja se kod 40-50% pacijenata sa kolorektalnim karcinomom. (Xiano-Lan Li i sur., 2015). Dolazi do sinteze proteina s abnormalno dugim  $t_{1/2}$ . *TP53* mutacija rijetko se javlja u stadiju adenoma, gotovo nikad nije otkrivena u tom stadiju. Ovakav tip mutacije uglavnom znači lošu prognozu za pacijente s kolorektalnim karcinomom (Xiano-Lan Li i sur., 2015).

Nasljedne mutacije u *TP53* uzrokuju Li-Fraumeni sindrom, sindrom povećane predispozicije za karcinom povezan s različitim neoplazmama, koji uz kolorektalni karcinom uključuje i sarkom mekog tkiva, osteosarkom, premenopausalni karcinom dojke, tumore mozga i adrenokortikalni karcinom (Yurgelun i sur., 2015).

#### **4.2.8. Gubitak heterozigotnog dijela kromosoma 18**

LOH18q (engl. loss of heterozygosity) u regiji 18q21 često je prisutan u uznapredovalom kolorektalnom karcinomu. LOH je definiran kao gubitak jedne od dvije kopije ili alela gena. Gen *DCC* (engl. deleted in colorectal cancer, izbrisan u kolorektalnom karcinomu) nalazi se na dugoj grani kromosoma 18 (18q21.3) i kodira transmembranski protein DCC. DCC je "uvjetni tumorski supresorski gen" (Armaghany i sur., 2012).

#### **4.2.9. Receptor izbrisan u karcinomu kolona**

DCC je receptor za ligand netrin, izvanstanični protein. U odsutnosti netrina, DCC aktivira apoptozu, regulira životnu sposobnost stanica ovisno o okolnoj koncentraciji netrina (Forrest i sur., 2016).

Ekspresija tumorskog supresorskog proteina DDC smanjena je u mnogim vrstama karcinoma, opseg gubitka korelira sa stupnjem metastaza i lošom prognozom bolesti (Forrest i sur., 2016).

### 4.3. Mikrosatelitska nestabilnost (MSI)

Mikrosateliti su uzastopno ponovljene DNA sekvence kraće od deset baznih parova, čija se gustoća razlikuje od ostalog dijela genomske DNA. Ovakvi sljedovi ponavljaju se milijune puta u genomu.

MSI karakterizira tumore crijeva koji nastaju kao posljedica inaktivacije nekog od gena uključenih u mehanizme popravka DNA nakon replikacije, to su MMR (engl. mis-match repair) geni. MMR sustav popravka DNA ima za zadatak popravljane DNA tijekom replikacija i kodiran je sa sedam gena *MLH1*, *MLH3*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *PMS1* i *PMS2* (Kawakami i sur., 2015). U slučaju mutacija u ovim genima dolazi do nakupljanja replikacijskih pogrešaka. MSI se javlja u 12-15% svih kolorektalnih karcinoma. Kod tumora ovog tipa javlja se veliki broj mutacija u određenim sekvencama koje se ponavljaju kroz genom. MSI se može javiti i kod naslijeđenih i kod sporadičnih tumora (Kawakami i sur., 2015).

MSI se klasificira u tri kategorije, ovisno o broju markera koji pokazuju MSI:

- MSI-H (visoka MSI, dva ili više čimbenika koji pokazuju nestabilnost)
- MSI-L (niska MSI, jedan pokazatelj)
- MSS (stabilna, bez pokazatelja pokazuje nestabilnost) (Puerta-García i sur., 2015).

### 4.4. Fenotip metilatora CpG otoka

Fenotip metilatora CpG otoka (CIMP) karakterizira hipermetilacija brojnih CpG otoka koji okružuju promotorske regije nekoliko gena (Jia i sur.,2016). Metilacija CpG otoka u promotoru tumorskih supresorskih gena mogla bi fizički inhibirati vezanje transkripcijskih faktora. Smatra se da CIMP pridonosi nastanku i napredovanju kolorektalnog karcinoma inhibicijom transkripcije tih gena (Jia i sur.,2016).

CIMP status kolorektalnog karcinoma može se podijeliti u tri podtipa:

CIMP-H (engl. CIMP-high), CIMP-L (engl. CIMP-low) i CIMP-0 (engl. CIMP-zero). Među tim podtipovima, CIMP-H se smatra pravim CIMP-pozitivnim statusom. Prethodna istraživanja pokazala su da je CIMP-H visoko povezan sa sporadičnim MSI-H zbog visoke frekvencije *MLH1* promotora metiliranja kod kolorektalnog karcinoma sa CIMP-H (Ho Kim i Hoon Kang, 2014).

Tumor se smatra CIMP-pozitivnim ako pokazuje metilaciju najmanje 3 od sljedećih pokazatelja: *CACNA1G*, *IGF2*, *NEUROG1*, *RUNX3* i *SOCS1* (Binefa i sur.,2014).

Multiplicitet tumora povezan je s različitim profilom metiliranja, bez obzira na dob, spol ili tumorski položaj. Za razliku od dobroćudnih tumora, višestruki kolorektalni karcinom pokazao je značajnu hipermetilaciju na specifičnim CpG mjestima. Postoji značajna povezanost kolorektalnog karcinoma sa CIMP-H (Gozalo i sur.,2014).

#### **4.5. Proteinski biopokazatelji**

Proteinski biopokazatelji olakšavaju rano otkrivanje i prognozu tumora debelog crijeva i jedni su od najčešće upotrebljivanih u otkrivanju, dijagnozi tumora debelog crijeva, te praćenju tijeka bolesti.

##### **4.5.1. Karcinoembrionalni antigen (CEA) i ugljikohidratni antigen 19-9 (CA 19-9)**

CEA jedan je od najčešće korištenih tumorskih biljega. Njegova glavna primjena je uglavnom u gastrointestinalnim karcinomima, osobito kod kolorektalnog karcinoma (Michael J. Duffy, 2001).

CEA je glikoprotein stanične stijenke, izvorno je izoliran tijekom razvoja fetalnog crijeva, jetre i razvoja gušterače, a zabilježeno je da nestaje iz cirkulacije u drugom tromjesečju trudnoće. Godine 1969., Thomson i suradnici pronašli su visoki CEA u serumu 97% bolesnika s rakom debelog crijeva (L.C.Araujo i sur.,2015).

Pacijenti s lošom prognozom (viši stupanj T, slaba stanična diferencijacija i metastaze na limfnim čvorovima) imali su veću vjerojatnost da će se tijekom kontrole postoperativno povisiti koncentracija CEA. Nadalje, u skladu s prethodnim studijama, visoka postoperativna koncentracija CEA bila je povezana s povećanim rizikom ponovnog pojavljivanja tumora i smanjenim stupnjem preživljavanja (Bhatti i sur., 2015).

Američko društvo za kliničku onkologiju preporučuje da se postoperativno CEA procjenjuje svaka tri mjeseca barem tri godine za tumorske faze II-III. Za uklanjanje tumora IV faze, kliničko značenje CEA u velikoj mjeri ovisi o njegovoj koncentraciji u fazi II-III bolesti (L.C.Araujo i sur.,2015).

CA19-9 je tumorski antigen, po svojoj osnovnoj strukturi također ugljikohidrat koji se u organizmu veže za proteinski nosač. Zbog sličnosti s Lewisovim antigenom koji opisuje površinu crvenih krvnih stanica, taj je glikoprotein normalna komponenta žljezdanog epitela koji povezuje gastrointestinalni trakt, žlijezde slinovnice i druge luminalne strukture. Povišeni CA 19-9 može se vidjeti kod adenokarcinoma gušterače, kolangiokarcinoma i drugih

karcinoma gastrointestinalnog sustava. CA 19-9 se također javlja kod pacijenata s ne-malignim bolestima, kao što su ciroza, kronični pankreatitis i dr.

Antigen je često prisutan unutar periferne cirkulacije bolesnika s kolorektalnim karcinomom i može ukazati na opseg aktivne bolesti (Marks E. i sur., 2015).

Kombinacija CEA i CA19-9 u serumu mogu pružiti snažnije i korisnije informacije za predviđanje prognoze kolorektalnog karcinoma. Važno je naglasiti da bolesnici s povišenim CA19-9 ili s povišenjem oba markera i CEA i CA19-9 mogu imati koristi od adjuvantne kemoterapije (Zhang i sur., 2015).

#### **4.5.2. Metaloproteinaza izvanstaničnog matriksa-9 (MMP9)**

Metaloproteinaze izvanstaničnog matriksa (MMP) uključene su u razgradnju izvanstaničnog matriksa u normalnim fiziološkim procesima kao što su embrionalni razvoj, reprodukcija i preoblikovanje tkiva, kao i u procesima bolesti kao što su artritis i metastaze. Većina MMP-a izlučuju se kao neaktivni proproteini koji se aktiviraju kada se kidaju ekstracelularnim proteinazama. Enzim koji kodira *MMP-9* gen degradira tip IV i V kolagena. Studije upućuju na to da je enzim uključen u mobilizaciju hematopoetskih progenitorskih stanica izazvanih s IL-8 (interleukin-8) iz koštane srži, a ispitivanja na miševima upućuju na ulogu u remodeliranju tkiva povezanih s tumorom (<https://www.proteinatlas.org>).

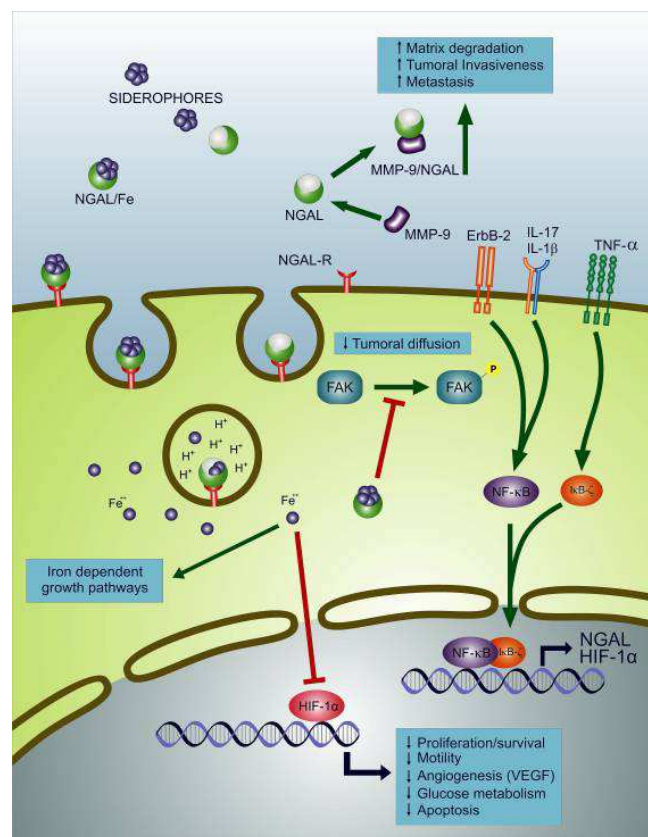
Kod kolorektalnog karcinoma zabilježena je povećana ekspresija MMP-a (MMP-1, -2, -7, -9 i -13). Tip IV kolagenaze MMP-9 od posebnog je značaja za napredovanje tumora i također može igrati ulogu u kolorektalnoj karcinogenezi od adenoma do karcinoma. MMP-9 je uključen u angiogenezu reguliranjem biorasploživosti pro-angiogenog vaskularnog endotelnog faktora rasta. Ovaj se protein eksprimira i izlučuje kao neaktivni oblik nazvan pro-MMP-9 (92 kDa), koji se potom aktivira proteolizom propeptidne domene koja rezultira formom od 82 kDa. Štoviše, reverzibilna aktivacija može se pokrenuti vezanjem na tip IV kolagen (Otero-Estévez i sur., 2015).

#### **4.5.3. Neutrofilna želatinaza i s njom združeni lipokain (NGAL)**

Članovi obitelji lipokalin proteina karakterizira njihova sposobnost vezanja malih hidrofobnih molekula (kao što su prostaglandini, retinoidi, arahidonska kiselina, hormoni i masne kiseline). Oni se često vežu na specifične receptore na površini stanice i tvore makromolekularne komplekse (Candido i sur., 2014). Članovi obitelji lipokalina, u prošlosti

su klasificirani isključivo kao transportni proteini, sada je otkrivena njihova sposobnost obavljanja različitih funkcija. Neke od tih funkcija uključuju: prijenos retinola, kriptografsko bojenje, feromonski transport i enzimatsku sintezu prostaglandina, štoviše, lipokalini su također uključeni u regulaciju imunskog odgovora i posredovanje stanične homeostaze (Candido i sur., 2014).

NGAL (neutrofilna želatinaza i s njom združeni lipokain) koja se naziva i lipokalin 2, siderokalin i 24p3, identificirana je u nekoliko oblika: monomer (25-kDa), disulfidno vezani homodimer (46-kDa) i heterodimer povezan s disulfidom s humanom neutrofilnom želatinazom B (135 kDa). NGAL ima nekoliko funkcija (Candido i sur., 2014).



Slika 6. Stanična uloga NGAL; preuzeto i prilagođeno prema <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

NGAL predmet je intenzivnih istraživanja koja procjenjuju njegov potencijal kao biopokazatelja u različitim ljudskim zloćudnim tumorima. U većini ljudskih karcinoma zabilježeno je prekomjerno lučenje NGAL-a, na primjer u kolorektalnom karcinomu, karcinomu želuca, adenokarcinomu pluća, primarnom karcinomu jetre, karcinomu dojke i neoplazmi štitnjače, dok je u nekim uvjetima NGAL ekspresija smanjena, na primjer kod

karcinoma gušterače, karcinoma prostate i kronične mijeloične leukemije (Wang i Zeng, 2014). Mnoge studije pokazale su mehanizam karcinogenog djelovanja NGAL-a. NGAL potiče uzimanje željeza iz izvanstaničnog prostora u malignu stanicu za održavanje diobe neoplastičnih stanica. Povišena ekspresija NGAL-a u većini ljudskih kolorektalnih karcinoma dovodi do razvoja tumora preko promjene Rac1 stanične distribucije (Wang i Zeng, 2014).

Povećana ekspresija NGAL-a otkrivena je i u ne-maligim epitelnim stanicama u stanjima poput divertikulitisa, upalne bolesti crijeva. U adenokarcinomima, prekomjerna ekspresija NGAL-a opažena je u sluznici i u površinskom ulceracijskom području. S druge strane, ekspresija NGAL-a nije identificirana u metastazama ovog adenokarcinoma u limfnim čvorovima. Predpostavlja se da je NGAL pretežno uključena u upalnu reakciju i tumorsku transformaciju, dok se ne čini da ima važnu ulogu u metastazirajućem procesu (Candido i sur., 2014).

NGAL je značajno povezan s pogoršanjem stanja bolesti, recidivima tumora i sve lošijom prognozom. Osim toga, ekspresija NGAL-a u ranim kolorektalnim tumorima, TNM stupnja 1, u koleraciji je s kasnijim preživljavanjem (McLean i sur., 2013).

U staničnoj liniji raka debelog crijeva prekomjerna ekspresija NGAL-a povezana je s gubitkom adhezije stanica i povećanom invazijom. Slično, na modelu *in vivo* mišjeg raka debelog crijeva uočena je povećana ekspresija NGAL-a koja prati povećanje rasta tumora i metastaziranje. Drugi mehanizam koji može potaknuti ovaj fenotip jest nastanak kompleksa NGAL / MMP-9. Čini se da NGAL štiti MMP-9 od degradacije. Međutim, Barresi i sur. (2011) pokazali su da je ekspresija NGAL-a, kao negativnog prognostičkog biopokazatelja, u ranom kolorektalnom karcinomu neovisna o ekspresiji MMP-9 (McLean i sur., 2013).

#### **4.5.4. Biopokazatelji povezani s matičnim stanicama**

Odnedavno je matična stanica karcinoma (CSC) postala alat za procjenu statusa nekoliko vrsta tumora uključujući i kolorektalni karcinom. Teorija o raku matičnih stanica izvorno je predložena 1875. Ova se teorija temelji na sljedećem: (1) niz vanjskih ili unutarnjih čimbenika, kao što su fizički i kemijski agensi, uzrokuju genska oštećenja u matičnim stanicama, (2) oštećena matična stanica daje morfološki različit tip tumora, (3) različiti tumori različitih matičnih stanica imaju različite biokemijske i genomske profile (Kuppusamy i sur.,



2017). Biopokazatelji iz matične stanice kolorektalnog karcinoma mogu se koristiti kao novi i učinkovit pokazatelji za predviđanje progresije raka i identificiranje bolesnika koji imaju visok rizik od recidiva. Iako CSC terapija postavlja mnoga pitanja o dijagnostičkim i terapijskim pristupima raka i retro viralnim bolestima, u bliskoj budućnosti CSC bi se mogao koristiti za učinkovitije probiranje i rano otkrivanje te za liječenje raka (Kuppusamy i sur., 2017).

#### **4.6. MikroRNA biopokazatelji**

Mikro RNA (miRNA) su male nekodirajuće dvolančane RNA duge 20-22 nukleotida. One se vežu na komplementarne sekvence u ciljnim mRNA i smanjuju njihovu stabilnost i sposobnost da sudjeluju u procesu translacije, tj. potiskuju ekspresiju gena.

MiRNA su važni medijatori koji reguliraju inicijaciju, napredovanje, metastaziranje i recidiv raka debelog crijeva. Brojne studije upućuju na poremećaj miRNA u uzorcima tumora i tjelesnih tekućina, uključujući serum, plazmu i feces (To i sur., 2018).

MiRNA su pohranjene u vezikulama i zaštićene od degradacije posredovane ribonukleazom, zbog čega ih je lako otkriti u biološkim tekućinama i tkivima i stoga se mogu koristiti kao biopokazatelji malignih oboljenja.

Kod kolorektalnog karcinoma uočena je izrazito smanjena koncentracija miR-143 i miR-145 u odnosu na normalne epitelne stanice debelog crijeva, što upućuje na ulogu miRNA u patogenezi raka debelog crijeva (Michael i sur., 2003).

Druge studije pokazale su tumorsku supresivnu ili onkogenu funkciju miRNA. Stoga miRNA može imati dijagnostičku i prognostičku vrijednost za pacijente s kolorektalnim karcinomom. MiRNA također može predstavljati nove terapijske ciljeve za gensku terapiju u liječenju kolorektalnog karcinoma (To i sur., 2018).

Kao što je prethodno navedeno MiRNA mogu se detektirati u serumu. Prognostički biopokazatelji izolirani iz seruma su miR-21, let-7g, miR-31, miR-92a, miR-181b i miR-203 i imaju izrazito visoku stopu osjetljivosti u odnosu na tradicionalne biopokazatelje CEA i CA19-9 (To i sur., 2018). Detekcija miR-141 u uzorcima plazme koristi se kao dodatni biopokazatelj uz CEA za otkrivanje udaljenih metastaza. Štoviše, promjene u razinama miR-24, miR-320a i miR423-5p u plazmi mogu predvidjeti rizik od metastaza kod pacijenata kod kojih je rak debelog crijeva kirurški odstranjen. Osim u serumu miRNA mogu se detektirati i

u fecesu, a ovisno o koncentraciji razlikuje se stupanj razvoja tumora prema TNM klasifikaciji (To i sur., 2018).

#### **4.7. Novi terapijski koncepti**

Imunoterapija je noviji terapijski pristup osmišljen kako bi potaknuo imunosni sustav na reakciju na tumorske specifične antigene (TAA) i napad na tumorske stanice. Imunoterapija uključuje upotrebu protutijela, peptida izvedenih iz TAA, cijele stanice tumora, *in vitro* uzgojenih dendritičnih stanica ili virusnih vektora, u obliku protu-tumorskih cjepiva (Koido i sur., 2013).

Imunoterapija kao relativno novi terapijski postupak primjenjuje se kod pacijenata s uznapredovalim tumorom debelog crijeva kod kojih su ostali oblici liječenja neučinkoviti. Razvojem molekularne genetike otvorene su mogućnosti izolacije i karakterizacije tumorskih antigena i njihove primjene kod liječenja pacijenata s kolorektalnim karcinomom (Andreis i sur., 2010).

Monoklonska protutijela koja se koriste u terapiji djeluju na specifične receptore inhibirajući puteve rasta. Neki također mogu izazvati imunosne pojave povezane s karakteristikama prirodnih protutijela. Konkretno, cetuximab (kimerno IgG1 monoklonsko protutijelo) veže se na receptor za epidermalni faktor rasta (engl. epidermal growth factor receptor, EGFR) i koristi se u RAS divljem tipu metastaziranog tumora debelog crijeva. Smatra se da cetuximab, osim izravne inhibicije EGFR, može djelovati putem citotoksičnosti posredovane stanicama i ovisne o antitijelima (engl. antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC). ADCC omogućuje protutumorski urođeni imunosni odgovor, ali također može potaknuti i stečeni imunosni odgovor. *In vivo*, dodavanje CpG, agonista TLR9 (engl. Toll-like receptor 9) koji može aktivirati dendritične stanice, povećava imunosni odgovor na cetuximab i njegovu terapijsku učinkovitost (Pernot i sur., 2014).

Novi terapijski koncepti obuhvaćaju i inhibicije onih proteina koji imaju ključne uloge u staničnim putevima koji vode do proliferacije, staničnog preživljavanja, apoptoze i sl. U identifikaciju ključnih regulacijskih kinaza i utjecaj na kinaze, primjerice nizvodno od KRAS-a, poput RAF kinaze i proteinskih kinaza aktiviranih mitogenima (MAPK), kao i u dizajniranje specifičnih inhibitora trenutno se ulažu veliki istraživački naponi. Neki od inhibitora kinaza signalnog puta RAS-RAF-MAP već su u kliničkoj uporabi, a mnogi su u fazi kliničkih ispitivanja (Johnston, 2014.).

## **5. ZAKLJUČCI**

Kolorektalni karcinom jest zloćudna novotvorina epitelnih stanica sluznice debelog crijeva. koja ide uzlaznom putanjom što se tiče pojavnosti tumora u svijetu i spada u skupinu tumora s najvećom incidencijom i visokom stopom smrtnosti.

Do razvoja kolorektalnog karcinoma dovode mnoge stanične promjene vezane za gensku ekspresiju i sintezu proteina. Pogreške u genomu matične stanice česte su kod kolorektalnog karcinoma, a postoje tri različita aspekta genomske nestabilnosti: CIN, MSI i putevi fenotipa CpG.

Promjene se događaju na genima za proteine vezane za diobu matičnih stanica AURK i Plk. Također vrlo česte su pogreške i na tumorskim supresorskim genima *TP53*, *DCC* i *APC*. Osim gena za rast stanice narušeni su i mehanizmi za regulaciju stanične diferencijacije i stanične signalizacije, a osobito Ras-Raf-MAPK puta.

Iako su biopokazatelji olakšali rano otkrivanje i dijagnozu kolorektalnog karcinoma, te individualizaciju terapije, kolorektalni karcinom još je uvijek zanimljiva istraživačka tema. Novija istraživanja nastoje rasvijetliti kompleksne mehanizme nastanka bolesti te definirati nove terapijske mete i koncepte s ciljem rane dijagnoze bolesti, učinkovitije terapije i produljenja životnog vijeka pacijenata.

## **6. LITERATURA**

Adamowicz K , Wrotkowska M, Zaucha JM. Body mass index as a predictor of colorectal cancer. *Przegl Epidemiol*, 2015, 69, 779 – 785.

Aghagolzadeh P, Radpour R. New trends in molecular and cellular biomarker discovery for colorectal cancer. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(25), 5678-5693.

American Cancer Society, <https://www.cancer.org/cancer/colon-rectal-cancer/detection-diagnosis-staging/staged.html>, pristupljeno 17.8.2018.

Anatomy of colon and intestines digestive system, <http://www.lifeinharmony.me/anatomy-of-colon-and-intestines/anatomy-of-colon-and-intestines-digestive-system>, pristupljeno 20.8.2018.

Andreis I, Batinić D, Čulo F, Grčević D, Lukinović-Škudar V, Marušić M, Taradi M, Višnjić D. Imunologija. Zagreb, *Medicinska naklada*, 2010, str. 382.

Aoki K, Taketo MM. Adenomatous polyposis coli (APC): a multi-functional tumor suppressor gene. *J Cell Sci*, 2007, 1,120,(Pt 19), 3327-3335.

Araujo RL, Gönen M, Allen P, DeMatteo R, Kingham P, Jarnagin W, D'Angelica M, Fong Y. Positive postoperative CEA is a strong predictor of recurrence for patients after resection for colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol*, 2015, 22(9), 3087–3093.

Armaghany T, Wilson JD, Chu Q, Mills G. Genetic Alterations in Colorectal Cancer. *Gastrointest Cancer Res*, 2012, 5(1), 19-27.

Atreya CE, Yaeger R, Chu E. Systemic Therapy for Metastatic Colorectal Cancer: From Current Standards to Future Molecular Targeted Approaches. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, 2017, 37, 246-256.

Barras D. *BRAF* Mutation in Colorectal Cancer: An Update. *Biomark Cancer*, 2015, 7(1), 9-12.

Berg M, Danielsen SA, Ahlquist T, Merok MA, Ågesen TH, Vatn MH, Mala T, Sjo OH, Bakka A, Moberg I, Fetveit T, Mathisen Ø, Husby A, Sandvik O, Nesbakken A, Thiis-Evensen E, Lothe RA. DNA Sequence Profiles of the Colorectal Cancer Critical Gene Set *KRAS-BRAF-PIK3CA-PTEN-TP53* Related to Age at Disease Onset. *PloS One*, 2010, 5(11), 13978.

Bhatt AP, Blossom D. AKTivation of PI3K/AKT/mTOR signaling pathway by KSHV. *Front Immunol*, 2013.

Bhatti I, Patel M, Dennison AR, Thomas MW, Garcea G. Utility of postoperative CEA for surveillance of recurrence after resection of primary colorectal cancer. *Int J Surg*, 2015, 16, 123-128.

Binefa G, Rodríguez-Moranta F, Teule A, Medina-Hayas M. Colorectal cancer: from prevention to personalized medicine. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(22), 6786-6808.

Brkić T, Grgić M. Colorectal cancer. *Medicus*, 2006, 15(1), 89 – 97.

Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Hutter CM, Peters U, Passarelli MN, Schwartz MR, Upton MP, Zhu LC, Potter JD, Makar KW. Variation in the association between colorectal cancer susceptibility loci and colorectal polyps by polyp type. *Am J Epidemiol*, 2014, 180(2), 223-232.

Candido S, Maestro R, Polesel J, Catania A, Maira F, Signorelli SS, McCubrey JA, Libra M. Roles of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in human cancer. *Oncotarget*, 2014, 5(6), 1576–1594.

Carethers JM, Jung BH. Genetics and Genetic Biomarkers in Sporadic Colorectal Cancer. *Gastroenterology*, 2015, 149(5), 1177-1190.

Caunt CJ, Keyse SM. Dual-specificity MAP kinase phosphatases (MKPs) Shape the outcome of MAP kinase signalling. *FEBS J*, 2013, 280(2), 489-504.

Cell division and cancer, <https://www.nature.com/scitable/topicpage/cell-division-and-cancer-14046590>, pristupljeno 24.8.2018.

Clarke CN, Kopetz ES. BRAF mutant colorectal cancer as a distinct subset of colorectal cancer: clinical characteristics, clinical behavior, and response to targeted therapies. *J Gastrointest Oncol*, 2015, 6(6), 660-667.

Cooper GM, Hausman RE. Stanica. Lauc G, urednik, Zagreb, *Medicinska naklada*, 2010, str. 634-635, 703, 726-732.

Duffy MJ. Carcinoembryonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful?. *Clin Chem*, 2001, 47(4), 624-630.

Duffy MJ, Lamerz R, Haglund C, Nicolini A, Kalousová M, Holubec L, Sturgeon C. Tumor markers in colorectal cancer, gastric cancer and gastrointestinal stromal cancers: European group on tumor markers 2014 guidelines update. *Int J Cancer*, 2014, 134(11), 2513-2522.

Fleming M, Ravula S, Tatishev SF, Wang HL. Colorectal carcinoma: Pathologic aspects. *J Gastrointest Oncol*, 2012, 3(3), 153-173.

Forrest CM, McNair K, Vincenten MC, Darlington LG, Stone TW. Selective depletion of tumour suppressors Deleted in Colorectal Cancer (DCC) and neogenin by environmental and endogenous serine proteases: linking diet and cancer. *BMC Cancer*, 2016, 16(1), 772.

Gomez D, Dalal Z, Raw E, Roberts C, Lyndon PJ. Anatomical distribution of colorectal cancer over a 10 year period in a district general hospital: is there a true “rightward shift”?. *Postgrad Med J*, 2004, 80, 667-669.

Gonzalez-Pons M, Cruz-Correa M. Colorectal Cancer Biomarkers: Where Are We Now?. *Biomed Res Int*, 2015, 2015.

Gonzalo V, Lozano JJ, Alonso-Espinaco V, Moreira L, Muñoz J, Pellisé M, Castellví-Bel S, Bessa X, Andreu M, Xicola RM, Llor X, Ruiz-Ponte C, Carracedo A, Jover R, Castells A, Balaguer F; Gastrointestinal Oncology Group of the Spanish Gastroenterological Association.



Multiple sporadic colorectal cancers display a unique methylation phenotype. *PloS One*, 2014, 9(3), 91033.

Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, Marisa L, Roepman P, Nyamundanda G, Angelino P, Bot BM, Morris JS, Simon IM, Gerster S, Fessler E, De Sousa E Melo F, Missiaglia E, Ramay H, Barras D, Homicsko K, Maru D, Manyam GC, Broom B, Boige V, Perez-Villamil B, Laderas T, Salazar R, Gray JW, Hanahan D, Taberero J, Bernardis R, Friend SH, Laurent-Puig P, Medema JP, Sadanandam A, Wessels L, Delorenzi M, Kopetz S, Vermeulen L, Tejpar S. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *Nat med*, 2015, 21(11), 1350-1356.

Guyton AC, Hall JE. Medicinska fiziologija. Kukulja Taradi S., Andreis I., urednici, Zagreb, *Medicinska naklada*, 2006, str.703, 788, 806, 816-817.

Hagggar FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg*, 2009 ,22(4), 191-197.

Hauptman N, Glavač D. Colorectal Cancer Blood-Based Biomarkers. *Gastroenterol Res Pract*, 2017, 2017, 11.

Hrvatska liga protiv raka, <http://hlpr.hr/rak/vijest/rak-debelog-crijeva>, pristupljeno 16.8.2018.

Hung RJ, Ulrich CM, Goode EL, Brhane Y, Muir K, Chan AT, Marchand LL, Schildkraut J, Witte JS, Eeles R, Boffetta P, Spitz MR, Poirier JG, Rider DN, Fridley BL, Chen Z, Haiman C, Schumacher F, Easton DF, Landi MT, Brennan P, Houlston R, Christiani DC, Field JK, Bickeböller H, Risch A, Kote-Jarai Z, Wiklund F, Grönberg H, Chanock S, Berndt SI, Kraft P, Lindström S, Al Olama AA, Song H, Phelan C, Wentzensen N, Peters U, Slattery ML; GECCO, Sellers TA; FOCI, Casey G, Gruber SB; CORECT, Hunter DJ; DRIVE, Amos CI, Henderson B; GAME-ON Network. Cross Cancer Genomic Investigation of Inflammation Pathway for Five Common Cancers: Lung, Ovary, Prostate, Breast, and Colorectal Cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2015, 107(11).

Jia M, Gao X, Zhang Y, Hoffmeister M, Brenner H. Different definitions of CpG island methylator phenotype and outcomes of colorectal cancer: a systematic review. *Clin Epigenetics*, 2016, 8, 25.

Johnston PG. Identification of clinically relevant molecular subtypes in colorectal cancer: the dawning of a new era. *Oncologist*, 2014, 19(5), 568-573.

Kawakami H, Zaanani A, Sinicrope FA. Microsatellite instability testing and its role in the management of colorectal cancer. *Curr Treat Options Oncol*, 2015, 16(7), 30.

Keros P, Pećina M, Ivančić-Košuta M. Temelji anatomije čovjeka. Zagreb, *Naprijed*, 1999, str. 74.

Kim JH, Kang GH. Molecular and prognostic heterogeneity of microsatellite-unstable colorectal cancer. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(15), 4230-4243.

Koido S, Ohkusa T, Homma S, Namiki Y, Takakura K, Saito K, Ito Z, Kobayashi H, Kajihara M, Uchiyama K, Arihiro S, Arakawa H, Okamoto M, Gong J, Tajiri H. Immunotherapy for colorectal cancer. *World J Gastroenterol*, 2013, 19(46), 8531-8542.

Kudryavtseva AV, Lipatova AV, Zaretsky AR, Moskalev AA, Fedorova MS, Rasskazova AS, Shibukhova GA, Snezhkina AV, Kaprin AD, Alekseev BY, Dmitriev AA, Krasnov GS. Important molecular genetic markers of colorectal cancer. *Oncotarget*, 2016, 7(33), 53959-53983.

Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, Seufferlein T, Sung JJ, Boelens PG, van de Velde CJ, Watanabe T. Colorectal cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 2015, 1, 15065.

Kuppusamy P, Govindan N, Yusoff MM, Ichwan SJA. Proteins are potent biomarkers to detect colon cancer progression. *Saudi J Biol Sci*, 2017, 24(6), 1212-1221.

Lech G, Słotwiński R, Słodkowski M, Krasnodębski IW. Colorectal cancer tumour markers and biomarkers: Recent therapeutic advances. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(5), 1745-1755.

Li XL, Zhou J, Chen ZR, Chng WJ. P53 mutations in colorectal cancer - molecular pathogenesis and pharmacological reactivation. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(1), 84-93.

Malinowsky K, Nitsche U, Janssen KP, Bader FG, Späth C, Drecoll E, Keller G, Höfler H, Slotta-Huspenina J, Becker KF. Activation of the PI3K/AKT pathway correlates with prognosis in stage II colon cancer. *Br J Cancer*, 2014, 110(8), 2081-2089.

Marchand L, Wilkens LR, Kolonel NL, Hankin JH, Lyu LC. Associations of Sedentary Lifestyle, Obesity, Smoking, Alcohol Use, and Diabetes with the Risk of Colorectal Cancer. *Cancer Research*, 1997, 57, 4787-4794.

Marks EI, Brennan M, El-Deiry WS. Correlation of CEA but not CA 19-9 as serum biomarkers of disease activity in a case of metastatic rectal adenocarcinoma. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16(8), 1136-1139.

McLean MH, Thomson AJ, Murray GI, Fyfe N, Hold GL, El-Omar EM. Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in colorectal neoplastic progression: a marker of malignant potential?. *Br J Cancer*, 2013, 108(12), 2537–2541.

Michael MZ, O' Connor SM, van Holst Pellekaan NG, Young GP, James RJ. Reduced accumulation of specific microRNAs in colorectal neoplasia. *Mol Cancer Res*, 2003, 1,882–891.

MSD Priručnik dijagnostike i terapije, <http://www.msd-prirucnici.placebo.hr/msd-prirucnik/bolesti-probave/tumori-probavnog-sustava/kolorektalni-karcinom>, pristupljeno 20.8.2018.

Nacionalni program ranog otkrivanja raka debelog crijeva, 2007, Zagreb, Vlada Republike Hrvatske.

Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Shima K, Irahara N, Kure S, Chan AT, Engelman JA, Kraft P, Cantley LC, Giovannucci EL, Fuchs CS. PIK3CA mutation is associated with poor prognosis among patients with curatively resected colon cancer. *J Clin Oncol*, 2009, 27(9),1477-1484.

Otero-Estévez O, De Chiara L, Rodríguez-Girondo M, Rodríguez-Berrocal FJ, Cubiella J, Castro I, Hernández V, Martínez-Zorzano VS. Serum matrix metalloproteinase-9 in colorectal cancer family-risk population screening. *Sci Rep*, 2015, 5, 13030.

Ozemir IA, Aslan S, Eren T, Bayraktar B, Bilgic C, Isbilen B, Yalman H, Yigitbasi R, Alimoglu O. The Diagnostic and Prognostic Significance of Serum Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Levels in Patients with Colorectal Cancer. *Chirurgia*, 2016, 111(5), 414-421.

Palmisiano ND, Kasner MT. Polo-like kinase and its inhibitors: Ready for the match to start?. *Am J Hematol*, 2015, 90(11), 1071-1076.

Pernot S, Terme M, Voron T, Colussi O, Marcheteau E, Tartour E, Taieb J. Colorectal cancer and immunity: what we know and perspectives. *World J Gastroenterol*. 2014, 20(14), 3738-3750.

Puerta-García E, Cañadas-Garre M, Calleja-Hernández MA. Molecular biomarkers in colorectal carcinoma. *Pharmacogenomics*, 2015, 16(10), 1189-1222.

Rosa M, Rega D, Costabile V, Duraturo F, Niglio A, Izzo P, Pace U, Delrio P. The biological complexity of colorectal cancer: insights into biomarkers for early detection and personalized care. *Ther Adv Gastroenterol*, 2016, 9(6), 861–886.

Smolle MA, Pichler M, Haybaeck J, Gerger A. Genetic markers of recurrence in colorectal cancer. *Pharmacogenomics*, 2015, 16(11), 1315-1328.

Song M, Garrett WS, Chan AT. Nutrients, Foods, and Colorectal Cancer Prevention. *Gastroenterology*, 2015, 148(6), 1244-1260.

Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers?. *Curr Opin HIV AIDS*, 2010, 5(6), 463-466.

Tandon K, Imam M, Ismail BE, Castro F. Body mass index and colon cancer screening: the road ahead. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(5), 1371–1376.

Tariq K, Ghias K. Colorectal cancer carcinogenesis: a review of mechanisms. *Cancer Biol Med*, 2016, 13(1), 120-135.

The human protein atlas, 2017, <https://www.proteinatlas.org>, pristupljeno 12. 8. 2018.

TNM (tumor, node, metastasis) staging system, <http://what-when-how.com/acp-medicine/colorectal-cancer-part-3/>, pristupljeno 24.8.2018.

To KK, Tong CW, Wu M, Cho WC. MicroRNAs in the prognosis and therapy of colorectal cancer: From bench to bedside. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(27), 2949-2973.

Wang J, Wang X, Yu F, Chen J, Zhao S, Zhang D, Yu Y, Liu X, Tang H, Peng Z. Combined detection of preoperative serum CEA, CA19-9 and CA242 improve prognostic prediction of surgically treated colorectal cancer patients. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(11), 14853-14863.

Wang YP, Guo PT, Zhu Z, Zhang H, Xu Y, Ma SP, Wang ZN, Xu HM. Macroscopic serosal classification of colorectal cancer and its clinical significance. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(11), 20123-20134.

Wang Y, Zeng TT. Clinical significance of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in colorectal cancer: a meta-analysis. *Genetics and Molecular Research*, 2014, 13(3), 7102-7112.

Wright NA. Epithelial stem cell repertoire in the gut: clues to the origin of cell lineages, proliferative units and cancer. *Int J Exp Pathol*, 2000., 81(2), 117-143.

Yurgelun MB, Masciari S, Joshi VA, Mercado RC, Lindor NM, Gallinger S, Hopper JL, Jenkins MA, Buchanan DD, Newcomb PA, Potter JD, Haile RW, Kucherlapati R, Syngal S. Germline TP53 Mutations in Patients With Early-Onset Colorectal Cancer in the Colon Cancer Family Registry. *JAMA Oncol*, 2015, 1(2), 214-221.

Zarkavelis G, Boussios S, Papadaki A, Katsanos KH, Christodoulou DK, Pentheroudakis G. Current and future biomarkers in colorectal cancer. *Ann Gastroenterol*, 2017, 30(6), 613-621.

Zhang L, Yu J. Role of apoptosis in colon cancer biology, therapy, and prevention. *Curr Colorectal Cancer Rep*, 9(4).

Zhang LN, OuYang PY, Xiao WW, Yu X, You KY, Zeng ZF, Xu RH, Gao YH. Elevated CA19-9 as the Most Significant Prognostic Factor in Locally Advanced Rectal Cancer Following Neoadjuvant Chemoradiotherapy. *Medicine (Baltimore)*, 2015, 94(45), e1793.

Zhang SY, Lin M, Zhang HB. Diagnostic value of carcinoembryonic antigen and carcinoma antigen 19-9 for colorectal carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(8), 9404–9409.

## **7. SAŽETAK/SUMMARY**

## SAŽETAK

Kolorektalni karcinom jest zloćudna novotvorina epitelnih stanica sluznice debelog crijeva.

Spada u skupinu tumora s najvećom incidencijom i visokom stopom smrtnosti.

Razvoj kolorektalnog karcinoma potiču stanične promjene genske ekspresije i sinteze proteina. Pogreške u genomu matične stanice česte su kod kolorektalnog karcinoma, a postoje tri različita aspekta genomske nestabilnosti: CIN, MSI i putevi fenotipa CpG. Promjene se događaju na genima za proteine vezane za diobu matičnih stanica AURK i Plk.

Također vrlo česte su pogreške i na tumor supresorskim genima *TP53*, *DCC* i *APC*.

Osim gena za rast stanice narušeni su i mehanizmi za regulaciju stanične diferencijacije i stanične signalizacije, a osobito Ras-Raf-MAPK puta. Proteinski biopokazatelji najčešće se koriste za otkrivanje i dijagnozu tumora debelog crijeva, te praćenje tijekom bolesti, a najistaknutiji su CEA, CA 19-9, MMP9 i NGAL. Biopokazatelji olakšavaju dijagnozu bolesti, propisivanje terapije i meta su novih terapijskih sustava.



## SUMMARY

Colorectal cancer is a malignant neoplasm of epithelial cells of the colon. It belongs to the tumor group with the highest incidence and high mortality rate. The development of colorectal cancer promotes cellular gene expression and protein synthesis. Genome defects are common in colorectal cancer, and there are three different aspects of genomic instability: CIN, MSI and CpG phenotype pathways. Changes occur on protein genes related to the division of the stem cells AURK and Plk. Also very common are faults in tumor suppressor genes *TP53*, *DCC* and *APC*. In addition to cell growth genes, there are also maladies to regulate cell differentiation and cellular signaling, especially Ras-Raf-MAPK pathways. Protein biomarkers are most commonly used to detect and diagnose colon cancer and disease tracking and CEA, CA 19-9, MMP9 and NGAL are most prominent. Biomarkers facilitate disease diagnosis, prescribing therapy and targeting new therapeutic systems.

**8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA/  
BASIC DOCUMENTATION CARD**

# Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet  
Studij: Farmacija  
Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

## BIOPOKAZATELJI MALIGNIH BOLESTI CRIJEVA

Marija Brajković

### SAŽETAK

Kolorektalni karcinom jest zloćudna novotvorina epitelnih stanica sluznice debelog crijeva. Spada u skupinu tumora s najvećom incidencijom i visokom stopom smrtnosti. Razvoj kolorektalnog karcinoma potiču stanične promjene genske ekspresije i sinteze proteina. Pogreške u genomu matične stanice česte su kod kolorektalnog karcinoma, a postoje tri različita aspekta genomske nestabilnosti: CIN, MSI i putevi fenotipa CpG. Promjene se događaju na genima za proteine vezane za diobu matičnih stanica AURK i Plk. Također vrlo česte su pogreške i na tumor supresorskim genima *TP53*, *DCC* i *APC*. Osim gena za rast stanice narušeni su i mehanizmi za regulaciju stanične diferencijacije i stanične signalizacije, a osobito Ras-Raf-MAPK puta. Proteinski biopokazatelji se najčešće koriste za otkrivanje i dijagnozu tumora debelog crijeva, te praćenje tijeka bolesti, a najistaknutiji su CEA, CA 19-9, MMP9 i NGAL. Biopokazatelji olakšavaju dijagnozu bolesti, propisivanje terapije i meta su novih terapijskih sustava.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 52 stranice, 6 grafičkih prikaza, 2 tablice i 77 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Kolorektalni karcinom, biopokazatelji, genski biopokazatelji, proteinski biopokazatelji

Mentor: **Dr. sc. Karmela Barišić**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Ocjenjivači: **Dr. sc. Karmela Barišić**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.  
**Dr. sc. Roberta Petlevski**, redoviti profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.  
**Dr. sc. Željka Vanić**, izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad prihvaćen:

## Basic documentation card

University of Zagreb  
Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
Study: Pharmacy  
Department of medicinal Biochemistry and  
Haematology  
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

### MALIGNANT BOWEL BIOMARKERS

**Marija Brajković**

#### SUMMARY

Colorectal cancer is a malignant neoplasm of epithelial cells of the colon. It belongs to the tumor group with the highest incidence and high mortality rate. The development of colorectal cancer promotes cellular gene expression and protein synthesis. Genome defects are common in colorectal cancer, and there are three different aspects of genomic instability: CIN, MSI and CpG phenotype pathways. Changes occur on protein genes related to the division of the stem cells AURK and Plk. Also very common are faults in tumor suppressor genes *TP53*, *DCC* and *APC*. In addition to cell growth genes, there are also maladies to regulate cell differentiation and cellular signaling, especially Ras-Raf-MAPK pathways. Protein biomarkers are most commonly used to detect and diagnose colon cancer and disease tracking and CEA, CA 19-9, MMP9 and NGAL are most prominent. Biomarkers facilitate disease diagnosis, prescribing therapy and targeting new therapeutic systems.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 52 pages, 6 figures, 2 tables and 77 references. Original is in Croatian language.

Keywords: Colorectal cancer, biomarkers, genetic biomarkers, protein biomarkers

Mentor: **Karmela Barišić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Karmela Barišić, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Robert Petlevski, Ph.D.** *Full Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry  
**Željka Vanić, Ph.D.** *Associate Professor*, University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: