NAJNOVIJE SPOZNAJE O GENSKOJ OSNOVI MELANOMA

NEW INSIGHTS ON GENETICS OF MALIGNANT MELANOMA

MARTINA ŽIGMUND, TAMARA NIKUŠEVA-MARTIĆ, MIRJANA ČAČIĆ, NIVES PEĆINA-ŠLAUS*

Deskriptori: Melanom – genetika; Kožni tumori – genetika

Sažetak. U ovom radu opisujemo novije spoznaje o genskoj osnovi inicijacije i progresije melanoma. Geni CDKN2A i CDK4 na kromosomima 9p21 i 12q14 te geni MC1R na lokusu 16q24 glavni su kandidati za razvoj melanoma. Ovi geni i putovi prijenosa signala u koje su uključeni ponajprije su promijenjeni u nasljednome melanomu. Novija istraživanja pokazala su da su mutacije gena BRAF, RAS, c-MET te tumor-supresorskoga gena PTEN karakteristične za sporadični melanom. Današnja saznanja o genetici melanoma uključuju različite gene i promjene nekoliko signalnih putova. Istraživanja serije uzastopnih genetičkih događanja u nastanku i progresiji melanoma vrlo su dinamično područje znanosti koje se svakodnevno nadopunjuje otkrićima novih gena.

Descriptors: Melanoma – genetics; Skin neoplasms – genetics

Summary. This review seeks to bring novel findings of genetic basis of melanoma. CDKN2A and CDK4 genes residing on chromosomes 9p21 and 12q14, as well as MC1R gene located at 16q24 are main candidates responsible for melanoma development and progression. These genes together with signal transduction pathways in which they are implied are primarily changed in hereditary melanoma. Moreover, changes of genes: BRAF, RAS, c-MET and PTEN characterize sporadic forms of melanoma. Today's knowledge on melanoma genetics is rather inconsistent and involves different genes and signalling pathways. Series of consecutive genetic events that lead to melanoma progression is a very dinamic scientific field in medicine.

Liječ Vjesn 2005;127:89–93

Još 1820. godine William Noris,[1] liječnik opće prakse, uočio je obiteljsku predispoziciju za melanom, posebice kod osoba sa svijetlom kosom i blijedom puti. Opisujući maligni melanom, Norris je napisao: *'It is remarkable that this gentleman's father, about thirty years ago, died of a similar disease. A surgeon of this town attended him, and he informed me that a number of small tumours appeared between the shoulders... This tumour, I have remarked, originated in a mole, and it is worth mentioning, that not only my patient and his children had many moles on various parts of their bodies, but also his own father and brothers had many of them. The youngest son had one of these marks exactly in the same place where the disease in his father first manifested itself. These facts, together with a case that has come under my notice, rather similar, would incline me to believe that this disease is hereditary.' Gotovo dva stoljeća kasnije, počinjemo otkrivati gensku osnovu i razumijevati spregu gena i faktora okoliša u patogenezi melanoma.*

Molekularni mehanizmi vezani uz inicijaciju i progresiju tumora polje su intenzivnog istraživanja u klinici i patologiji zloćudnih bolesti. Produkti pojedinih onkogena odgovorni su za neoplastičnu transformaciju stanice, a nedostatak funkcionalnih produkata tumor-supresorskih gena također igra ključnu ulogu u razvoju karcinoma.[2–6]

Istraživanja serije uzastopnih genetičkih i epigenetičkih događaja koji se mogu pratiti napredovanjem bolesti od ranih faza do metastaza vrlo su dinamično područje znanstvenih istraživanja koje se svakodnevno nadopunjuje otkrićima uloga novih gena i njihovih proteinskih produkata.[7,8]

Maligni melanom pripada skupini najzloćudnijih tumora kože. Karakterizira ga izrazita i brza progresija te metastaziranje pri lezijama debljine svega nekoliko milimetara.[9–12] Melanom nastaje zloćudnom preobrazbom melanocita. Za nastanak i razvoj melanoma odgovorni su genski faktori, ali i faktori iz okoliša. Incidencija melanoma ovisi o pigmentaciji određene populacije, ali i o zemljopisnim parametrima, zemljopisnoj širini i dužini na kojoj populacija živi, što upućuje na činjenicu da je UV zračenje jedan od osnovnih promotora nastanka melanoma.[12] Incidencija na 100 000 stanovnika SAD-a i Australije iznosi 4–12 novootkrivenih slučajeva na godinu,[13] što predstavlja 4% svih tumora kože. Odgovoran je za 78% smrti uzrokovanih kožnim neoplazmama.[14] Učestaliji je kod kavkazoidne (bijele) populacije, a manje učestao u negroidne populacije te u stanovnika sjevernijih zemljopisnih područja. Povećani rizik od melanoma osim genske predispozicije u koju spada i svijetla put s crvenom kosom, također uključuje učestale opekline od sunca u djetinjstvu i adolescenciji te prisutnost brojnih benignih ili displastičnih nevusa. Naše razumijevanje genske podloge navedenih faktora rudimentarno je i nedovoljno istraženo. Stoga u ovom pregledu opisujemo novija saznanja o genskoj podlozi tumorigeneze melanoma.

Današnje spoznaje o genetici melanoma i uključenosti pojedinih gena u nastanak i razvoj melanoma ponajprije se odnose na nasljedni melanom. Neki nasljedni sindromi uvelike su pridonijeli razjašnjavanju genske osnove nasljednih i sporadičnih karcinoma, pa tako i melanoma.[12,15] Nasljedni ili obiteljski melanom predstavlja 8–12% svih melanoma.[16] Analize rodoslovlja melanomskih obitelji rezultirale su otkrivanjem dvaju gena odgovornih za nastanak ove bolesti, to su geni CDKN2A i CDK4, na kromosomima 9p21 i 12q14.[17–19] Osim njih nedavno je otkrivena i uključenost još jednoga gena vezanog uz tipičan visokorizičan fenotip (crvena kosa, blijeda put, sklonost sunčanim pjegama i nemogućnost tamnjenja kože).[20] Radi se o genu za receptor za melanokortin 1 (MC1R), smještenom na kromosomu 16q24.3. Genetika melanoma raznolika je i ne uključuje promjene jedinstvenoga gena ili signalnog puta kao što je npr. slučaj za karcinom debelog crijeva i odgovornosti tumor-supresorskog gena APC.[21] Lista genskih kandidata i signalnih putova koji igraju ulogu u pojedinim fazama nastanka i progresije melanoma sve je veća i kompliciranija.[22,23] Nedav-

* **Klinika za ginekologiju i porodiljstvo, KB Merkur, Zagreb** (Martina Žigmund, dr. med.), **Zavod za biologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu** (Tamara Nikuševa-Martić, dipl. ing. ekol.; doc. dr. sc. Nives Pećina-Šlaus, dr. med.), **Klinički zavod za patologiju Rebro, KBC Zagreb** (dr. sc. Mirjana Čačić, dr. med.)

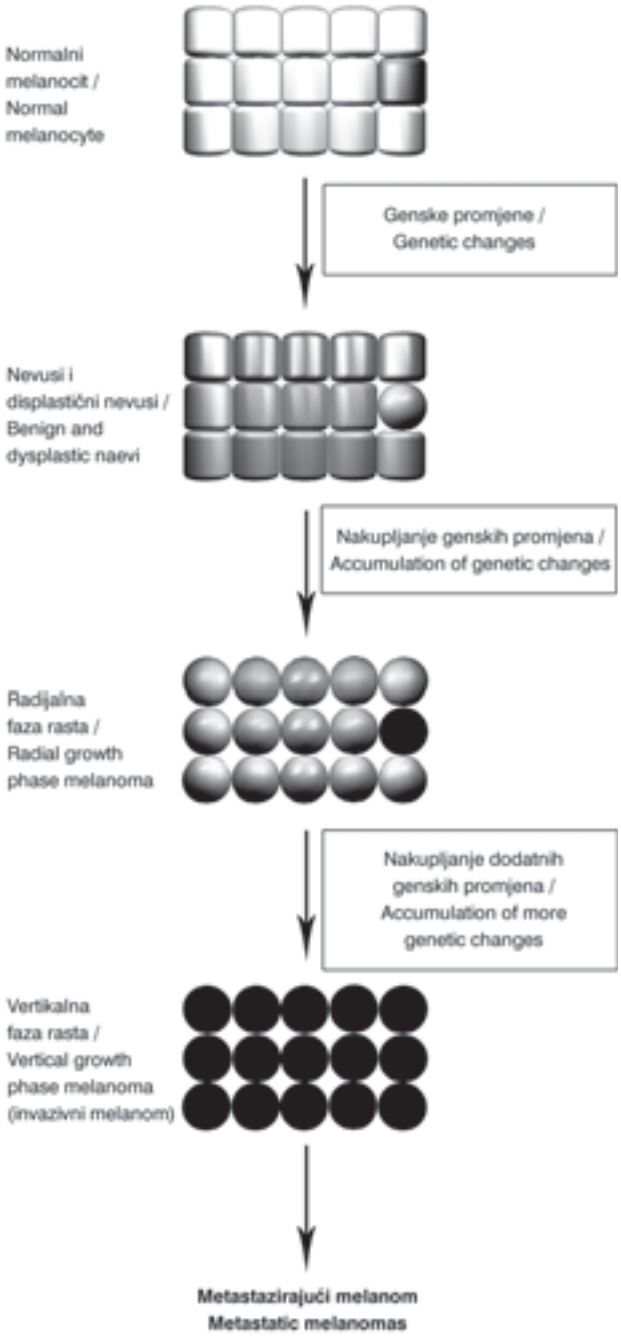
Adresa za dopisivanje: Doc. dr. sc. N. Pećina-Šlaus, Zavod za biologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Šalata 3, 10000 Zagreb

Primljeno 11. listopada 2004., prihvaćeno 10. ožujka 2005.

no su otkrivene brojne mutacije gena BRAF u transformiranim melanocitima,[24] što upućuje na uključenost signalnog puta – RAS-RAF-ERK.[25,26] Studije provedene na mišu pokazale su da je i gubitak PTEN tumor-supresorskoga gena odgovoran za nastanak i progresiju melanoma.[27]

Kromosomska nestabilnost melanoma

Tumorigeneza melanoma uključuje niz nedovoljno razjašnjenih kromosomskih delecija, koje uključuju kromosome 1p, 6q, 9p, ili 10q, 11q, 12q i 17q. Trent i suradnici[28] još su 1983. objavili promjene koje uključuju deleciju i translokaciju dugog kraka kromosoma 6, specifično u regiji 6q15-q23, što su potvrdili i Becher i suradnici[29] koji su osim ovih promjena uočili i duplikaciju u jednom od ispitanih slučajeva. Trenutna otkrića pokazuju da pretvorba iz normalnog melanocita u benigni nevus ili displastični nevus nedvojbeno uključuje gubitak gena na 1p (1p36) ili 9p i/ili 10q kromosomskim regijama (slika 1). Daljnja evolucija melanoma uključuje dodatne gubitke gena na 9p, 10q i 6q, dok svoj metastatski potencijal melanom zahvaljuje sukcesivnim gubitcima gena na 1p, 11q i 17q.[30]



Slika 1. *Inicijacija i progresija melanoma. Model tumorigeneze zasnovan na višestupnjevnom procesu kod kojeg svaki uzastopni korak uključuje akumulaciju novih genskih promjena*

Figure 1. *Initiation and progression of melanoma. Melanoma tumorigenesis model based on the multistep process that requires sequential accumulation of additional genetic alterations*

Nađene kromosomske nestabilnosti pružile su podlogu za otkrivanje potencijalnih genskih kandidata smještenih na ovim regijama[31] odgovornih za nastanak i progresiju nasljednog i sporadičnog melanoma.

Geni uključeni u nasljedni melanom

Lokus 9p21. Genski lokus CDKN2A na kromosomu 9p21 otkriven je zbog njegove česte homozigotne delecije u stanicama brojnih karcinoma.[32] Karakterizacija CDKN2A kao lokusa odgovornog za nastanak nasljednog melanoma uslijedila je nakon što su pronađene mutacije ovoga gena u bolesnika s nasljednim melanomom.[12,17,33]

Genski lokus CDKN2A vrlo je kompleksne genske organizacije i kodira dva različita tumor-supresorska proteina, INK4A (poznatiji pod imenom p16) te ARF protein (poznatiji pod imenom p14).[34] Prisutnost mutacija CDKN2A u zametnoj lozi osoba s obiteljskim melanomom,[35,36] posebice mutacije eksona 1-alfa koji kodira p16 supresorski protein, definitivan je dokaz o važnosti supresije nastanka melanoma putem funkcionalne molekule INK4A. Učestalost mutacija CDKN2A u nasljednome melanomu iznosi 25–40%.[37,38] Iako CDKN2A danas smatramo genom za predispoziciju na melanom, činjenica da znatan udio nasljednog melanoma ne posjeduje mutacije gena INK4A otvara mogućnost da lokus 9p21 sadržava dodatne gene odgovorne za nasljedni melanom. S obzirom na to da mutacije u regiji CDKN2A dokidaju funkciju i INK4A i ARF supresorskog proteina, upravo se ARF nameće kao glavni kandidat. Osim somatskih mutacija koje specifično pogađaju protein ARF i koje detaljnije opisujemo kasnije u tekstu, otkrivene su i nasljedne mutacije u bolesnika s melanomom.[39] Opisana su dva slučaja nasljednih mutacija. U prvome je dokazana 14-kb delecija eksona 1 beta koji specifično kodira upravo za protein ARF, u zametnoj lozi obitelji u kojoj četiri člana boluju od melanoma.[40] Ova delecija očigledno pošteđuje INK4A i INK4B genske produkte na što upućuje i njezin udaljeni smještaj, tj. 2.7 kb uzvodno od promotora za ekspresiju INK4A. Drugi slučaj opisuje inserciju od 16 pb u eksonu 1 beta u bolesnika s brojnim melanomima. Ova mutacija nađena u zametnoj lozi bolesnika stvara pomak okvira čitanja (frame shift mutaciju) rezultirajući nefunkcionalnim ARF proteinskim produktom.[41] Unutar lokusa 9p21 nalazi se i gen CDKN2B koji kodira INK4B (još jedan molekularni član INK obitelji ciklin-ovisnih inhibitora kinaza). Unatoč srodstvu s INK4A, INK4B nema važniju ulogu u supresiji nastanka nasljednog melanoma.[12]

Lokus 12q14. Na ovom lokusu smješten je gen CDK4.[42] Gen kodira za ciklin-ovisnu kinazu koja predstavlja jedan od glavnih regulatora staničnog ciklusa u sisavaca. Otkrića nasljednih i sporadičnih mutacija gena CDK4 svrstavaju ga, također, u gene odgovorne za nasljedni melanom. Zuo i suradnici[18] otkrili su supstituciju/*missense* mutaciju kodona 24 Arg- u -Cys (nukleotidi cCGT-TGTA) u nasljednom melanomu ispitanih bolesnika. Supstitucija Arg24Cys detektirana je kao mutacija zametne loze u dvije melanomske obitelji koje nisu imale zametne mutacije INK4A. Druga *missense* mutacija Arg24Hys

otkrivena je u istome kodonu gena CDK4. Soufir i suradnici[43] otkrili su supstituciju CGT-CAT u jednoj francuskoj obitelji u kojoj je više članova oboljelo od melanoma. Analizirajući čitavu kodirajuću regiju gena CDK4 u 56 sporadičnih malignih melanoma, Guldberg i suradnici[44] identificiraju novu *missense* mutaciju u kodonu 41, točnije Asn41Ser. Ta mutacija također je nađena u zametnoj lozi bolesnika koji nema pozitivnu obiteljsku anamnezu na melanom. Rezultati mutacijske analize 131 probanda s poviješću obiteljskog melanoma iz Australije[45] donose još jednu dodatnu supstituciju unutar kodona 52 gena CDK4. Radi se o *missense* mutaciji Ser-Asn (AGC-AAC).

Posljedice ovih supstitucija na proteinskoj razini onemogućuju vezanje INK4A s molekulom CDK4 te tako ometaju normalnu regulaciju staničnog ciklusa CDK4-kinazom, što ponovo upućuje na relevantnost inaktivirajućih INK4A mutacija u patogenezi melanoma.

Kada govorimo o genetici nasljednog melanoma, važno je ukratko opisati i putove prijenosa signala u koje su proteinski produkti gena CDKN2A i CDK4 uključeni. Protein p16 važan je regulator staničnog ciklusa i jedna je od ključnih molekula signalnog puta INK4A – CDK4 – RB.[46,47] Alternativni proteinski produkt lokusa CDKN2A, protein ARF, snažan je supresor staničnog rasta uključen u drugi signalni put. Radi se o putu prijenosa signala koji u konačnici onemogućuje ubikvinilaciju i razgradnju molekule p53.[48] Oba produkta lokusa CDKN2A negativno reguliraju (inaktiviraju) RB i p53 stanični put prijenosa signala, što znači da njihov funkcionalni gubitak predisponira razvoj u melanoma.[18]

Lokus 16q24.3 Gen za receptor za melanokortin 1 (gen MC1R od engl. melanocortin 1 receptor) smješten je na ovoj kromosomskoj regiji.[49,50] Ovaj gen odgovoran je za tzv. »fenotip crvene kose« koji karakteriziraju crvena kosa, blijeda put, sklonost sunčanim pjegama i nemogućnost tamnjenja kože.[20] Opisane pigmentne osobine pokazale su se kao neovisni faktor pojačanog rizika od svih tumorskih lezija kože, pa tako i od melanoma. Gen MC1R pokazuje izrazit polimorfizam u ljudskoj populaciji. Varijacije alela na ovom lokusu odgovorne su, u većoj mjeri, za fenotipsku raznolikost pigmentiranosti i kategorizaciju kožnih fototipova.[51] MC1R čovjeka transmembranski je protein vezan uz G-proteine, sastoji se od sedam transmembranskih domena i veličine je 34705 Da. Specifično je eksprimiran u melanocitima epidermisa. Ligand za ovaj receptor je hormon MSH (melanocyte-stimulating hormone), a tandem ovih dviju molekula ključna je odrednica pigmentnih procesa u sisavaca.

Dva su tipa melanina prisutna u koži čovjeka, to su crvenožuti pigment feomelanin i crnosmeđi eumelanin. Dok eumelanin štiti od ultraljubičastog zračenja, feomelanin, osim što ima smanjenu sposobnost zaštite od UV-a, ujedno stvara mutagene i citotoksične metabolite – slobodne radikale. Osobe s »fenotipom crvene kose« pokazuju smanjenu sposobnost sinteze eumelanina. Ovaj nerazmjer u omjeru eumelanina i feomelanina mogao bi objasniti zašto teško tamne i zašto im epidermis ima znatno smanjenu sposobnost obrane od UV oštećenja.[52]

Valverde i suradnici[51] pronašli su varijabilnost sekvencije gena MC1R u čak 80% osoba s »fenotipom crvene kose«, ali samo u 20% osoba sa smeđom ili crnom kosom te u 4% osoba koje izrazito lako crne. Najčešći polimorfizmi (varijacije) ovoga gena i proteina jesu Arg151Cys, Arg160Trp i Asp294His (R151C, R160W i D294H). Sva tri polimorfizma karakteristična su za fenotip crvene kose. Osobe koje imaju samo jedan od navedenih polimorfizama u sekvenciji MC1R pokazuju smanjenu sposobnost zaštite od oštećenja izazvanih UV-om.[53–57]

Iako polimorfizam gena MC1R određuje tip pigmentacije, pojačani rizik od razvoja melanoma ne može se potpuno pripisati samom polimorfizmu. Izgleda da genske varijante gena MC1R modificiraju penetrantnost mutacija drugoga genskog lokusa – CDKN2A. U studiji provedenoj na 15 melanomskih obitelji iz Australije, Hayward i suradnici[58] pokazali su da prisutnost samo jednog MC1R-polimorfizma povećava penetrantnost CDKN2A-mutacija s 50% na 80%, što je ujedno praćeno smanjenjem srednje vrijednosti dobi bolesnika s melanomom s 58 na 37 godina života. Molekularna osnova ove interakcije dvaju gena nije jasna i vjerojatno će biti žarište budućih biokemijskih i genetičkih istraživanja.

Somatske mutacije u melanomu

Incidencija mutacija gena CDKN2A u melanomskim obiteljima varira od 25 do 40%, dok samo 0,2–2% sporadičnih slučajeva melanoma (kod kojih pozitivna obiteljska anamneza nije utvrđena) pokazuje mutacije ovoga gena.[59]

Somatske mutacije unutar eksona 2 gena ARF opisane su u melanomima čovjeka.[39] Također je opisana delecija ARF – specifičnog eksona 1-beta, identificirana u dvije metastazirajuće stanične linije melanoma.[40]

Usprkos dokazanim ulogama u nasljednome melanomu, mutacije gena CDKN2A i CDK4 nađene su samo u dijelu nasljednih i sporadičnih melanoma. Stoga moraju postojati dodatni geni relevantni za razvoj melanoma.[60–62] Brojne molekularne analize uzoraka melanoma i staničnih linija predlažu razne kandidate za ulogu u nastanku i progresiji melanoma. Iako se rezultati tih analiza temelje ponajprije na promjeni ekspresije proteina u ispitanim melanomima, direktna genska podloga i razjašnjenje signalnih putova još uvijek ostaju nepoznati. Usprkos nekonzistentnosti objavljenih rezultata, uloga pojedinih gena i putova sve je očitija u razvoju sporadičnog melanoma te smo odlučili detaljnije ih opisati u ovome radu.

MAPK signalna kaskada. Put prijenosa signala MAPK (od engl. mitogen -activated-protein kinase) aktivira se uzastopnim fosforiliranjem brojnih kinaza s ciljem brze promjene staničnog ponašanja uvjetovane promjenama uvjeta okoliša.[63] U ovaj put prijenosa signala uključene su između ostalih i molekule: RAS, RAF i ERK. Izvanstanični stimuli aktiviraju RAS porodice protoonkoproteina (NRAS, HRAS i KRAS), koji dalje aktiviraju porodice serin/treoninskih kinaza RAF (c-RAF1, BRAF i ARAF) poznatijih pod imenom MAPK kinaznih kinaza (MKKK). RAF u konačnici aktivira i kinaze ERK1 i ERK2.[25] Aktivirajuće mutacije gena RAS otkrivene su u melanomu, a učestalost im je niska (10–15%), ali konstantno prisutna.[64] Aktivirajuće točkaste mutacije gena NRAS ima 56% nevusa, 33% primarnih melanoma i 26% metastazirajućih melanoma.[12] Mutacije ovoga gena rijetko su međutim nađene u displastičnim nevusima. Mutacije onkogena HRAS uključuju amplifikaciju kromosoma 11p, gdje se upravo i nalazi HRAS genski lokus. Točkasta mutacija ovako amplificiranog HRAS gena nađena je u Spitzinu nevusu.[65] Nedavno su otkrivene brojne mutacije gena BRAF u transformiranim melanocitima.[24] Šezdeset i šest posto ispitanih uzoraka melanoma čovjeka ima mutacije gena BRAF.[66] U novije vrijeme BRAF-mutacije nađene su i u benignim i displastičnim nevusima.[67] Upravo ovakva visoka učestalost mutacija gena BRAF, glavni je dokaz o odgovornosti signalnog puta RAS-RAF-ERK[25,26] za nastanak sporadičnog melanoma. Pripisana mu je uloga u inicijaciji transformacije melanocita.

Signalni put HGF/SF-MET. HGF/-SF (faktor rasta hepatocita, od engl. hepatocyte growth factor/scatter factor) svoje djelovanje ostvaruje putem proteinskog receptora c-MET.[68] Ovaj receptor pokazuje aktivnost tirozin-proteinske kinaze i prisutan je na površini epitelnih stanica i melanocita. Dokazano je da HGF/SF stimulira proliferaciju i pokretljivost ljudskih melanocita u kulturi stanica. Osim ovog učinka, razara i atheziju između melanocita i keratinocita tako što smanjuje ekspre-

siju E-katherina i dezmogleina 1.[69] Odvajanje melanocita od keratinocita deregulira proliferaciju i *scattering* (šetanje, slobodan prijevod autora) melanocita. Aktivacija MET-a putem HGF/SF također je dokazana u progresiji melanoma.[70] Povećana ekspresija c-MET proteina te dodatak 7q33 lokusa gdje se nalazi gen za c-MET, događaji su koji se pripisuju kasnijem razvoju melanomske progresije.[12]

Tumor-supresorski gen PTEN. Gubitak heterozigotnosti (LOH, od engl. loss of heterozygosity) te rearanžmani kromosomske genske regije 10q24-26 često su prisutni u širokom spektru karcinoma pa tako i melanoma. Između 30–50% ispitanih slučajeva melanoma čovjeka pokazuje LOH na poziciji 10q.[27] Iako opisana delecija zahvaća veliku kromosomsku regiju, jedan od tumor-supresorskih gena koji se u njoj nalazi upravo je PTEN.[71] Gubitak alela ili mutacije samoga gena PTEN opisan je u 5–15% melanoma i njegovih metastaza, ali i u 30–40% uspostavljenih staničnih linija melanoma.[72,73] Naposljetku, ektopična ekspresija PTEN-proteina u stanicama melanoma s izgubljenim tumor-supresorskim genom PTEN zaustavlja rast, tumorigenost i metastaziranje stanica. Stoga pretpostavljamo da je gubitak tumor-supresorskoga gena PTEN također odgovoran za nastanak i progresiju melanoma.[27]

Navedeni geni i signalni putovi sažeto su prikazani na tablici 1.

Tablica 1. *Geni i signalni putovi odgovorni za nastanak i progresiju melanoma*

Table 1. *Genes and signal pathways responsible for development and progression of melanoma*

- CDKN2A na 9p21 učestalo mutiran u nasljednome melanomu
  Kodira za proteine INK4A (p16) i ARF (p14).
  CDKN2A at 9p21 frequently mutated in hereditary melanoma
  Encodes for proteins INK4A (p16) and ARF (p14).
- CDK4 na 12q14 mutiran u nasljednom i sporadičnome melanomu
  Kodira za ciklin-ovisnu kinazu.
  CDK4 at 12q14 mutated in hereditary and sporadic melanoma
  Encodes for cyclin dependent kinase.
- MC1R na 16q24.3 odgovoran za tzv. »fenotip crvene kose«,
  faktor pojačanog rizika od melanoma. Kodira receptor za melanokortin 1.
  MC1R at 16q24.3 responsible for so called »red hair fenotype«,
  factor of increased risk for melanoma. Encodes receptor for melanocortin-1.
- Visoka frekvencija mutacija gena BRAF u sporadičnome melanomu
  pokazuje aktivaciju signalnog puta RAS-RAF-ERK tijekom nastanka melanoma.
  High frequency of BRAF gene mutation in sporadic melanoma
  shows activation of signal pathway RAS-RAF-ERK during melanoma development.
- Signalni put HGF/SF-MET aktiviran je u progresiji melanoma.
  Signal pathway HGF/SF-MET is activated in melanoma progression.
- Tumor-supresorski gen PTEN na 10q24-26. Gubitak alela
  ili mutacije ovoga gena česte su u sporadičnome melanomu
  Tumor suppressor gen PTEN at 10q24-26. Loss of allele
  or mutations of this gene are frequent in sporadic melanoma.

Uz navedene signalne putove koji bi mogli imati ulogu u nastanku i progresiji melanoma, jedan od novijih radova[74] nudi i nove. Koristeći se Affymetrix microarray tehnologijom za otkrivanje globalnih razlika u ekspresiji gena između normalnih ljudskih melanocita i staničnih linija uzgojenih iz uznapredovalih melanomskih lezija, Hoek i suradnici [74] otkrili su sljedeće promjene u stanicama melanoma: aktivaciju NOTCH signalnog puta, pojačanu ekspresiju regulatora transkripcije Twist, aktivaciju karcinomskog testisnog antigena, smanjenu regulaciju signalnog puta IFN te smanjenu ekspresiju nekoliko gena uključenih u membranski transport.

Zaključak

Iz svega navedenog vidljivo je da je genetika melanoma raznolika i ne uključuje promjene jedinstvenoga gena ili signalnog puta. Patogeneza melanoma uvjetovana je i genskim ali i faktorima okoliša. Pojavu bolesti pospješuje tip pigmentacije, izloženost UV-u te zemljopisno mjesto na kojem pojedinac živi. Brojni su genetički događaji, međutim, podjednako važni u nastanku ove neoplazme. Radi se ponajprije o genima: CDKN2A i CDK4 te genu MC1R uključenom u nasljedni melanom. Nedostatak konzistentnosti opisanih genetičkih nalaza potkrepljuje i činjenica da znatan postotak nasljednog melanoma nema mutacije u genu za p16. Također je trenutno nejasno značenje inaktivacija p53 u melanomima čovjeka s obzirom na to da su brojne studije pokazale nedostatak ili vrlo nisku frekvenciju točkastih mutacija i gubitka alela gena p53 u uzorcima primarnih i metastazirajućih melanoma. Stoga moraju postojati dodatni geni relevantni za razvoj melanoma. Novija istraživanja pokazala su da su mutacije gena BRAF, RAS, c-MET te tumor-supresorskoga gena PTEN karakteristične za sporadični melanom.

Genetička, epidemiološka i istraživanja genoma otkrivaju spektar specifičnih mutacija odgovornih za nastanak melanoma. Iako broj znanstvenih radova i informacija koji se bavi problematikom genetike melanoma trenutno podsjeća na džunglu, vrednovanje patogene važnosti pojedinih gena i mutacija isfiltrirat će u bliskoj budućnosti potpuniju i razumljiviju sliku nastanka i progresije ove bolesti. To je dakako nužan preduvjet za razvoj učinkovitih lijekova na molekularnoj razini.

Opadajući trend pojave melanoma u prošlih nekoliko godina zabilježen je u Australiji, što se može zahvaliti preventivnoj edukaciji stanovništva u smanjivanju izloženosti kože suncu.

Zahvala

Rad je financiran s projekta 0108 215 Ministarstva znanosti i tehnologije Republike Hrvatske.

LITERATURA

1. *Norris W*. A case of fungoid disease. Edinburg Medicine and Surgery 1820;16:562–5.
2. *Kinzler KW, Vogelstein B*. Lessons from hereditary colorectal cancer. Cell 1996;87:159–70.
3. *Guilford P*. E-cadherin downregulation in cancer: fuel on the fire? Mol Med Today 1999;5:172–7.
4. *McGary EC, Lev DC, Bar-Eli M*. Cellular adhesion pathways and metastatic potential of human melanoma. Cancer Biol Ther 2002;1:459–65.
5. *Pećina-Šlaus N*. E-cadherin role in normal and malignanat cells. Cancer Cell International 2003;3:17. [http://www.cancerci.com/content/3/1/17)].
6. *Polsky D, Cordon-Cardo C*. Oncogenes in melanoma. Oncogene 2003;22: 3087–91.
7. *Pećina-Šlaus N, Gall-Trošelj K, Šlaus M, Radić K, Nikuševa-Martić T, Pavelić K*. Genetic changes of the E-cadherin and APC tumour suppressor genes in clear cell renal cell carcinoma. Pathology 2004;36:145–51.
8. *Piepkorn M*. Genetic and molecular pathology of melanoma. U: Barnhill RL, Piepkorn M, Busam KJ, ur. Pathology of melanocytic nevi and malignant melanoma. New York: Springer; 2004, str. 20–36.
9. *Oberman B, Ljubešić N*. Elektronska mikroskopska istraživanja melanotičnog i amelanotičnog melanoma hrčka. Liječ Vjesn 1969;91:947–53.
10. *Albino AP, Shea CR, McNutt NS*. Oncogenes in melanomas. J Dermatol 1992;19:853–67.
11. *Newton Bishop JA*. Molecular pathology of melanoma. Cancer Metastasis Rev 1997;16:141–54.
12. *Chin L*. The genetics of malignant melanoma: lessons from mouse and man. Nature Rev 2003;3:559–70.
13. *Armstrong, BK, Kricker A*. The epidemiology of UV induced skin cancer. J Photochem Photobiol B 2001;63:8–18.
14. *Boni R, Schuster C, Nehrhoff B, Burg G*. Epidemiology of skin cancer. Neuroendrocrinology Lett 2002;2:48–51.
15. *Basset-Seguin N, Dereure O, Guillot B*. Genetic bases of cutaneous tumors. Ann Dermatol Venereol 1995;122:217–25.
16. *Fountain JW, Bale SJ, Housman DE, Dracopoli NC*. Genetics of melanoma. Cancer Surv 1990;92:457–62.
17. *Kamb A, Shattuck-Eidens D, Eeles R i sur*. Analysis of the p16 gene (CDKN2) as a candidate for the chromosome 9p melanoma susceptibility locus. Nature Genet 1994;8:23–6.
18. *Zuo L, Weger J, Yang Q i sur*. Germline mutations in the p16INK4a binding domain of CDK4 in familial melanoma. Nature Genet 1996;12:97–9.

19. *Stott FJ, Bates S, James MC, McConnell BB*. The alternative product from the human CDKN2A locus, p14(ARF), participates in a regulatory loop with p53 and MDM2. EMBO J1998;17:5001–14.
20. *Sturm RA.* Skin colour and skin cancer: MC1R, the genetic link. Melanoma Res 2002;12:405–16.
21. *Sieber OM, Tomlison IP, Lamlum H*. The adenomatous polyposis coli (APC) tumour suppressor – genetics, function and disease. Mol Med Today 2000;6:462–9.
22. *Halachmi S, Gilchrest BA*. Update on genetic events in the pathogenesis of melanoma. Curr Opin Oncol 2001;13:129–36.
23. *Schaffer JV, Rigel DS, Kopf AW, Bolognia JL*. Cutaneous melanoma-past, present, and future. J Am Acad Dermatol 2004;51Suppl 1:65–9.
24. *Dong J, Phelps RG, Qiao R i sur*. BRAF oncogenic mutations correlate with progression rather than initiation of human melanoma. Cancer Res 2003;63:3883–5.
25. *Aguirre-Ghiso JA, Estrada Y, Liu D, Ossowski L*. ERK (MAPK) activity as a determinant of tumor growth and dormancy; regulation by p38 (SAPK). Cancer Res 2003;63:1684–95.
26. *Spugnardi M, Tommasi S, Dammann R, Pfeifer GP, Hoon DS*. Epigenetic inactivation of RAS association domain family protein 1 (RASSF1A) in malignant cutaneous melanoma. Cancer Res 2003;63:1639–43.
27. *Wu H, Goel V, Haluska FG*. PTEN signaling pathways in melanoma. Oncogene 2003;22:3113–22.
28. *Trent JM, Rosenfeld SB, Meyskens FL*. Chromosome 6q involvement in human malignant melanoma. Cancer Genet Cytogenet 1983;9:177–80.
29. *Becher R, Gibas Z, Sandberg AA*. Chromosome 6 in malignant melanoma. Cancer Genet Cytogenet 1983;9:173–5.
30. *Hussein MR*. Genetic pathways to melanoma tumorigenesis. J Clin Pathol 2004;57:797–801.
31. *Copeman MC*. The putative melanoma tumor-suppressor gene on human chromosome 6q. Pathology 1992;24:307–9.
32. *Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J i sur*. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. Science 1994;264:436–40.
33. *Bogenrieder T, Landthaler M, Stolz W*. p16(INK4A)/CDKN2-the »melanoma gene«? Status of research and outlook. Hautarzt 1998;49:91–100.
34. *Quelle DE, Zindy F*. Alternative reading frames of the INK4a tumor suppressor gene encode two unrelated proteins capable of inducing cell cycle arrest. Cell 1995:83:993–1000.
35. *Hussussian C*. Germline p16 mutations in familial melanoma. Nature Genet 1994;8:15–21.
36. *Whiteman DC, Milligan A, Welch J, Green AC, Hayward NK*. Germline CDKN2A mutations in childhood melanoma. J Natl Cancer Inst 1997; 89:1460.
37. *Aitken J, Welch J, Duffy D i sur*. CDKN2A variants in a population-based sample of Queensland families with melanoma. J Natl Cancer Inst 1999;91:446–52.
38. *Levanat S, Šitum M, Crnić I i sur*. Alterations in CDKN2A locus as potential indicator of melanoma predisposition in relatives of non-familial melanoma cases. Croat Med J 2003;44:418–24.
39. *Piccinin S, Doglioni C, Maestro R i sur*. 16/CDKN2 and CDK4 gene mutations in sporadic melanoma development and progression. Int J Cancer 1997;74:26–30.
40. *Kumar R, Sauroja I, Punnonen K, Jansen C, Hemminki K*. Selective deletion of exon 1 beta of the p19ARF gene in metastatic melanoma cell lines. Genes Chromosomes Cancer 1998;23:273–7.
41. *Rizos H, Puig S, Badenas C i sur.* A melanoma-associated germline mutation in exon 1 beta inactivates p14ARF. Oncogene 2001;20:5543–7.
42. *Demetrick DJ*. Chromosomal mapping of human CDK2, CDK4, and CDK5 cell cycle kinase genes. Cytogenet Cell Genet 1994;66:72–4.
43. *Soufir N, Avril MF, Chompret A i sur*. Prevalence of p16 and CDK4 germline mutations in 48 melanoma-prone families in France: the French Familial Melanoma Study Group. Hum Molec Genet 1998;7:209–16.
44. *Guldberg P, Kirkin AF, Gronbaek K, thor Straten P, Ahrenkiel V, Zeuthen J*. Complete scanning of the CDK4 gene by denaturing gradient gel electrophoresis: a novel missense mutation but low overall frequency of mutations in sporadic metastatic malignant melanoma. J Int J Cancer 1997; 72:780–3.
45. *Holland EA, Schmid H, Kefford RF, Mann GJ*. CDKN2A (P16(INK4a)) and CDK4 mutation analysis in 131 Australian melanoma probands: effect of family history and multiple primary melanomas. Genes Chromosomes Cancer 1999;25: 339–48.
46. *Serrano M, Hannon GJ, Beach D*. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. Nature 1993;366: 704–7.
47. *Sviderskaya EV, Gray-Schopfer VC, Hill SP i sur*. p16/cyclin-dependent kinase inhibitor 2A deficiency in human melanocyte senescence, apoptosis, and immortalization: possible implications for melanoma progression. J Natl Cancer Inst 2003;95:723–32.
48. *Kamijo T, Weber JD, Zambetti G, Zindy F, Roussel MF, Sherr CJ*. Functional and physical interactions of the ARF tumor suppressor with p53 and Mdm2. Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:8292–7.
49. *Gantz I, Yamada T, Tashiro T i sur*. Mapping of the gene encoding the melanocortin-1 (alpha-melanocyte stimulating hormone) receptor (MC1R) to human chromosome 16q24.3 by fluorescence in situ hybridization. Genomics 1994;19:394–5.
50. *Magenis RE, Smith L, Nadeau JH, Johnson KR, Mountjoy KG, Cone RD*. Mapping of the ACTH, MSH, and neural (MC3 and MC4) melanocortin receptors in the mouse and human. Mammalian Genome 1994;5:503–8.
51. *Valverde P, Healy F, Jackson I, Rees JL, Thody AJ*. Variants of the melanocyte-stimulating hormone receptor gene are associated with red hair and fair skin in humans. Nature Genet 1995;11:328–30.
52. *Healy E, Flannagan N, Ray A i sur*. Melanocortin-1-receptor gene and sun sensitivity in individuals without red hair. Lancet 2000;355:1072–3.
53. *Smith R, Healy E, Siddiqui S i sur*. Melanocortin 1 receptor variants in an Irish population. J Invest Derm 1998;111:119–22.
54. *Flanagan N, Healy E, Ray A i sur*. Pleiotropic effects of the melanocortin 1 receptor (MC1R) gene on human pigmentation. Hum Mol Genet 2000;9:2531–7.
55. *Palmer JS, Duffy DL, Box NF i sur*. Melanocortin-1 receptor polymorphisms and risk of melanoma: is the association explained solely by pigmentation phenotype? Am J Hum Genet 2000;66:176–86.
56. *Bastiaens M, ter Huurne J, Gruis N i sur*. The melanocortin-1-receptor gene is the major freckle gene. Hum Mol Genet 2001;10:1701–8.
57. *Box NF, Duffy DL, Chen W i sur*. MC1R genotype modifies risk of melanoma in families segregating CDKN2A mutations. Am J Hum Genet 2001;69:765–73.
58. *Hayward NK*. Genetics of melanoma predisposition. Oncogene 2003;22: 3053–62.
59. *Dracopoli NC, Fountain JW*. CDKN2 mutations in melanoma. Cancer Surv 1996;26:115–32.
60. *Cruz J, Reis-Filho JS, Silva P, Lopes JM*. Expression of c-met tyrosine kinase receptor is biologically and prognostically relevant for primary cutaneous malignant melanomas. Oncology 2003;65:72–82.
61. *Medrano EE*. Repression of TGF-beta signaling by the oncogenic protein SKI in human melanomas: consequences for proliferation, survival, and metastasis. Oncogene 2003;22:3123–9.
62. *Nyormoi O, Bar-Eli M*. Transcriptional regulation of metastasis-related genes in human melanoma. Clin Exp Metastasis 2003;20:251–63.
63. *Johnson GL, Lapadat R*. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. Science 2002;298:1911–2.
64. *Jafari M, Papp T, Kirchner S i sur*. Analysis of ras mutations in human melanocytic lesions: activation of the ras gene seems to be associated with the nodular type of human malignant melanoma. J Cancer Res Clin Oncol 1995;121:23–30.
65. *Bastian BC, Kashani-Sabet M, Hamm H i sur*. Gene amplifications characterize acral melanoma and permit the detection of occult tumor cells in the surrounding skin. Cancer Res 2000;60:1968–73.
66. *Saldanha G, Purnell D, Fletcher A, Potter L, Gillies A, Pringle JH*. High BRAF mutation frequency does not characterize all melanocytic tumor types. Int J Cancer 2004;111:705–10.
67. *Pollock PM, Harper UL, Hansen KS i sur*. High frequency of BRAF mutations in nevi. Nat Genet 2003;33:19–20.
68. *Bottaro DP, Rubin JS, Faletto DL i sur*. Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the c-met proto-oncogene product. Science 1991;251:802–4
69. *Li G, Schaider H, Satyamoorthy K, Hanakawa Y, Hashimoto K, Herlyn M*. Downregulation of E-cadherin and desmoglein 1 by autocrine hepatocyte growth factor during melanoma development. Oncogene 2001;20: 8125–35.
70. *Natali PG, Nicotra MR, Di Renzo MF i sur*. Expression of the c-Met/HGF receptor in human melanocytic neoplasms: demonstration of the relationship to malignant melanoma tumour progression. Br J Cancer 1993; 68:746–50.
71. *Li J, Yen C, Liaw D i sur*. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. Science 1997; 275:1943–7.
72. *Guldberg P, Thor Straten P, Birck A, Ahrenkiel V, Kirkin AF, Zeuthen J*. Disruption of the MMAC1/PTEN gene by deletion or mutation is a frequent event in malignant melanoma. Cancer Res 1997;57:3660–3.
73. *Teng DH, Hu R, Lin H i sur*. MMAC1/PTEN mutations in primary tumor specimens and tumor cell lines. Cancer Res 1997;57:5221–5.
74. *Hoek K, Rimm DL, Williams KR i sur*. Expression profiling reveals novel pathways in the transformation of melanocytes to melanomas. Cancer Res 2004;64:5270–82.