

# Genetski čimbenici u etiopatogenezi melanoma

---

Šerman, Nikola

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:643299>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-14**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Nikola Šerman**

**Genetski čimbenici u etiopatogenezi melanoma**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2021.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Katedri za dermatovenerologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Zrinke Bukvić Mokos i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2020./2021.

Mentor rada: prof. dr. sc. Zrinka Bukvić Mokos

## SKRAĆENICE KORIŠTENE U RADU

$\alpha$ MSH -  $\alpha$ -melanocit stimulirajući hormon (*engl.  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone*)

ATR – serin/treonin kinaza ATR (*engl. ataxia telangiectasia- and Rad3-related*)

ASIP - signalni protein agouti (*engl. agouti signaling protein*)

BAP1 – BRCA1 pridruženi protein 1 (*engl. BRCA1-associated protein-1*)

bp – parovi baza (*engl. base pairs*)

CDK - kinaza ovisna o ciklinu (*engl. cyclin dependent kinase*)

CDK4 – kinaza ovisna o ciklinu 4 (*engl. cyclin-dependent kinase 4*)

CDKN2A – kinaza ovisna o ciklinu 2A (*engl. cyclin-dependent kinase 2A*)

DNA - deoksiribonukleinska kiselina (*engl. deoxyribonucleic acid*)

ETS – transkripcijski faktor ETS (*engl. E-twenty-six-specific sequence ili E26 transforming sequence*)

FAMMM - obiteljski sindrom displastičnih nevusa (*engl. familial atypical multiple mole melanoma, B-K mole sindrom*)

GPCR - transmembranski receptor povezan s G proteinom (*engl. G protein coupled receptor*)

HCF1 - protein HCF1 (*engl. host cell factor 1*)

MBAIT - melanocitni intradermalni tumori povezani s mutacijom gena *BAP1* (*engl. melanocytic BAP1-associated intradermal tumors*)

MC1R – melanokortin 1 receptor (*engl. melanocortin 1 receptor*)

MDM2 – protein MDM2 (*engl. mouse double minute 2 homolog*)

MITF – transkripcijski faktor MITF (*engl. microphthalmia-associated transcription factor*)

ORF - otvoreni okvir čitanja (*engl. open reading frame*)

PD-1 – protein programirane smrti 1 (*engl. programmed cell death-1*)

POT1 – protein POT1 (*engl. protection of telomeres 1*)

PUVA – psoralen plus ultraljubičasto svjetlo A (fotokemoterapija)

RAP1 - protein RAP1 (*engl. repressor activator protein 1*)

Rb - retinoblastomski protein

TERT – reverzna transkriptaza telomeraze (*engl. telomerase reverse transcriptase*)

TIN2 - jezgrin protein TIN2 (*engl. TERF1-interacting nuclear factor*)

TP53 - stanični tumorski antigen p53 ili tumor supresor p53

TPP1 - tripeptidil-peptidaza 1 (*engl. tripeptidyl-peptidase 1*)

TRF1 – protein TRF1 (*engl. telomeric repeat factor 1*)

TRF2 – protein TRF2 (*engl. telomeric repeat factor 2*)

TRP1 – protein TRP1 (*engl. tyrosine related protein 1*)

## Sadržaj

1.	SAŽETAK.....	5
2.	SUMMARY .....	6
3.	UVOD .....	1
4.	Visoko penetrantni geni povezani s visokim rizikom od melanoma .....	5
4.1.	Gen <i>CDKN2A</i> (engl. <i>cyclin-dependent kinase 2A</i> ).....	5
4.2.	<i>CDK4</i> (engl. <i>cyclin-dependent kinase 4</i> ) .....	11
4.3.	<i>TERT</i> (engl. <i>telomerase reverse transcriptase</i> ).....	13
4.4.	<i>POT1</i> (engl. <i>protection of telomeres 1</i> ) .....	15
5.	Geni povezani sa srednje visokim rizikom od melanoma.....	17
5.1.	<i>MC1R</i> (engl. <i>melanocortin 1 receptor</i> ).....	17
5.2.	<i>MITF</i> (engl. <i>melanocyte inducing transcription factor</i> ili <i>microphthalmia-associated transcription factor</i> ).....	19
6.	Sindromi.....	20
6.1.	Sindrom multiplih atipičnih nevusa s obiteljskom pojavom melanoma (FAMMM sidrom) .....	22
6.2.	Sindrom zloćudnih tumora povezanih s mutacijom gena <i>BAP1</i> .....	23
7.	Genetsko savjetovanje.....	25
8.	ZAKLJUČAK.....	32
9.	ZAHVALA .....	33
10.	LITERATURA.....	34
11.	ŽIVOTOPIS .....	42

## 1. SAŽETAK

### Genetski čimbenici u etiopatogenezi melanoma

Nikola Šerman

Melanom je izrazito agresivan zloćudni tumor kože koji nastaje iz melanocita, u čijoj etiopatogenezi značajnu ulogu ima interakcija genetskih, epigenetskih i okolišnih čimbenika. U kliničkoj praksi prevladavaju sporadični melanomi dok na nasljedne melanome otpada otprilike 10%. Najveći broj nasljednih melanoma razvija se kao posljedica mutacija gena *CDKN2A* koji kodira za dva tumor supresorska proteina uključena u regulaciju staničnog ciklusa. Ovaj gen zajedno uz *CDK4*, *TERT* i *POT1* ubrajamo u gene visokog rizika za nastanak melanoma. Geni koji nose umjereni rizik su *MC1R* i *MITF* čiji su proteinski produkti uključeni u sintezu melanina. Budući da osim genetskih faktora razvoju melanoma doprinosi utjecaj okoline neophodno je uključivanje rizičnih skupina u proces genetskog savjetovanja. Tijekom savjetovanja, osim o mogućnosti genetskog testiranja, razgovara se o važnosti zaštite kože od UV zraka, izbjegavanju izlaganja suncu i odlascima na preventivne preglede. Preventivni pregledi ne mogu spriječiti razvoj bolesti, ali omogućuju njeno dijagnosticiranje u najranijem stadiju kada je stopa preživljenja najviša.

**Ključne riječi:** melanom, geni visokog rizika, geni umjerenog rizika, genetsko savjetovanje

## 2. SUMMARY

### Genetic factors in melanoma etiopathogenesis

Nikola Šerman

Melanoma is a highly aggressive malignant skin tumor that originates from melanocytes. Interactions between genetic, epigenetic and environmental factors have an important role in the etiopathogenesis of melanoma. In clinical practice, sporadic melanomas predominate, whereas hereditary ones account for approximately 10%. Most inherited melanomas develop due to mutations in the *CDKN2A* gene, which encodes for two tumor suppressor proteins involved in cell cycle regulation. This gene, along with *CDK4*, *TERT*, and *POT1*, are high-risk genes for melanoma. Among the genes that carry a moderate risk are *MC1R* and *MITF*, whose protein products are involved in melanin synthesis. Since, in addition to genetic factors, the influence of the environment also contributes to the development of melanoma, it is necessary to include risk groups in the process of genetic counseling. During counseling, in addition to the possibility of genetic testing, the importance of protecting the skin from UV rays, avoiding sun exposure and undergoing preventive examinations are discussed. Cancer screening exams cannot prevent the development of the disease, but allow its diagnosis at the earliest stage, when the survival rate is highest.

**Key words:** melanoma, high-risk genes, moderate risk genes, genetic counseling



### 3. UVOD

Melanom je zloćudni tumor kože koji nastaje iz melanocita – stanica koje proizvode melanin. Prvi ga je opisao Hipokrat u 5. stoljeću prije Krista kao crni (grč. *melas*) tumor (grč. *oma*), a u sačuvanoj medicinskoj literaturi s kraja XVI. stoljeća nalaze se zapisi o fatalnim crnim neizlječivim tumorima (1).

Postoje 4 glavna histopatološka tipa melanoma: površinski šireći melanom (70%), nodularni melanom (15%–30%), lentigo maligni melanom (4%–10%) i akralni lentiginozni melanom (<5%) (2). Osim na koži, melanom se može razviti u oku, gastrointestinalnom i genitourinarnom sustavu te u nazofarinksu. Iako na njega otpada samo 5% svih malignih tumora kože, ima najveću smrtnost ako se ne dijagnosticira u ranom stadiju. Incidencija mu svake godine raste za 3-7% pa se broj novodijagnosticiranih bolesnika udvostručava svakih 10 godina što ga čini najbrže rastućim zloćudnim tumorom bijele populacije.



**Slika 1.** Distribucija incidencije melanoma po državama (3).

Distribucija incidencije melanoma u 2018. godine u različitim državama svijeta prikazana je na Slici 1 (3). Veliki utjecaj na pojavnost melanoma ima zemljopisni položaj pa su zemlje s većim brojem sunčanih dana poput Novog Zelanda i Australije ujedno vodeće zemlje po incidenciji melanoma (3,4). Stoga su navedene zemlje pojačale mjere primarne prevencije u obliku dobre edukacije te podizanja svijesti o opasnosti pretjeranog izlaganja suncu što je dovelo do usporavanja rasta incidencije (5).

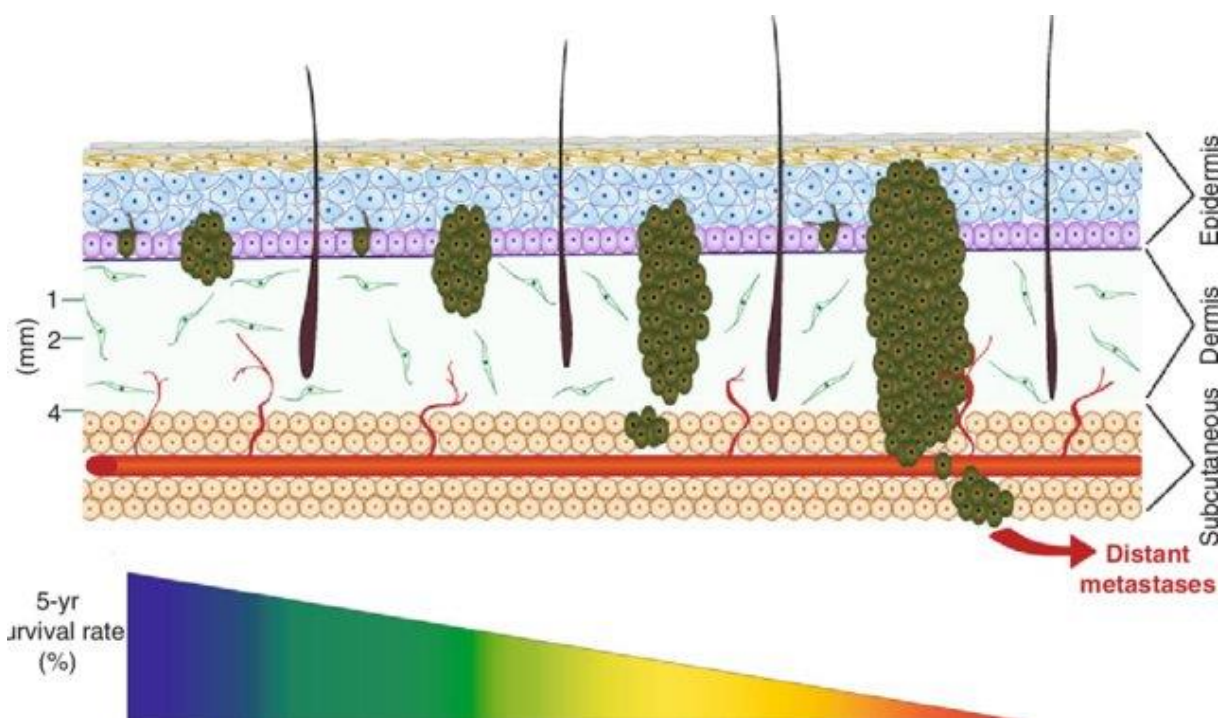
Rizični čimbenici dijele se u tri skupine: genetički, epigenetički (rezultat interakcije gena i okoliša) te okolišni čimbenici (6). U genetičke čimbenike ubrajamo: obiteljsku anamnezu, fototip kože I-II prema Fitzpatrick-u (svjetlu put, sklonost stvaranju opekline od sunčanja i nemogućnost tamnjenja te crvenu kosu) te greške u mehanizmima popravka oštećene DNA (7). Okolišni čimbenici su sljedeći: povremeno intenzivno izlaganje suncu, kronično izlaganje suncu, život u ekvatorijalnom pojasu, PUVA (fotokemoterapija), izlaganje solariju poglavito prije 35. godine života, jatrogena ili stečena imunosupresija. Epigenetički čimbenici su: melanocitni madeži i sunčane mrlje, povećan ukupni broj stečenih melanocitnih madeža (više od 100 melanocitnih madeža povećava rizik 8-10 puta), atipični melanocitni madeži (više od 5 atipičnih melanocitnih madeža povećava rizik 4-6 puta), multiple sunčane pjege (povećavaju rizik 3-4 puta) i pozitivna osobna anamneza (prethodno dijagnosticiran melanom). Pozitivna obiteljska anamneza također povećava rizik za melanom (6). Uzimajući u obzir sve navedene rizične čimbenike važno je pravovremeno postaviti dijagnozu kako bi postigli maksimalno preživljenje bolesnika.

Dijagnoza se postavlja na temelju anamneze, kliničke slike i dermatoskopije, a potvrđuje patohistološkim nalazom.

U kliničkoj procjeni pigmentnih promjena najčešće se koristi ABCDEFG metoda, pri čemu akronim ABCDEFG uključuje sljedeće:

- A: asimetrija (engl. *asymmetry*) - nepravilan oblik;
- B: rubovi (engl. *border*) - nazubljeni, nepravilni;
- C: boja (engl. *colour*) - od svjetlosmeđe do tamnosmeđe, nehomogena boja;
- D: promjer (engl. *diameter*) - svaki nevus veći od 6 mm treba pobuditi sumnju na melanom;
- E: (engl. *elevation*) - zadebljanje i uzdignuće prethodno „mirnog“ nevusa;
- F: (engl. *feeling*): subjektivan osjećaj boli, svrbeža i peckanja;
- G: (engl. *growth*) - porast lezije (8, 9).

Dermatoskopija je neinvazivna dijagnostička metoda koja podrazumijeva pregled promjena na koži ručnim dermatoskopom, stereomikroskopom, kamerom ili digitalnim *imaging* sustavom. Ovim instrumentima se postiže povećanje od 6 do 100 puta te se omogućuje vizualizacija promjena koje nisu vidljive golim okom, a uključuju boju i strukturu epidermisa, dermoepidermalne granice i papilarnog dermisa. Dermatoskopija ima iznimno veliku vrijednost u ranoj dijagnostici melanoma, a u posljednje vrijeme se sve češće primjenjuje i u dijagnostici nepigmentnih promjena (10).



**Slika 2.** Određivanje stadija progresije melanoma i 5-godišnje preživljavanje (11).

Stadij melanoma se određuje prema TNM klasifikaciji, a dubina invazije u dermis može se izraziti po Breslow-u (12) (Slika 2).

Tema ovog diplomskog rada su genetički čimbenici u nastanku nasljednog melanoma; stoga će se u nastavku prikazati geni povezani s visokim i srednje visokim rizikom od melanoma, nasljedni sindromi i suvremeni pristup u genetskom savjetovanju rizičnih skupina.

#### **4. Visoko penetrantni geni povezani s visokim rizikom od melanoma**

Većina malignih promjena u ljudskom tijelu su multifaktorske što znači da su posljedica interakcije gena i okoliša, odnosno sinergije genetike i epigenetike (13). U tom slučaju riječ je o sporadičnim tumorima (14). Samo jedan mali broj, točnije 10% svih malignih tumora su nasljedni. Za razliku od sporadičnih tumora u kojima se mutacije nakupljaju tijekom cijeloga života u nekim stanicama te posljedično dovode do maligne transformacije tih istih stanica, u nasljednim tumorima se već rađamo s jednim promijenjenim genom (15). Zato u tom slučaju govorimo o mutaciji zametnih stanica (engl. *germ line mutation*). Takva mutacija ili maligna varijacija nasljeđuje se od jednog roditelja ili se ona spontano dogodila tijekom gametogeneze, a nosimo je u svakoj našoj stanici (16, 17). Međutim, neće svi koji naslijede takvu mutaciju zaista oboljeti od melanoma pa govorimo o penetrantnosti gena. Pod tim pojmom podrazumijevamo omjer broja oboljelih i broja nositelja mutacije. Primjerice, 100% penetrantni gen znači da će svi nositelji mutiranog gena oboljeti, dok će kod 50%-tne penetrantnosti 50% nositelja razviti simptome bolesti (18). Hoće li neki gen biti fenotipski izražen ili ne ovisi o nizu dodatnih čimbenika koji svi zajedno doprinose višem riziku. U slučaju melanoma ti dodatni čimbenici svakako podrazumijevaju broj madeža i izloženost suncu (19).

##### **4.1. Gen *CDKN2A* (engl. *cyclin-dependent kinase 2A*)**

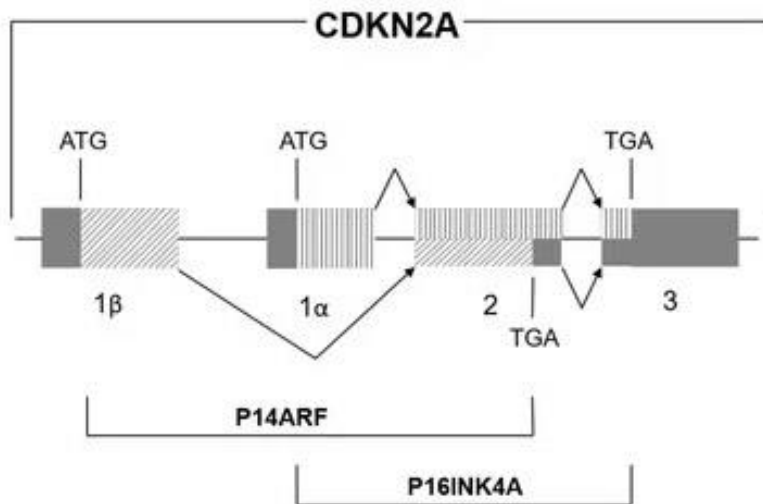
Procijenjeno je da je 5-12 % dijagnosticiranih melanoma u 2002. godini bilo nasljedno, a od njih je 40% bilo posljedica mutacije gena za kinazu 2A ovisnu o ciklinu (*CDKN2A*) (20). Ovu povezanost prvi je primijetio William Norris još 1820. godine, no njegova je opservacija ostala prilično nezapažena do 1968. godine kada su Lynch i Krush prvi

izvijestili o povezanosti karcinoma gušterače, multiplih madeža i melanoma. Deset godina kasnije Clark je opisao displastične nevuse u više članova obitelji što je nazvao „*B-K mole*“ sindromom (21).

Lynch je predložio naziv Obiteljski sindrom displastičnih nevusa (engl. *Familial Atypical Multiple Mole Melanoma - FAMMM, B-K mole sindrom*) dok je prva mutacija gena *CDKN2A* u FAMMM objavljena 1992. godine (22). FAMMM se nasljeđuje autosomno dominantno s multiplim melanocitnim madežima (preko 50 nevusa) uz pozitivnu obiteljsku anamnezu, a povezan je s mutacijama gena *CDKN2A*. Neki nositelji mutacija navedenog gena mogu biti skloni razvoju karcinoma gušterače ili drugim malignim bolestima (23).

Gen *CDKN2A* se nalazi na kratkom kraku kromosoma 9 točnije lokusu 9p21.3 (čitaj: kratki krak kromosoma 9, regija 2, band 1, sub-band 3). Ovaj lokus kodira za sintezu dva proteina koji ulaze u interakciju s dva tumorska supresora: retinoblastomskim proteinom (Rb) i proteinom TP53 (stanični tumorski antigen p53 ili tumor supresor p53) (24).

Naime, unutar gena se nalaze dva start kodona pa odabirom različitoga start kodona nastaju dva različita primarna transkripta (Slika 3): izoforma 1 i izoforma 4. Svaka od izoformi sadrži 3 prepisana egzona koji se sastoje od 7288 i 26740 parova baza (*eng. base pair, bp*). Protein kodiran izoformom 1 sadrži 156 aminokiselina, a nazvan je p16(INK4a) dok izoforma 4 kodira za 173 aminokiseline dug protein p14(ARF).



**Slika 3.** Prikaz gena *CDKN2A* koji ima dva start kodona pa odabirom svakog start kodona nastaju dva različita primarna transkripta: izoforma 1 i izoforma 4. Svaka od izoformi sadrži 3 prepisana egzona koji se sastoje od 7288 i 26740 parova baza. Protein kodiran izoformom 1 sadrži 156 aminokiselina, a nazvan je p16(INK4A) dok izoforma 4 kodira za 173 aminokiseline dug protein p14(ARF) Prilagođeno prema (25).

Iako oba proteina nastaju prepisivanjem istog zajedničkog egzona 2, potpuno su različiti jer se i taj drugi egzon ne čita na isti način u oba primarna transkripta već su zbog različitog start kodona otvoreni okviri čitanja (engl. *open reading frame*, ORF) različiti (26).

Iako su ova dva proteina potpuno različita, oba djeluju na progresiju staničnog ciklusa pa je najbolje ukratko opisati regulaciju ovog procesa. Stanični ciklus se sastoji od mitoze i interfaze koja se potom dijeli na G1, S i G2 fazu. „S“ faza je posebno važna jer tijekom nje dolazi do replikacije deoksiribonukleinske kiseline (DNA) pa svaki kromosom dobije drugu sestrinsku kromatidu kako bi se tijekom mitoze te kromatide mogle podijeliti u dvije nove stanice kćeri. Hoće li stanični ciklus progredirati ili se zaustaviti ovisi o nizu proteina koji to kontroliraju, a u sisavaca je najvažnija kontrolna točka u G1 fazi budući da nakon toga dolazi do DNA replikacije u S fazi. Stoga treba spriječiti replikaciju oštećene DNA kako ne bi došlo do mutacija (27).

Proteini koji sudjeluju u regulaciji staničnog ciklusa mogu se svrstati u dvije osnovne skupine: oni koji stimuliraju stanični ciklus i oni koji ga zaustavljaju. Progresiji staničnog ciklusa značajno doprinosi skupina proteinskih kinaza nazvanih kinaze ovisne o ciklinu (engl. *cyclin dependent kinases*; CDK) koje svoju funkciju ostvaruju vezivanjem drugog proteina ciklina. Formiranjem CDK-ciklin heterodimera, kinaza sada može fosforilirati ciljne proteine i stimulirati stanični ciklus (28).

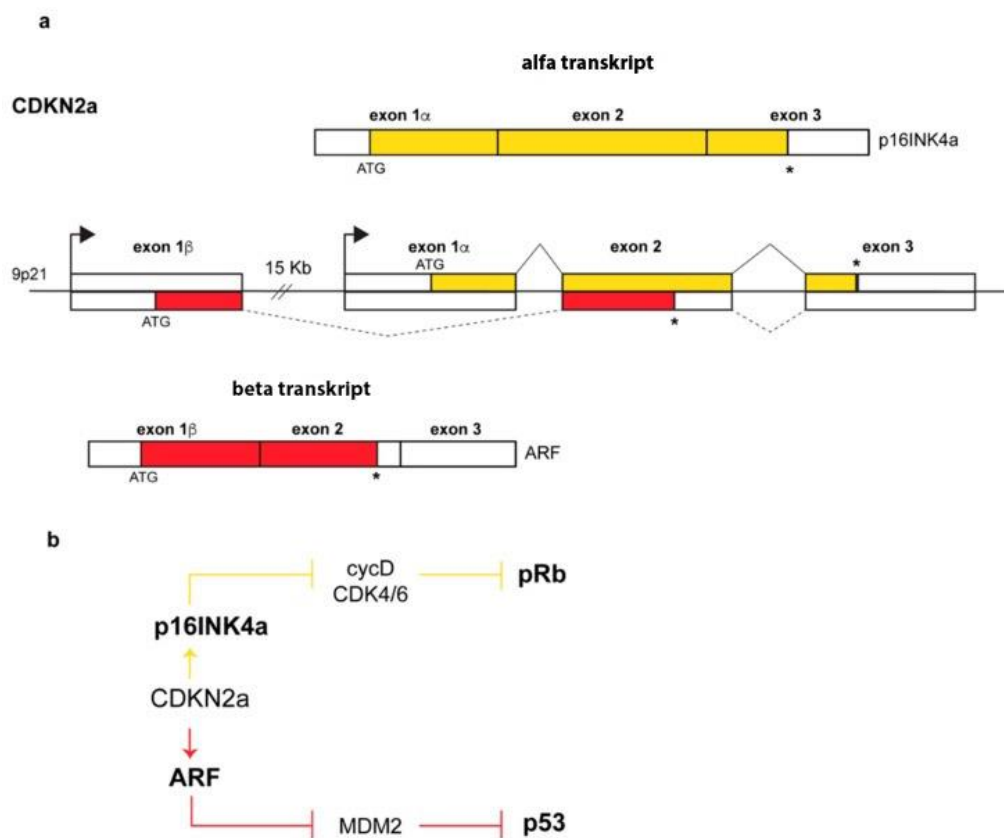
Proteine koji zaustavljaju stanični ciklus zovemo antiproliferacijski proteini, a produkti su aktivnosti tumor supresor gena. Najpoznatija su dva tumor supresor gena: *Rb* i *TP53* (29). Funkcija proteina *Rb* je zaustavljanje staničnog ciklusa u G1 fazi što ostvaruje vezivanjem transkripcijskog faktora E2F koji potiče transkripciju niza gena odgovornih za proces replikacije DNA. Ako je *Rb* nefosforiliran ili hipofosforiliran tada veže E2F te zaustavlja progresiju stanice kroz kontrolnu točku u G1 fazi (engl. *start, restriction point; R-point*), kažemo da je *Rb* aktivan. U slučaju njegove fosforilacije koju ostvaruju kinaze ovisne o ciklinima kada je na njih vezan ciklin, dolazi do promjene konformacije proteina *Rb* pa on otpušta E2F koji sada može potaknuti transkripciju niza gena čiji proteinski produkti potiču replikaciju DNA (30).

Protein TP53 je poznat pod imenom „anđeo čuvar“ našega genoma. Taj epitet je dobio jer je pojačano izražen u stanicama koje su pretrpjele oštećenja molekule DNA, a djeluje kao transkripcijski faktor koji potiče transkripciju gena *p21* (31). Navedeni gen kodira za istoimeni protein koji obgrli kompleks CDK-ciklin pa ovaj više ne može fosforilirati protein RB te posljedično zaustavlja stanični ciklus što nam je u tom trenutku i cilj. Naime, trenutno zbog oštećenja molekule DNA ne želimo da se takva, oštećena DNA replicira kako ne bi došlo do mutacije. Stanici je mudrije da u tom trenutku čeka popravak i potom nastavi s cijelim ciklusom. Štoviše, ako ne dođe do popravka, *p21* može takvu stanicu potaknuti u apoptozu te tako spriječiti nastanak mutacije (32).



TP53 u stanici se nalazi vezan uz drugi protein MDM2 (*engl. Mouse double minute 2 homolog*) koji ga štiti od razgradnje, a postaje aktivan tek oslobađanjem iz tog kompleksa.

Proteinski produkti gena *CDKN2A* djeluju na stanicu upravo u kontrolnoj točki progresije iz G1 u S fazu staničnog ciklusa. Dok p14ARF inhibira protein MDM2 te posljedično oslobađa TP53, p16INK4a inhibira kompleks ciklina D-CDK4/6 sprječavajući ga u fosforilaciji proteina RB što stanicu zadržava u G1 fazi odnosno ne dozvoljava joj progresiju prema replikaciji DNA (33) (Slika 4).



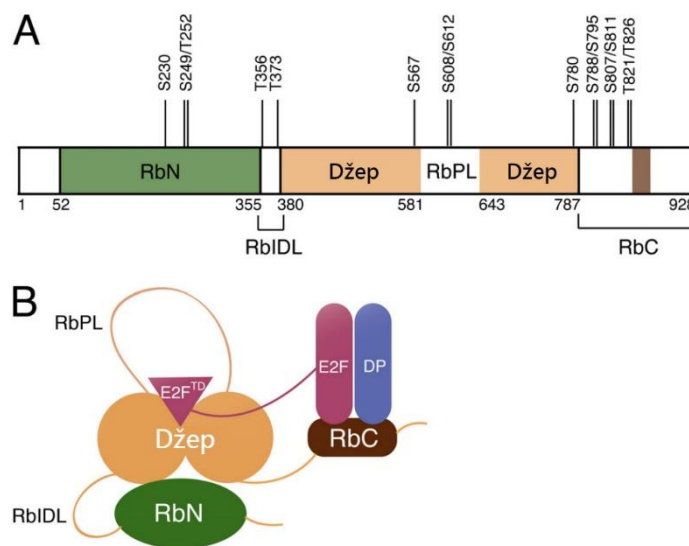
**Slika 4.** Genomska struktura lokusa *CDKN2A* i transkripti koji nastaju. **(a)** Alfa transkript kodira za protein p16INK4a, a beta transkript za ARF (p14ARF kod ljudi, p19Arf u majmuna). Zvezdica (\*) označava stop kodon. **(b)** Signalni putovi koji reguliraju dva proteina: dok p14ARF inhibira funkciju Mdm2 (*engl. Mouse double minute 2 homolog*) s posljedičnom stabilizacijom p53, p16INK4a inhibira kompleks ciklinD-CDK4/6, održavajući tako protein retinoblastom pRb u nefosforiliranom aktivnom obliku. Prilagođeno prema (26).

Dakle, dva proteinska produkta gena *CDKN2A* zaustavljaju stanični ciklus u istoj G1 fazi, ali djelujući preko dva različita proteina. Protein p16INK4a blokira aktivnost kompleksa ciklina D1 i kinaze ovisne o ciklinu 4/6, a posljedica je izostanak fosforilacije proteina Rb koji i dalje ostaje aktivan te ne dozvoljava proteinu E2F transkripciju gena neophodnih za ulazak stanice u S fazu (34). Protein p14ARF inhibira aktivnost ubikvitinske ligaze tj. proteina MDM2 pa TP53 ostaje slobodan kako za zaustavljanje staničnog ciklusa putem p21 tako i za ubikvitinaciju te posljedičnu proteosomsku razgradnju (Slika 4) (35).

Mutacije gena *CDKN2A* imaju različite posljedice na sintetizirane proteine p16INK4a i p14ARF budući da oni nastaju transkripcijom dvaju različitih okvira čitanja. Po tipovima ih možemo svrstati u delecije, insercije, duplikacije i supstitucije (36). Međutim, dok je za p16INK4a često mutacija u egzonu 1a, u slučaju p14ARF skoro trećinu mutacija nalazimo u intronu 1. Posljedično se može sintetizirati krnji protein jer zbog mutacije u intronu može doći do pogrešne obrade primarnog transkripta. Katkada uopće ne dođe do sinteze proteina jer primarni transkript ne uspije proći kroz jezgrine pore do citoplazme (37). Prema učinku koji te mutacije imaju na sintezu proteina govorimo o mutacijama krivog smisla (*missense*), besmislenim mutacijama (*nonsense*) i mutacijama pomaka okvira čitanja (*engl. frame shift mutation*). Ovo je važno poznavati jer može utjecati na primjenu pametnih lijekova poput ipilimumaba (anti-CTLA-4 monoklonsko protutijelo) te anti-PD-1 (*engl. programmed cell death-1*) monoklonskih protutijela pembrolizumaba i nivolumaba (38).

## 4.2. CDK4 (engl. cyclin-dependent kinase 4)

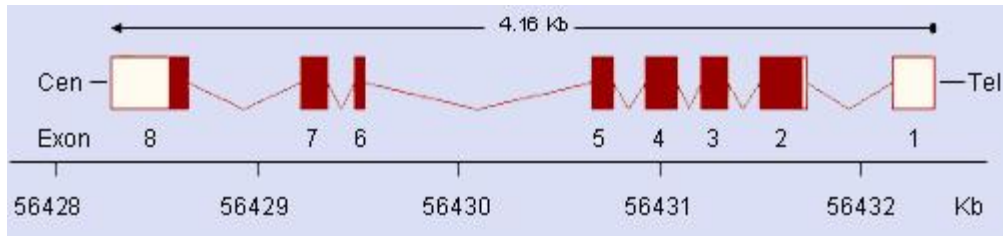
Kinaza 4 ovisna o ciklinu (CDK4) je serin/treonin kinaza odgovorna za progresiju staničnog ciklusa iz G1 u S fazu (39). Svoju funkciju u stanici ostvaruje tek kada se nju veže ciklin D te potom fosforilira retinoblastomski protein na jednom mjestu (40). Posljedica takve monofosforilacije je oslobađanje transkripcijskog faktora E2F koji potiče transkripciju gena za ciklin E pa se on veže na CDK2. Novi kompleks ciklin E – CDK2 dodatno hiperfosforilira Rb protein na ostalim fosforilacijskim mjestima serina i treonina te omogućava progresiju staničnog ciklusa (41, 42) (Slika 5).



**Slika 5.** Struktura retinoblastomskog proteina i njegova interakcija s transkripcijskim faktorom E2F. A. Prikaz domena Rb proteina. B. Prostorni raspored domena Rb proteina i mjesta interakcije s E2F. Prilagođeno prema (43).

Gen *CDK4* nalazi se na kratkom kraku kromosoma 12, 12q14 (čitaj: kratki krak kromosoma 12, regija 1, band 4), a grade ga 8 egzona (Slika 6) i smatra se da je mutiran u 3,68% melanoma (44). Mutacija krivog smisla (engl. *missense*) u 24. kodonu drugog egzona potaknula je promjenu aktivnosti proteinskog produkta ovog gena iz protoonkogeno u dominantan onkogen. Naime, na tom 24. mjestu se umjesto arginina

ugradila ili aminokiselina histidin (R24H) ili cistin (R24C) pa se p16 više ne može vezati za protein CDK4 i ne može regulirati njegovu aktivnost (45). Medijan pojavnosti melanoma u obiteljima s ovim mutacijama je 39 godina dok je cjeloživotna penetrantnost ove mutacije procijenjena na 74% (46).

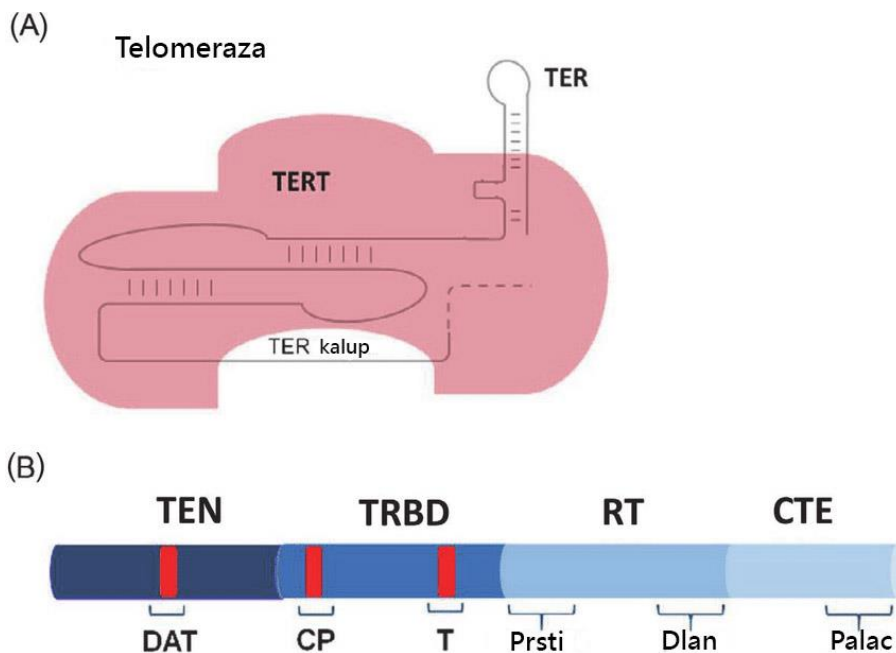


**Slika 6.** Genomska organizacija *CDK4* gena na kromosomu 12 (47).

Prisutnost mutacija krivog smisla i tihih mutacija ovoga gena je zabilježena i u drugim tumorima poput karcinoma endometrija, dok je njegova ekspresija promijenjena u 2,17% svih karcinoma, primjerice adenokarcinoma pluća, liposarkoma i glioblastoma. To je razlog zbog kojeg je tako mutirani oblik proteina CDK4 dobra meta pametnih lijekova koji se primjenjuju u suvremenoj medicini: palbocikliba, abemacicliba i ribocikliba (48). Palbociklib se koristi u terapiji estrogen-pozitivnih karcinoma dojke, a klinička ispitivanja njegove učinkovitosti u CDK4 mutiranim melanomima su u tijeku (49, 50).

### 4.3. TERT (*engl. telomerase reverse transcriptase*)

Gen za telomeraznu reverznu transkriptazu *TERT* je smješten na kratkom kraku kromosoma 5, lokus 5p15.33, a kodira za proteinski dio enzima telomeraze. Telomeraza je ribonukleoprotein koji ima aktivnost reverzne transkriptaze pa tu funkciju vrši TERT dok drugi, ribonukleinski dio, čini duga, nekodirajuća RNA (TR ili TER, *engl. telomerase RNA*) (Slika 7) (51, 52). Kada u stanici ne bi bilo enzima telomeraze, kromatide bi se nakon svake replikacije molekule DNA skraćivale zbog osobine DNA polimeraze da može katalizirati dodavanje novog deoksiribonukleozid trifosfata od 5' prema 3' smjeru, što je povoljno samo za jedan novosintetizirani DNA lanac. Drugi lanac bi nakon svake replikacije ostajao kraći pa tu uskače telomeraza koja prevenira takvo skraćivanje kromatida (52).



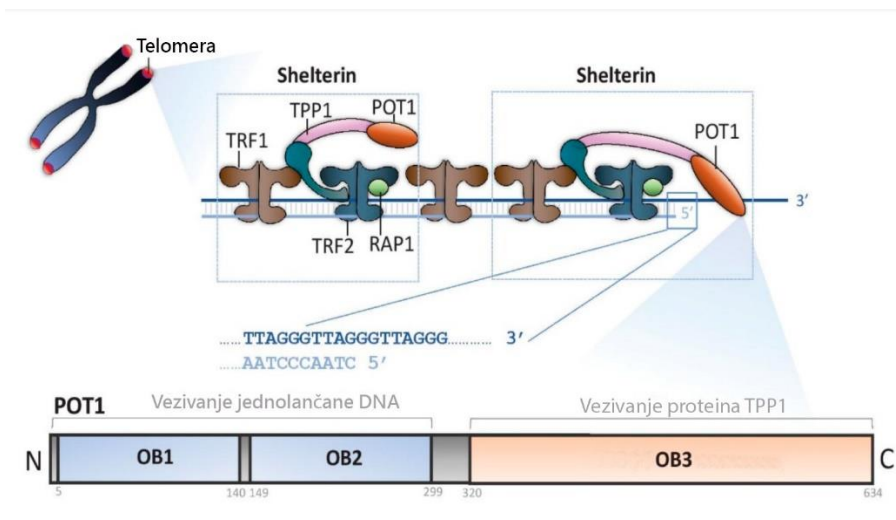
**Slika 7.** Komponente telomeraze. (A) Telomerazna reverzna transkriptaza (TERT) i ribonukleinski dio telomeraze (TER). (B) Prikaz primarne strukture proteina TERT s domenama: N-terminalnu domenu (TEN), telomeraznu RNA-vezujuću domenu (TRBD), domenu reverzne transkriptaze (RT) i C-terminalnu and C-terminal proširenu domenu (CTE). Strukturna područja pod-domena prstiju, dlana i palca su označena. Prilagođeno prema (53).

Međutim, u većini stanica odraslog organizma telomere se zaista skraćuju, a aktivnost telomeraza potrebna je tek u nekim stanicama poput stanica zametnog epitela, limfocita, keratinocita, endometrija, hematopoetskih matičnih stanica te epitelnih stanica crijeva, jednjaka, i vrata maternice (54). Održavanje jednake duljine telomera karakteristika je mnogih tumora pa i melanoma. Mutacije u genu *TERT* karakteristične su za sporadične i nasljedne melanome. Specifične mutacije u promotoru ovoga gena generiraju vezno mjesto za transkripcijske faktore ETS (*engl. Twenty-six-specific sequence ili E26 transforming sequence*) obitelji pa dolazi do pojačane transkripcije gena *TERT* (55, 56). Dvije najčešće mutacije u promotoru ovoga gena su posljedica tranzicije citozina u timin i nalaze se unutar 100 pb od mjesta početka transkripcije, a nazvane su C228T i C250T (kromosom 5, 1,295,228 C>T i 1,295,250 C>T; nazvane C228T i C250T) (57).

Čini se da su baš ove mutacije karakteristične za početak maligne transformacije budući da su otkrivene u 77% intermedijarnih lezija i melanoma *in situ* (58). Na žalost, nalaz mutacija u promotoru gena *TERT* ukazuje na lošiju prognozu tumora pa se može koristiti kao biljeg kraćeg preživljenja takvih pacijenata (59, 60). Inhibicija aktivnosti ovog gena i proteina bila bi potencijalno dobar izbor personalizirane medicine u liječenju oboljelih od melanoma (61).

#### 4.4 POT1 (*engl. protection of telomeres 1*)

Gen *POT1* se nalazi na dugom kraku kromosoma 7 (7q31.33), a njegov proteinski produkt dio je zaštitnog proteinskog kompleksa (*engl. shelterin* ili *telosome*) uključenog u regulaciju duljine telomera, održavanje kromosomske stabilnosti, sprječavanje poremećaja separacije kromosoma i zaštite od nepotrebnog rekombinacijskog popravka (62). Radi se o heterohekasmeru izgrađenom od podjedinica TRF1 (*engl. telomeric repeat factor 1*), TRF2 (*engl. telomeric repeat factor 2*), RAP1 (*engl. repressor activator protein 1*), TIN2 (*engl. TERF1-interacting nuclear factor 2*), TPP1 (*engl. tripeptidyl-peptidase 1*) i POT1 (63). Protein POT1 građen je od 634 aminokiseline i jedini je dio kompleksa koji se može vezati direktno na DNA sekvencu. Tu funkciju ostvaruje oligonukleotidno-oligosaharidnim vezujućim domenama (*engl. oligonucleotide/oligosaccharide-binding fold domains*; OB) OB1 i OB2 na svom N-kraju (Slika 8).



**Slika 8.** Zaštitni proteinski kompleks (*engl. shelterin* ili *telosome*) i protein POT1. Sekvence telomera su repetitivni TTAGGG sljedovi dvolančane DNA koja je prema 3' kraju jednolančana pa na tom mjestu mora biti zaštićena. Funkciju zaštite održava kompleks koji je građen od TRF1, TRF2, RAP1, TIN2, TPP1 i POT1. Humani protein POT1 ima tri oligonukleotidno-oligosaharidne-vezujuće domene (OB). Prilagođeno prema (64).

POT1 blokira funkciju proteina ATR (*engl. ataxia telangiectasia- and Rad3-related*) odgovornog za pokretanje procesa popravka DNA lomova što postiže stvaranjem heterodimera s proteinom POT1 koji regrutira telomerazu kako bi elongirala krajeve kromosoma. Zanimljivo je da isti protein može djelovati i obrnuto odnosno spriječiti produljenje telomera kompetitivnom inhibicijom s telomerazom za 3' kraj jednolančane DNA molekule. Mutacije koje dovode do inhibicije funkcije POT1 ili one čija je posljedica gubitak veznog mjesta za TPP1 povećavaju aktivnost telomeraze te su povezane s raznim zloćudnim bolestima i melanomom (65).

Niz je radova koji ukazuju na mutacije gena *POT1* kako u melanomima tako i u drugim tumorima (66), a povezane su s ranijom pojavnosti kožnih melanoma (62). Neke od mutacija u nasljednim melanomima su prikazane u Tablici 1 (62).

**Tablica 1.** Mutacije gena *POT1*. Prilagođeno prema (62)

Rodoslovno stablo (RS)	Broj slučajeva u RS	Broj nositelja / broj testiranih slučajeva	Genomska lokacija	HGVS ime*	Egzon	Zamjena aminokiseline	Vrsta promjene
UF20	5	4/4	g.124503684T>C	c.266A>G	8	Tyr89Cys	Krivog smisla
AF1	6	3/3	g.124465412C>T	c.1687-1G>A	-	-	Rezno mjesto introna (između 17-18 egzona)
UF31	2	1/1	g.124503670G>C	c.280C>G	8	Gln94Glu	Krivog smisla
UF23	2	1/2**	g.124493077C>A	c.818G>T	10	Arg273Leu†	Krivog smisla

\*Referentni transkript preuzet iz baze podataka Ensembl (izdanje 70) POT1-001 (ENST00000357628).

\*\*Drugi oboljeli u ovoj obitelji imao je drugačiju kliničku sliku (solitarni melanom *in situ*) u 6. desetljeću i nije imao mutaciju Arg273Leu.

†Varijanta otkrivena iz populacijskih studija

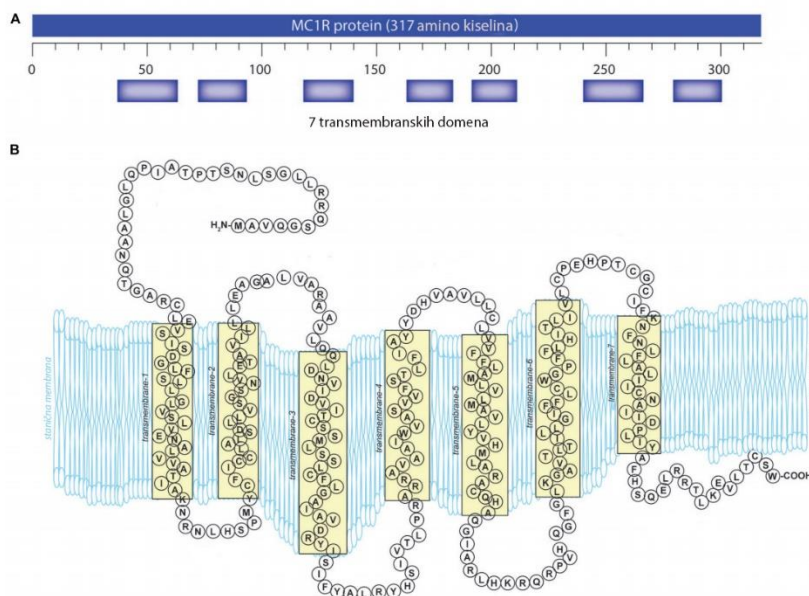
Prema nekim istraživanjima čini se da je, pored *CDKN2A*, *POT1* jedan od najčešće mutiranih gena u nasljednim melanomima (67). Dapače, rezultati mnogih radova ukazuju da su one mnogo češće nego mutacije gena *TERT* (68).



## 5. Geni povezani sa srednje visokim rizikom od melanoma

### 5.1. MC1R (*engl. melanocortin 1 receptor*)

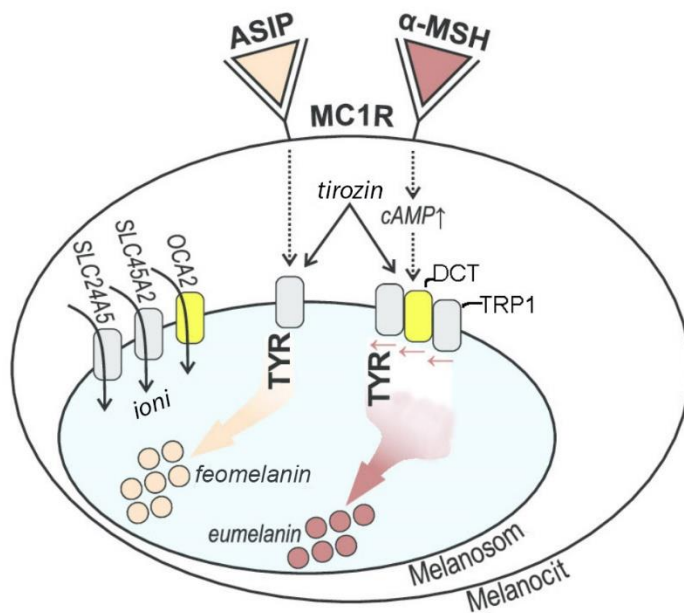
Gen *MC1R* je smješten na dugom kraku kromosoma 16 (16q24.3), a kodira za transmembranski receptor povezan s G proteinom (*engl. G protein coupled receptor; GPCR*). Na izvanstaničnu domenu se vežu ligandi dok unutarstanična preko G proteina pokreće aktivnost adenilat ciklaze i sintezu cAMP (Slika 9) (69).



**Slika 9.** Melanokortin 1 receptor i njegova struktura (A). Zreli protein MC1R je receptor povezan s G proteinom koji ima sedam transmembranskih domena (B). Prilagođeno prema (69).

Jedna od važnih uloga ovog receptora je biosinteza melanina koja se odvija u organelima melanocita melanosomima, a rezultat je vezivanja liganada  $\alpha$ -melanocit stimulirajućeg hormona (*engl.  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone;  $\alpha$ MSH*) i signalnog proteina agouti (*engl. agouti signaling protein; ASIP*). Vezivanje  $\alpha$ MSH na MSH-R aktivira adenilat ciklazu;, stvara se cAMP te posljedično dolazi do sinteze eumelanina iz aminokiseline tirozin. ASIP se natječe za isti receptor tj. djeluje kao njegov antagonist

koji blokira ekspresiju transkripcijskog faktora MITF (*engl. microphthalmia-associated transcription factor*). MITF je glavni akter u sintezi melanina jer regulira aktivnost TRP1 (*engl. tyrosine related protein 1*) i tirozinaze (70). Vezivanje ASIP na MSH-R inhibira sintezu eumelanina, a stimulira produkciju feomelanina (Slika 10) (71).

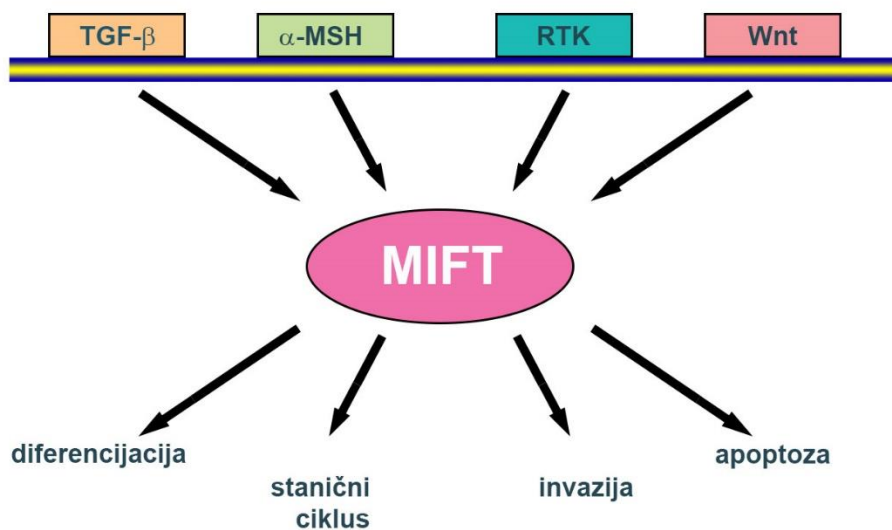


**Slika 10.** Signalni putevi uključeni u sintezu melanina u melanosomima. ASIP - *engl. agouti signaling protein*;  $\alpha$ MSH - *engl.  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone*; TYR – tirozinaza; MC1R - *engl. melanocortin 1 receptor*. Prilagođeno prema (72).

Poznavanje polimorfizama i mutacija gena *MC1R* omogućilo bi bolje poznavanje kako predispozicija za razvoj melanoma tako i potencijalnih terapijskih pristupa u njegovom liječenju (73-75).

## 5.2. MITF (engl. melanocyte inducing transcription factor ili microphthalmia-associated transcription factor)

Gen *MITF* smješten je na kratkom kraku kromosoma 3 (3p13), a kodira za transkripcijski faktor s motivom bHLH-LZ kojim se vezuje na DNA molekulu (engl. basic-helix-loop-helix-leucine zipper; bHLH-LZ) (76). Navedena domena prepoznaje specifične sekvence u promotorima ciljnih gena poput TYR (engl. tyrosinase). Važan je u regulaciji ekspresije tirozinaze i proteina srodnih tirozinazi poput TYRP1 (enlg. tyrosinase-related protein 1) stoga ima centralnu ulogu u regulaciji sinteze melanina u melanocitima (77).



**Slika 11.** Prikaz signalnih puteva koji reguliraju aktivnost proteina MITF (78).

Postoji nekoliko izoformi gena *MITF* od kojih je samo *MITF-M* specifična za melanocite (79), a na Slici 11. su prikazani neki od signalnih puteva povezanih s ekspresijom ovoga gena (78).

## 6. Sindromi

Postoji niz nasljednih sindroma koji uključuju pojavu melanoma, a prikazani su u Tablici 2. U ovom poglavlju bit će riječ o dva sindroma koja su najviše povezana s melanomom: sindrom displastičnog nevusa (*engl. familial atypical multiple mole melanoma*; FAMMM) i sindrom zloćudnih tumora (uključujući melanom) povezan s mutacijom gena BAP1 (*engl. BRCA1-associated protein-1*). .

**Tablica 2.** Sindromi povezani s melanomom. Prilagođeno prema (80).

	Sindrom	Gen	Lokus	Nasljeđivanje	Melanom	Klinička obilježja	Druge maligne bolesti
<b>Sindromi u kojima dominira melanom</b>	Nasljedni melanomi	<i>CDK4</i>	12q14.1	Autosomno dominantno	Kožni	Povećan broj nevusa i brojni displastični nevusi	Tumori živčanog sustava
		<i>CDKN2A</i>	9p21	Autosomno dominantno	Kožni	Povećan broj nevusa i brojni displastični nevusi	Tumori gušterače i živčanog sustava
		<i>POT1</i>	9q31.33	Autosomno dominantno	Kožni	Povećan broj nevusa i brojni displastični nevusi	Gliomi
		<i>TERT</i>	5p15.33	Autosomno dominantno	Kožni	Povećan broj nevusa i brojni displastični nevusi	Tumori jajnika, bubrega, mokraćnog mjehura, dojke i pluća
	BAP1 sindrom	<i>BAP1</i>	3p21.1	Autosomno dominantno	Kožni i uvealni	Epiteloidni, atipični Spitz tumori	Tumori bubrega i mezoteliom
	Sklonost melanomima i karcinomu bubrega	<i>MITF</i>	3p14-p13	Autosomno dominantno	Kožni	Povećan broj madeža i boja očiju koja nije plava	Tumori bubrega
<b>Sindromi koji uključuju melanome</b>	Nasljedni karcinom dojke i jajnika	<i>BRCA1*</i> <i>BRCA2</i>	17q21.31 13q13.1	Autosomno dominantno	Kožni i uvealni ( <i>BRCA2</i> )	Nije primjenjivo	Tumori dojke i jajnika
	Li-Fraumeni sindrom	<i>TP53</i>	17p31.1	Autosomno dominantno	Kožni i uvealni#	Nije primjenjivo	Tumori dojke, kostiju, mekih tkiva i SŽS <sup>+</sup> ; leukemija
	Xeroderma pigmentosum	<i>XPC</i> , <i>XPD</i> , <i>XPA*</i>	varira	Autosomno recesivno	Kožni	Brojne lentiginoze u mlađoj dobi, pjege, keratitisi i iritisi	Učestalost nemelanomskih zloćudnih tumora kože povećana 100 do 1000 puta
	PTEN sindrom	<i>PTEN</i>	10q23.3	Autosomno dominantno	Kožni	Trihilemomi i multipli hamartomi	Tumori dojke, debelog crijeva, štitnjače, bubrega i endometrija

*BRCA1\** i *XPA\**: malo dokaza za povezanost s melanomom

# stupanj porasta melanoma s mutacijama *TP53* nije dobro utvrđen

<sup>+</sup> središnji živčani sustav

## **6.1. Sindrom multiplih atipičnih nevusa s obiteljskom pojavom melanoma (FAMMM sidrom)**

Prvi zabilježeni znanstveni zapis o FAMMM sindromu (*engl. familial atypical multiple mole melanoma syndrome*) datira iz 1820. godine kada je Norris opisao razvoj tumora iz smečkastog madeža koji je recidivirao nakon kirurškog odstranjenja, a pacijent je imao još 40-tak sličnih lezija uz povećane regionalne limfne čvorove, bolove i teško opće stanje (81). Bolest se toliko proširila da je preostalo samo palijativno liječenje, a nakon obdukcije uočena je diseminacija tumora po cijelom tijelu uključujući pluća i srce. Iz obiteljske anamneze doznalo se da je otac navedenog bolesnika preminuo od iste bolesti, a da braća i djeca imaju brojne madeže po tijelu na temelju čega je Norris zaključio da se mora raditi o nasljednoj bolesti (82).

Godine 1968. Lynch i Krush su opisali 4 obitelji s više melanoma uključujući jednu u kojoj je „proband“ (prvi član obitelji koji se javlja na pregled temeljem kojega se postavlja sumnja na nasljednu bolest) obolio u 26. godini života. Godine 1980. utvrđena je nasljedna priroda ovoga sindroma odnosno autosomno dominantan način nasljeđivanja, a 90-tih godina XX. stoljeća Lynch ga je povezao i s drugim sijelima malignih tumora, posebice gušterače (83). Posebna povezanost ovoga sindroma i karcinoma gušterače primijećena je kod osoba koje su bile nositelji mutacije *p16-Leiden* u genu *CDKN2A* (delecija 19 parova baza u egzonu 2 gena *CDKN2A*; NM\_000077.4: c.225\_243del19 (p.p75fs)) (84, 85). Nositelji ove mutacije skloni su i razvoju karcinoma jednjaka, a tumori se kod njih pojavljuju puno ranije nego u ostatku populacije (86, 87). Postoji još niz drugih malignih tumora koji su povezani s ovim sindromom, uključujući tumore pluća, jetre, dojke i mozga (88). Smatra se da je upravo gubitak heterozigotnosti gena *CDKN2A* početni korak za razvoj melanoma u FAMMM (89).

Dijagnostički kriteriji za FAMMM sindrom su sljedeći:

1. melanom kod jednog ili više rođaka u prvom ili drugom obiteljskom koljenu;
2. više od 50 madeža po koži cijeloga tijela od kojih su neki klinički atipični (asimetrični, uzdignuti iznad razine kože, prisutne su varijacije u boji i veličini);
3. madeži koji pokazuju specifična histološka obilježja uključujući asimetriju, subepidermalnu fibroplaziju, lentiginoznu melanocitnu hiperplaziju (vretenasti ili epiteloidni melanociti koji se grupiraju u gnijezda različite veličine i fuzioniraju sa susjednim "mrežnim grebenima" kako bi formirali mostove) i dermalne infiltrate limfocita (81).

Takve osobe se upućuje na genetsko savjetovanje gdje se uz testiranje nastavlja praćenje bolesnika. Učestalost pregleda ovisi o broju oboljelih bliskih srodnika kao i brojnosti madeža; obično se provode svakih 6 mjeseci. Dermoskopija je metoda izbora, ali ne smije se zanemariti potencijal samopregleda kao i mogućnost primjene aplikacija putem pametnih telefona u bliskoj budućnosti (82).

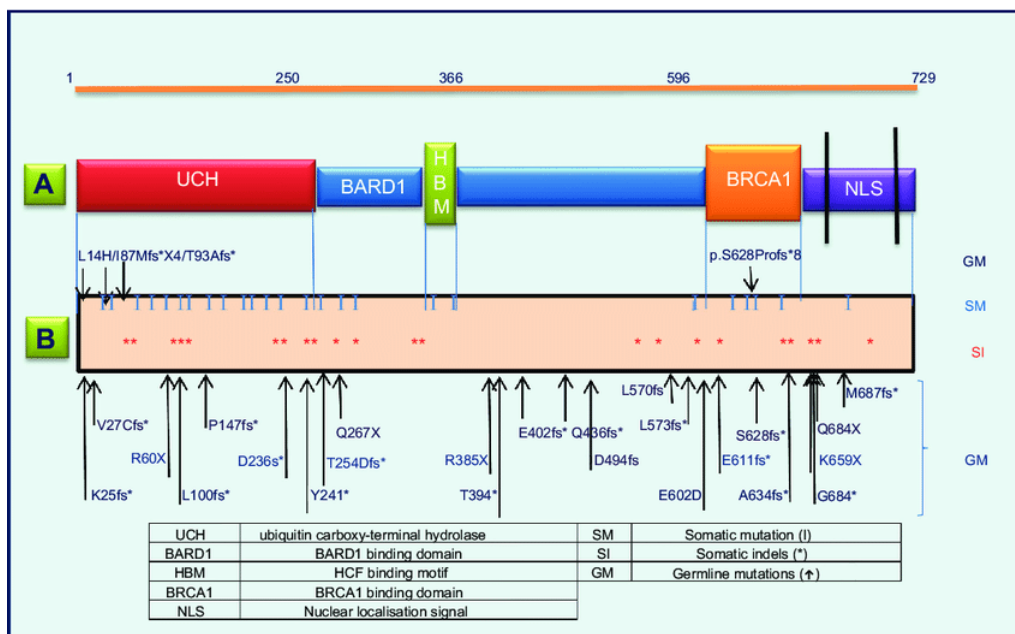
## **6.2. Sindrom zloćudnih tumora povezanih s mutacijom gena *BAP1***

Sindrom zloćudnih tumora povezan s mutacijom gena *BAP1* obilježen je pojavom uvealnog melanoma, mezotelioma i (rjeđe) melanoma kože, a uz to se mogu pojaviti različiti zloćudni tumori, poput tumora bubrega, mokraćnog mjehura i mozga te sarkomi (Ransohoff KJ i sur.).

Tumor supresorski gen *BAP1* (*engl. BRCA1-associated protein-1*) kodira za ubikvitin karboksi-terminalnu hidroksilazu BAP1 koja odstranjuje ubikvitin s drugih proteina čineći ih tako otpornim na razgradnju, ali i utječe na njihovu interakciju s ostalim proteinima. Takovim djelovanjem sudjeluje u nizu staničnih procesa poput regulacije

staničnog ciklusa, transkripcije, organizaciju kromatina, popravak oštećene DNA i apoptoze (90).

Ovaj protein, kojeg čini 729 aminokiselina, ima tri glavne domene, od kojih N-terminalna katalitička domena uklanja ubikvitin, srednja domena veže nuklearni transkripcijski ko-faktor HCF1 (*engl. Host cell factor 1*), a C-terminalna domena (CTD) ostvaruje interakciju s drugim proteinima (Slika 12) (91).



Slika 12. Funkcionalne domene i mjesta interakcije 729 aminokiselina dugog proteina BAP1 s proteinima BARD1, BRCA1 i HCF1. (B) Distribucija mutacija gena *BAP1* u uvealnom melanomu, mezoteliomu i karcinomu bubrega. Popis kratica: UCH - ubikvitin karboksiterminalna hidroksilaza; BARD1 – domena na koju se veže protein BARD1 (*engl. BRCA1-associated RING domain protein 1*); HBM – domena na koju se veže protein HCF1 (*engl. Host cell factor 1*); NLS – nuklearna lokalizacijska sekvenca; SM – somatska mutacija; SI – somatski indeli – varijacije u duljini dvaju alela za koje se ne može odrediti jesu li posljedica insercije ili delecije; GM – mutacija zametnih stanica (*engl. germ line mutation*) (92).

Bolest se nasljeđuje autosomno dominantno, a smatra se da su uglavnom mutacije koje pogađaju nuklearni lokalizacijski signal (slijed aminokiselina koji usmjerava protein u jezgru) ili katalitičku domenu za uklanjanje ubikvitina upravo one što izazivaju najteže kliničke slike (93). Gen *BAP1* je često mutiran u uvealnom melanomu na kojeg



otpada 3-5% sveukupno dijagnosticiranih melanoma (94). Nositelji mutacije gena *BAP1* skloni su razvoju karcinoma bubrega i mezotelioma (95, 96). Noviji radovi ukazuju da prisutnost mutacije ovoga gena može ukazivati na lošiju prognozu tumora (97).

Mutacija *BAP1* gena na koži se najčešće manifestira pojavom melanocitnih atipičnih intraepidermalnih tumora (*engl. melanocytic BAP1-associated intradermal tumors, MBAITs*). Radi se o uzdignutim tumorima promjera oko 5 mm koji mogu biti pigmentirani ili u boji kože. Ovi tumori su se ranije nazivali atipičnih Spitz-ovim tumorima; međutim, kasnije se pokazalo da su histološka i morfološka obilježja ovih tumora različita od tipičnih i atipičnih Spitz-ovih tumora. Obično nastaju u drugom desetljeću života (80). Broj lezija s godinama napreduje, ali se razlikuje od bolesnika do bolesnika (81).

Kod sumnje na mutaciju ovoga gena osobu upućujemo na genetsko savjetovanje gdje se dogovara mogućnost testiranja i mjere praćenja kako upućene osobe tako i članova cijele obitelji (98).

## **7. Genetsko savjetovanje**

Možda je najbolju definiciju aktivnosti koju smatramo genetskim savjetovanjem dalo američko Nacionalno društvo genetičkih savjetnika (*engl. National Society of Genetic Counselors*) 2006. godine, a ona glasi: „Genetsko savjetovanje je proces pomaganja ljudima da razumiju i da se prilagode medicinskim, psihološkim i obiteljskim implikacijama utjecaja genetike na razvoj bolesti. Proces uključuje tumačenje, procjenu rizika, edukaciju i savjetovanje“ (99). Prednost genetskog savjetovanja je bolje razumijevanje osnovnih pojmova vezanih uz genetiku poput mutacije, mutacije

zametnih ili somatskih stanica, biljega za rano otkrivanje tumora, ciljane terapije i molekularne analize (100), ali i smanjenje anksioznosti vezano uz mogući pozitivni nalaz mutacije te dugoročni utjecaj na život ispitanika (101).

Tijekom procesa savjetovanja procjenjuje se rizik kako osobe u savjetovanju tako i ostalih članova obitelji, a za takvu procjenu je neophodan *konsenzus* oko protokola za testiranje. Primjerice, za testiranje osoba na patogenu varijantu gena *CDKN2A* preporučuje se da u obitelji s iste strane postoje najmanje tri oboljela člana u prvom ili drugom koljenu uz pozitivan neki od testova predikcije poput GenoMELPREDICT (102) ili dokazanu patogenu varijantu ovoga gena u člana obitelji (103). Pri donošenju preporuka uzimaju se u obzir sljedeći prediktori: broj članova obitelji s potvrđenom dijagnozom kožnog ili okularnog melanoma, pojava prvog melanoma prije 40-te godine života te prisutnost karcinoma gušterače ili bilo kojeg drugog malignog procesa (104). U takvim procjenama najviše pomažu istraživanja obitelji s poznatim mutacijama jednog člana poput mutacije c.256G > A (Ala86Thr), što znači da je na 256. mjestu došlo do zamjene gvanina adeninom uslijed čega se na tom mjestu ugradila aminokiselina treonin, a ne alalin. Takve promjene gdje je zbog točkaste mutacije došlo do zamjene dviju aminokiselina zovemo mutacijama krivog smisla ili *missense* mutacije (105).

Važnost genetskog savjetovanja nije samo u mogućnosti testiranja već i u kalkulaciji rizika i rizičnog ponašanja koji su u etiologiji bolesti jednako bitni budući da informacije dobivene tijekom savjetovanja mogu pozitivno utjecati na ponašanje pojedinaca (101). Tako specifično kod nasljednog melanoma stručnjaci naglašavaju važnost izbjegavanja dugog izlaganja UV zračenju (106). To je posebno važno kod djece koja se nikako ne smiju testirati na nasljedne tumore odraslih no u slučaju nasljednog melanoma, postoje indicije kako bi genetsko testiranje bilo opravdano u slučaju

mutacija gena *CDKN2A* (107). Uočeno je da je zahvaljujući kvalitetnom genetskom savjetovanju bio smanjen broj sati izlaganju UV zračenju kako kod nositelja tako i kod nenositelja nasljednih mutacija (108). Kriteriji odabira savjetovanih osoba za genetsko testiranje na nasljedne melanome kao posljedica mutacije gena *CDKN2A* prikazani su u Tablici 3.

**Tablica 3.** Seleksijski kriteriji za upućivanje na genetičko testiranje gena *CDKN2A* prema incidenciji melanoma. Prilagođeno prema (109).

Zemljopisna područja/populacije s niskom incidencijom melanoma	Zemljopisna područja/populacije s umjerenom do visokom incidencijom melanoma
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dva (sinkrona ili metakrona) primarna melanoma u pojedinca i/ili</li> <li>• Obitelji sa sljedećim kliničkim karakteristikama kod članova obitelji u prvom ili drugom koljenu na istoj strani rodoslovnog stabla:               <ul style="list-style-type: none"> <li>— Dva slučaja melanoma (jedan invazivan) ili</li> <li>— Jedan slučaj melanoma i jedan slučaj raka gušterače</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tri (sinkrona ili metakrona) primarna melanoma u pojedinca i/ili</li> <li>• Obitelji sa sljedećim kliničkim karakteristikama kod članova obitelji u prvom ili drugom koljenu na istoj strani rodoslovnog stabla:               <ul style="list-style-type: none"> <li>— Tri slučaja melanoma (jedan invazivan) ili</li> <li>— Dva slučaja melanoma i jedan slučaj raka gušterače ili</li> <li>— Jedan slučaj melanoma i dva slučaja raka gušterače</li> </ul> </li> </ul>

U Tablici 4 prikazan je način bodovanja koji se može primijeniti kod nasljednih melanoma i ostalih malignih bolesti koje se mogu javljati u sklopu raznih sindroma (110).

**Tablica 4.** Alat za procjenu sindroma vezanih uz melanom. Prilagođeno prema (110).

Vrsta raka	Kriteriji	Bodovi po pojavljivanju
<b>Melanom</b>	Pojava melanoma kod <i>probanda</i> , rođaka prvog ili drugog stupnja <sup>a</sup>	1 ili 1.5 <sup>b</sup>
<b>Astrocitom<sup>c</sup></b>	Pojava melanoma kod <i>probanda</i> , rođaka prvog ili drugog stupnja	1.5
<b>Dojka</b>	Pojava u <i>probanda</i> , rođaka prvog ili drugog stupnja do 45 godina	1 <sup>d</sup>
	Pojava bilateralnog ili trostruko negativnog karcinoma dojke u <i>probanda</i> , rođaka prvog ili drugog stupnja	1 <sup>d</sup>
	Pojava kod muškarca	1 <sup>d</sup>
<b>Debelo crijevo</b>	Pojava kod <i>probanda</i> ili rođaka prvog stupnja do 50-te godine	1 <sup>d</sup>
	<i>Proband</i> ima ili je imao više od 5 adenomatoznih polipa do 50-te godine	1 <sup>d</sup>
<b>Jajnik</b>	Pojava kod <i>probanda</i> , rođaka prvog ili drugog stupnja	1
<b>Gušterača<sup>c</sup></b>	Pojava kod <i>probanda</i> , rođaka prvog ili drugog stupnja	1.5
<b>Prostata</b>	<i>Proband</i> ima u trenutku dijagnoze metastatski karcinom prostate i/ili Gleason-ov zbroj* veći od 7	1 <sup>d</sup>
<b>Visoka učestalost</b>	Najmanje dva karcinoma dojke, debelog crijeva ili prostate u <i>probanda</i> oboljelog od melanoma, rođaka prvog ili drugog stupnja koji ne zadovoljavaju gore navedene kriterije	1
<b>Nasljedni melanomi povezani s mutacijom gena <i>BAP1</i></b>	Pojava uvealnog melanoma, paraganglioma, mezotelioma, atipičnog Spitz tumora ili svjetlostaničnog karcinoma bubrega u <i>probanda</i> ili rođaka prvog stupnja	1.5/tip zloćudnog tumora
<b>Preporučuje se genetičko testiranje</b>		3 ili više bodova

\*Gleasonov zbroj: određuje gradus raka prostate na temelju patohistološke analize

<sup>a</sup>Rođaci prvog stupnja su roditelji, braća i sestre te djeca; rođaci drugog stupnja su krvni srodnici: djedovi i bake, unuci, tete, ujne, stričevi, nećaci i nećakinje te polubraća i polusestre.

<sup>b</sup>1 bod u zemljopisnom području s umjerenom do visokom incidencijom melanoma i 1.5 bod u zemljopisnom području s niskom incidencijom melanoma. Zemljopisna područja s procijenjenom, dobno standardiziranom stopom incidencije <10 na 100 000 smatraju se niskom incidencijom. Pogledati GLOBOCAN za trenutnu incidenciju: <https://gco.iarc.fr/>

<sup>c</sup>Karcinom gušterače i astrocitom bodovati s 1.5 jer je njihova pojavnost veća kod sindroma s melanomom s d koji su posljedica mutacije gena *CDKN2A*

<sup>d</sup>Navedeni kriteriji ukazuju na nasljedni obrazac koji ispunjava uvjete za monogensko testiranje ili testiranje više gena (panela) koji ne moraju biti povezani s melanomom. Svaki pojedinac ili bilo koja obitelj s ovim nalazom treba razmotriti mogućnost genetskog testiranja neovisno o melanomu. Međutim, ako su kriteriji ispunjeni u kontekstu melanoma, dodatno testiramo gene za melanom.

Osobi koja dolazi na proces genetskog savjetovanja važno je predočiti prednosti i nedostatke genetskog testiranja pa se neki na to odlučuju, a drugi ne. Prednost ranog otkrivanja nositelja mutacija koje ukazuju na nasljedni melanom je mogućnost temeljitijeg praćenja kako testirane osobe tako i ostalih članova obitelji metodama digitalne dermoskopije i fotografiranjem. Kod mutacije gena *CDKN2A* treba misliti i na druge zloćudne tumore, posebno na karcinom gušterače. U Tablici 5 prikazana su neka općenita razmatranja o postupanju kod sumnje na nasljedni melanom (23).

Nedostatak genetičkog testiranja nalazi se u mogućoj većoj anksioznosti nositelja mutacija povezanih s povećanim rizikom za nasljedni melanom. U tim slučajevima savjetuje se upućivanje nositelja mutacija na psihološko savjetovanje. Negativan nalaz odnosno nepostojanje mutacije ima svoje mane jer ispitivanom može dati lažni osjećaj sigurnosti. Stoga je jako važno naglasiti kako na nasljedne karcinome otpada samo do 10% svih melanoma, a preostalih 90% su sporadični. Psihoedukacijom takvim osobama možemo ukazati na potrebu zaštite od sunca, samopregleda i redovitih odlazaka na preventivne preglede dermatologa.

**Tablica 5.** Preporuke o postupanju kod sumnje na nasljedni melanom. Prilagođeno prema (23).

**Uzeti detaljnu osobnu anamnezu:**

- Navike izlaganja suncu
- Osobna anamneza vezana uz melanom te ostale tumore kože (navesti godinu dijagnoze)
- Povijest malignih bolesti unutarnjih organa
  - Napisati godinu dijagnoze
  - Ažurirati podatke jednom godišnje
  - Posebno obratiti pažnju na zloćudni tumor gušterače, bubrega, dojke i druge rijetke tipove zloćudnih tumora
- Obiteljska anamneza bi trebala uključivati:
  - Srodnike s multiplim i/ili atipičnim madežima
  - Navike izlaganja suncu
  - Fototip kože prema Fitzpatrick-u / klinički fenotip (npr. crvena kosa itd.)
- Obiteljska anamneza melanoma (srodnici prvog i drugog stupnja)
  - Broj primarnih melanoma uz zabilježenu godinu dijagnoze
- Obiteljska anamneza malignih promjena unutarnjih organa (3 generacije u rodoslovnom stablu)
  - Napisati godinu dijagnoze
  - Ažurirati podatke jednom godišnje
  - Posebno obratiti pažnju na zloćudni tumor gušterače, bubrega, dojke i druge rijetke tipove zloćudnih tumora
- Ako se radi o pozitivnoj osobnoj ili obiteljskoj anamnezi za melanom ili drugi maligni proces, treba pribaviti za to relevantne medicinske podatke (npr. histološki nalaz, povijest bolesti itd.)

**Fizikalni pregled (status)**

- Fototip kože prema Fitzpatrick-u / klinički fenotip (npr. crvena kosa itd.)
- Broj običnih i atipičnih madeža (<50 ili >50)
- Znakovi solarne elastoze (solarni lentigo, aktinička keratoza itd.)
- Prisutnost multiplih "Spitz-oidnih" madeža ili lezija koje nalikuju madežima
- Posebnu pozornost treba posvetiti ispitivanju atipičnih obilježja u kliničkoj slici (npr. prisutnost trihilemoma, razne vrste manjih malformacija itd.)
- Sve madeže pregledati dermoskopski

### **Kliničke preporuke**

- Općenito, pacijente i njihove obitelji treba educirati o važnosti mjera prevencije zloćudnih tumora kože (upotreba krema za sunčanje, izbjegavanje sunca i solarija itd.)
- Ako osoba koju pregledavamo ima multiple obične madeže i negativnu osobnu i obiteljsku anamnezu za melanom i druge zloćudne tumore kože:
  - Dermoskopija jednom godišnje
  - Eventualno fotografiranje cijeloga tijela
- Ako pacijent ima multiple i/ili atipične madeže ili ima pozitivnu osobnu ili obiteljsku anamnezu za melanom i/ili za druge karcinome ili ako pacijent ima lezije koje nalikuju MBAIT-u:
  - Dermoskopiju ponavljati svakih 3-6 mjeseci ovisno o kliničkoj slici (fenotipu)
  - Cjelovito fotografiranje tijela svakih 6 mjeseci
- Preporučuje se pregled dermatologa kod svih srodnika prvog i drugog stupnja
- Svaka suspektna promjena mora se označiti (MBAITs), odstraniti i poslati na patohistološku analizu
- Ako se pojave brzo mijenjajući madeži ili nove lezije, svim pacijentima treba preporučiti kirurško uklanjanje te patohistološku analizu
- Ako postoji sumnja na neki od sindroma povezanih s melanomom, pacijenta treba uputiti na genetsko savjetovanje i moguću obradu zbog zloćudnih bolesti drugih sijela (unutarnjih organa)

Problem kod genetskog testiranja panela gena povezanih s nasljednim melanomom može biti nalazi mutacija gena za koje trenutno ne postoje razrađene mjere praćenja. Ovo se može izbjeći dogovorom da se s pacijentima komentiraju samo nalazi za koje postoji dokazana jaka klinička povezanost (110).

## 8. ZAKLJUČAK

Melanom je izrazito agresivan tumor s visokim metastatskim potencijalom. Kao i svi maligni procesi u našim stanicama posljedica su interakcije genetskih i epigenetskih faktora. U kliničkoj praksi prevladavaju sporadični melanomi dok na nasljedne melanome otpada otprilike 10%. Najveći broj nasljednih melanoma razvija se kao posljedica mutacija gena *CDKN2A* koji kodira za dva tumor supresorska proteina uključena u regulaciju staničnog ciklusa. Oba djeluju u G1 fazi staničnog ciklusa kada je neophodno očuvati neoštećenu DNA molekulu neposredno prije procesa njenog udvostručavanja. Na taj se način sprječava replikacija oštećenja čime bi se, nakon diobe stanice mitozom, takvo oštećenje prenijelo na dvije stanice kćeri. U tom slučaju došlo bi do mutacije što je za stanicu neprihvatljivo jer se nakupljanjem mutacija stvara preduvjet za razvoj tumora. Oba proteinska produkta gena *CDKN2A* blokiraju jedan od proteina zaštitnika stanice: retinoblastomski protein i p53. Zato za gen *CDKN2A* kažemo da nosi visoki rizik za nastanak melanoma zajedno uz gene *CDK4*, *TERT* i *POT1*. Među genima koji nose umjereni rizik nalaze se *MC1R* i *MITF* čiji su proteinski produkti uključeni u sintezu melanina. S obzirom na to da osim genetskih faktora razvoju melanoma doprinosi utjecaj okoline, neophodno je uključivanje rizičnih skupina u proces genetskog savjetovanja. Tijekom savjetovanja, osim o mogućnosti genetskog testiranja, razgovara se o važnosti zaštite kože od UV zraka, izbjegavanju izlaganja suncu i odlascima na preventivne preglede. Preventivni pregledi ne mogu spriječiti razvoj bolesti, ali omogućuju njeno dijagnosticiranje u najranijem stadiju kada je stopa preživljenja najviša. Budući da niti za jedan od navedenih gena ne možemo sa sigurnošću reći da će izazvati pojavu melanoma, smatra se da je upravo psihoedukacija najveća prednost genetskog savjetovanja.



## **9. ZAHVALA**

Zahvaljujem svojoj mentorici profesorici dr. sc. Zrinki Bukvić Mokos na pomoći i razumijevanju prilikom izrade ovog diplomskog rada.

## 10. LITERATURA

1. Abdo JF, Sharma A, Sharma R. Role of Heredity in Melanoma Susceptibility: A Primer for the Practicing Surgeon. *Surg Clin North Am.* 2020;100(1):13-28.
2. Argenziano G. Cutaneous melanoma: a pocket guide for diagnosis and management. London, United Kingdom: Elsevier/Academic Press; 2017.
3. McCarthy N. The Nationalities Most Susceptible To Skin Cancer. Dostupno na: <https://www.statista.com/chart/14872/the-nationalities-most-susceptible-to-skin-cancer/>.
4. Sneyd MJ, Cox B. A comparison of trends in melanoma mortality in New Zealand and Australia: the two countries with the highest melanoma incidence and mortality in the world. *BMC Cancer.* 2013;13:372.
5. Melanoma of the skin. Dostupno na: <https://www.canceraustralia.gov.au/affected-cancer/cancer-types/melanoma/melanoma-skin-statistics>; Zadnje pristupljeno: 20. listopad 2020.
6. D'Orazio A, J., Jarrett S, Marsch A, Lagrew J, Cleary L. Melanoma — Epidemiology, Genetics and Risk Factors. 2013. InTech. Dostupno na: <https://doi.org/10.5772/55172>.
7. Gupta V, Sharma VK. Skin typing: Fitzpatrick grading and others. *Clin Dermatol.* 2019;37(5):430-6.
8. Soyer HP, Argenziano G, Hofmann-Wellenhof R, Zalaudek I. *Dermoscopy: The Essentials (Third Edition)*. Philadelphia: Elsevier; 2020 2020.
9. Daniel Jensen J, Elewski BE. The ABCDEF Rule: Combining the "ABCDE Rule" and the "Ugly Duckling Sign" in an Effort to Improve Patient Self-Screening Examinations. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2015;8(2):15.
10. Qiuyu J. ABCDEs of melanoma — codes and concepts: DermNet NZ; 2019. Dostupno na: <https://dermnetnz.org/topics/abcdes-of-melanoma/>; Zadnje pristupljeno: lipanj 2019.
11. Tonnessen CA, Haass NK. Melanoma: From Tumor-Specific Mutations to a New Molecular Taxonomy and Innovative Therapeutics. In: Bieber T. NF, editor. *Personalized Treatment Options in Dermatology*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2015.
12. Keung EZ, Gershenwald JE. The eighth edition American Joint Committee on Cancer (AJCC) melanoma staging system: implications for melanoma treatment and care. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2018;18(8):775-84.
13. Morani AC, Hanafy AK, Ramani NS, Katabathina VS, Yedururi S, Dasyam AK i sur. Hereditary and Sporadic Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Current Update on Genetics and Imaging. *Radiol Imaging Cancer.* 2020;2(2):e190020.
14. Chang GA, Wiggins JM, Corless BC, Syeda MM, Tadepalli JS, Blake S i sur. TERT, BRAF, and NRAS Mutational Heterogeneity between Paired Primary and Metastatic Melanoma Tumors. *J Invest Dermatol.* 2020;140(8):1609-18.e7.

15. Bateman AC. DNA mismatch repair proteins: scientific update and practical guide. *J Clin Pathol.* 2021;74(4):264-8.
16. Evans DG, van Veen EM, Byers HJ, Evans SJ, Burghel GJ, Woodward ER i sur. High likelihood of actionable pathogenic variant detection in breast cancer genes in women with very early onset breast cancer. *J Med Genet.* 2021.
17. Petridis C, Arora I, Shah V, Megalios A, Moss C, Mera A i sur. Frequency of pathogenic germline variants in BRCA1, BRCA2, PALB2, CHEK2 and TP53 in ductal carcinoma in situ diagnosed in women under the age of 50 years. *Breast Cancer Res.* 2019;21(1):58.
18. Hallquist MLG, Tricou EP, Ormond KE, Savatt JM, Coughlin CR, Faucett WA i sur. Application of a framework to guide genetic testing communication across clinical indications. *Genome Medicine.* 2021;13(1):71.
19. Bishop JN, Harland M, Randerson-Moor J, Bishop DT. Management of familial melanoma. *Lancet Oncol.* 2007;8(1):46-54.
20. Goldstein AM, Chan M, Harland M, Gillanders EM, Hayward NK, Avril MF i sur. High-risk melanoma susceptibility genes and pancreatic cancer, neural system tumors, and uveal melanoma across GenoMEL. *Cancer Res.* 2006;66(20):9818-28.
21. Clark WH, Jr., Reimer RR, Greene M, Ainsworth AM, Mastrangelo MJ. Origin of familial malignant melanomas from heritable melanocytic lesions. 'The B-K mole syndrome'. *Arch Dermatol.* 1978;114(5):732-8.
22. Hussussian CJ, Struewing JP, Goldstein AM, Higgins PA, Ally DS, Sheahan MD i sur. Germline p16 mutations in familial melanoma. *Nat Genet.* 1994;8(1):15-21.
23. Soura E, Eliades PJ, Shannon K, Stratigos AJ, Tsao H. Hereditary melanoma: Update on syndromes and management: Genetics of familial atypical multiple mole melanoma syndrome. *J Am Acad Dermatol.* 2016;74(3):395-407; quiz 8-10.
24. González-Gil C, Ribera J, Ribera JM, Genescà E. The Yin and Yang-Like Clinical Implications of the CDKN2A/ARF/CDKN2B Gene Cluster in Acute Lymphoblastic Leukemia. 2021;12(1):79.
25. Shakhtshneider E, Orlov P, Semaev S, Ivanoshchuk D, Malyutina S, Gafarov V i sur. Analysis of Polymorphism rs1333049 (Located at 9P21.3) in the White Population of Western Siberia and Associations with Clinical and Biochemical Markers. 2019;9(7):290.
26. Fontana R, Ranieri M, La Mantia G, Vivo M. Dual Role of the Alternative Reading Frame ARF Protein in Cancer. *Biomolecules.* 2019;9(3).
27. Tyson JJ, Csikasz-Nagy A, Novak B. The dynamics of cell cycle regulation. *Bioessays.* 2002;24(12):1095-109.
28. Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nature Reviews Cancer.* 2009;9(3):153-66.
29. Jiang Z, Jones R, Liu JC, Deng T, Robinson T, Chung PE i sur. RB1 and p53 at the crossroad of EMT and triple-negative breast cancer. *Cell Cycle.* 2011;10(10):1563-70.

30. Dick FA, Rubin SM. Molecular mechanisms underlying RB protein function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2013;14(5):297-306.
31. Zilfou JT, Lowe SW. Tumor suppressive functions of p53. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009;1(5):a001883.
32. Karimian A, Ahmadi Y, Yousefi B. Multiple functions of p21 in cell cycle, apoptosis and transcriptional regulation after DNA damage. *DNA Repair (Amst)*. 2016;42:63-71.
33. Brown VL, Harwood CA, Crook T, Cronin JG, Kelsell DP, Proby CM. p16INK4a and p14ARF tumor suppressor genes are commonly inactivated in cutaneous squamous cell carcinoma. *J Invest Dermatol*. 2004;122(5):1284-92.
34. Azazmeh N, Assouline B, Winter E, Rupp S, Nevo Y, Maly A i sur. Chronic expression of p16INK4a in the epidermis induces Wnt-mediated hyperplasia and promotes tumor initiation. *Nature Communications*. 2020;11(1):2711.
35. Weber HO, Samuel T, Rauch P, Funk JO. Human p14(ARF)-mediated cell cycle arrest strictly depends on intact p53 signaling pathways. *Oncogene*. 2002;21(20):3207-12.
36. Pellegrini C, Maturo MG, Martorelli C, Suppa M, Antonini A, Kostaki D i sur. Characterization of melanoma susceptibility genes in high-risk patients from Central Italy. *Melanoma Res*. 2017;27(3):258-67.
37. Chan SH, Chiang J, Ngeow J. CDKN2A germline alterations and the relevance of genotype-phenotype associations in cancer predisposition. *Hered Cancer Clin Pract*. 2021;19(1):21.
38. Helgadottir H, Ghiorzo P, van Doorn R, Puig S, Levin M, Kefford R i sur. Efficacy of novel immunotherapy regimens in patients with metastatic melanoma with germline CDKN2A mutations. *J Med Genet*. 2020;57(5):316-21.
39. Deshpande A, Sicinski P, Hinds PW. Cyclins and cdks in development and cancer: a perspective. *Oncogene*. 2005;24(17):2909-15.
40. Narasimha AM, Kaulich M, Shapiro GS, Choi YJ, Sicinski P, Dowdy SF. Cyclin D activates the Rb tumor suppressor by mono-phosphorylation. *Elife*. 2014;3.
41. Knudsen ES, Wang JY. Dual mechanisms for the inhibition of E2F binding to RB by cyclin-dependent kinase-mediated RB phosphorylation. *Mol Cell Biol*. 1997;17(10):5771-83.
42. Kitagawa M, Higashi H, Jung HK, Suzuki-Takahashi I, Ikeda M, Tamai K i sur. The consensus motif for phosphorylation by cyclin D1-Cdk4 is different from that for phosphorylation by cyclin A/E-Cdk2. *Embo j*. 1996;15(24):7060-9.
43. Burke JR, Deshong AJ, Pelton JG, Rubin SM. Phosphorylation-induced conformational changes in the retinoblastoma protein inhibit E2F transactivation domain binding. *J Biol Chem*. 2010;285(21):16286-93.
44. AACR Project GENIE: Powering Precision Medicine through an International Consortium. *Cancer Discov*. 2017;7(8):818-31.
45. Read J, Wadt KAW, Hayward NK. Melanoma genetics. *Journal of Medical Genetics*. 2016;53(1):1.

46. Puntervoll HE, Yang XR, Vetti HH, Bachmann IM, Avril MF, Benfodda M i sur. Melanoma prone families with <em>CDK4</em> germline mutation: phenotypic profile and associations with <em>MC1R</em> variants. *Journal of Medical Genetics*. 2013;50(4):264.
47. Molven A. CDK4 (cyclin-dependent kinase 4) Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. 2007;11(2):117-118.2007. Dostupno na: [http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC\\_CDK4.html](http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/GC_CDK4.html); Zadnje pristupljeno: Siječanj 2007.
48. CDK4. Dostupno na: <https://www.mycancergenome.org/content/gene/cdk4/>.
49. AbuHammad S, Cullinane C, Martin C, Bacolas Z, Ward T, Chen H i sur. Regulation of PRMT5-MDM4 axis is critical in the response to CDK4/6 inhibitors in melanoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116(36):17990-8000.
50. Young RJ, Waldeck K, Martin C, Foo JH, Cameron DP, Kirby L i sur. Loss of CDKN2A expression is a frequent event in primary invasive melanoma and correlates with sensitivity to the CDK4/6 inhibitor PD0332991 in melanoma cell lines. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2014;27(4):590-600.
51. McNally EJ, Luncsford PJ, Armanios M. Long telomeres and cancer risk: the price of cellular immortality. *J Clin Invest*. 2019;129(9):3474-81.
52. Stone MD. Detailed view of human telomerase enzyme invites rethink of its structure. *Nature*. 2018;557(7704):174-5.
53. Yadav P, Muhammad Wakil A. Telomerase Structure and Function, Activity and Its Regulation with Emerging Methods of Measurement in Eukaryotes. 2019.
54. Meyerson M. Role of Telomerase in Normal and Cancer Cells. 2000;18(13):2626-34.
55. Sizemore GM, Pitarresi JR, Balakrishnan S, Ostrowski MC. The ETS family of oncogenic transcription factors in solid tumours. *Nature Reviews Cancer*. 2017;17(6):337-51.
56. Urso C. Melanocytic Skin Neoplasms: What Lesson From Genomic Aberrations? *Am J Dermatopathol*. 2019;41(9):623-9.
57. Huang FW, Hodis E, Xu MJ, Kryukov GV, Chin L, Garraway LA. Highly recurrent TERT promoter mutations in human melanoma. *Science*. 2013;339(6122):957-9.
58. Shain AH, Yeh I, Kovalyshyn I, Sriharan A, Talevich E, Gagnon A i sur. The Genetic Evolution of Melanoma from Precursor Lesions. *N Engl J Med*. 2015;373(20):1926-36.
59. van Poppel NM, de Bruyn DP, Bicer T, Verdijk R, Naus N, Mensink H i sur. Genetics of Ocular Melanoma: Insights into Genetics, Inheritance and Testing. *Int J Mol Sci*. 2020;22(1).
60. Andrés-Lencina JJ, Rachakonda S, García-Casado Z, Srinivas N, Skorokhod A, Requena C i sur. TERT promoter mutation subtypes and survival in stage I and II melanoma patients. *Int J Cancer*. 2019;144(5):1027-36.
61. Liang WS, Hendricks W, Kiefer J, Schmidt J, Sekar S, Carpten J i sur. Integrated genomic analyses reveal frequent TERT aberrations in acral melanoma. *Genome Res*. 2017;27(4):524-32.

62. Robles-Espinoza CD, Harland M, Ramsay AJ, Aoude LG, Quesada V, Ding Z i sur. POT1 loss-of-function variants predispose to familial melanoma. *Nat Genet.* 2014;46(5):478-81.
63. Ye JZ, Donigian JR, van Overbeek M, Loayza D, Luo Y, Krutchinsky AN i sur. TIN2 binds TRF1 and TRF2 simultaneously and stabilizes the TRF2 complex on telomeres. *J Biol Chem.* 2004;279(45):47264-71.
64. Wu Y, Poulos RC, Reddel RR. Role of POT1 in Human Cancer. 2020;12(10):2739.
65. Calvete O, Garcia-Pavia P, Domínguez F, Bougeard G, Kunze K, Braeuninger A i sur. The wide spectrum of POT1 gene variants correlates with multiple cancer types. *Eur J Hum Genet.* 2017;25(11):1278-81.
66. Shi J, Yang XR, Ballew B, Rotunno M, Calista D, Fargnoli MC i sur. Rare missense variants in POT1 predispose to familial cutaneous malignant melanoma. *Nat Genet.* 2014;46(5):482-6.
67. Trigueros-Motos L. Mutations in POT1 predispose to familial cutaneous malignant melanoma. 2014;86(3):217-8.
68. Potrony M, Puig-Butille JA, Ribera-Sola M, Iyer V, Robles-Espinoza CD, Aguilera P i sur. POT1 germline mutations but not TERT promoter mutations are implicated in melanoma susceptibility in a large cohort of Spanish melanoma families. *Br J Dermatol.* 2019;181(1):105-13.
69. Horrell E, Boulanger M, D'Orazio J. Melanocortin 1 Receptor: Structure, Function, and Regulation. *Frontiers in Genetics.* 2016;7.
70. MC1R Gene: GeneCards®: The Human Gene Database. Dostupno na: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MC1R>.
71. Saleha S, Khan TA, Zafar S. MC1R gene variants involvement in human OCA phenotype %J *Open Life Sciences.* 2016;11(1):142-50.
72. Genes and Proteins: Michigan State University. Dostupno na: <http://www.evo-ed.org/Pages/Skin/genesproteins.html>.
73. Herraiz C, Martínez-Vicente I, Maresca V. The  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone/melanocortin-1 receptor interaction: A driver of pleiotropic effects beyond pigmentation. *n/a(n/a)*.
74. Fuiten AM, Fankhauser RG, Smit DJ, Stark MS, Enright TF, Wood MA i sur. Genetic analysis of multiple primary melanomas arising within the boundaries of congenital nevi depigmentosa. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2021.
75. Zanna I, Caini S, Raimondi S, Saieva C, Masala G, Massi D i sur. Germline MC1R variants and frequency of somatic BRAF, NRAS, and TERT mutations in melanoma: Literature review and meta-analysis. *Mol Carcinog.* 2021;60(3):167-71.
76. Zarei M, Giannikou K, Du H, Liu HJ, Duarte M, Johnson S i sur. MITF is a driver oncogene and potential therapeutic target in kidney angiomyolipoma tumors through transcriptional regulation of CYR61. *Oncogene.* 2021;40(1):112-26.
77. Bristot IJ, Kehl Dias C, Chapola H, Parsons RB, Klamt F. Metabolic rewiring in melanoma drug-resistant cells. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2020;153:102995.

78. Koludrovic D, Davidson I. MITF, the Janus transcription factor of melanoma. *Future Oncol.* 2013;9(2):235-44.
79. Yajima I, Kumasaka MY, Thang ND, Goto Y, Takeda K, Iida M i sur. Molecular Network Associated with MITF in Skin Melanoma Development and Progression. *J Skin Cancer.* 2011;2011:730170.
80. Ransohoff KJ, Jaju PD, Tang JY, Carbone M, Leachman S, Sarin KY. Familial skin cancer syndromes: Increased melanoma risk. *Journal of the American Academy of Dermatology.* 2016;74(3):423-34.
81. Schierbeck J, Vestergaard T, Bygum A. Skin Cancer Associated Genodermatoses: A Literature Review. *Acta Derm Venereol.* 2019;99(4):360-9.
82. Lynch HT, Shaw TG. Familial atypical multiple mole melanoma (FAMMM) syndrome: history, genetics, and heterogeneity. *Fam Cancer.* 2016;15(3):487-91.
83. Ibrahim I, Sibinga Mulder BG, Bonsing B, Morreau H, Farina Sarasqueta A, Inderson A i sur. Risk of multiple pancreatic cancers in CDKN2A-p16-Leiden mutation carriers. *European Journal of Human Genetics.* 2018;26(8):1227-9.
84. Potjer TP, van der Stoep N, Houwing-Duistermaat JJ, Konings ICAW, Aalfs CM, van den Akker PC i sur. Pancreatic cancer-associated gene polymorphisms in a nation-wide cohort of p16-Leiden germline mutation carriers; a case-control study. *BMC Research Notes.* 2015;8(1):264.
85. Oldenburg RA, de Vos tot Nederveen Cappel WH, van Puijenbroek M, van den Ouweland A, Bakker E, Griffioen G i sur. Extending the p16-Leiden tumour spectrum by respiratory tract tumours. *J Med Genet.* 2004;41(3):e31.
86. van der Wilk BJ, Noordman BJ, Atmodimedjo PN, Dinjens WNM, Laheij RJF, Wagner A i sur. Development of esophageal squamous cell cancer in patients with FAMMM syndrome: Two clinical reports. *Eur J Med Genet.* 2020;63(3):103840.
87. Middlebrooks CD, Stacey ML, Li Q, Snyder C, Shaw TG, Richardson-Nelson T i sur. Analysis of the CDKN2A Gene in FAMMM Syndrome Families Reveals Early Age of Onset for Additional Syndromic Cancers. *Cancer Res.* 2019;79(11):2992-3000.
88. Vasen HFA, Gruis NA, Frants RR, van der Velden PA, Hille ETM, Bergman W. Risk of developing pancreatic cancer in families with familial atypical multiple mole melanoma associated with a specific 19 deletion of p16 (p16-Leiden). *2000;87(6):809-11.*
89. Christodoulou E, Nell RJ, Verdijk RM, Gruis NA, van der Velden PA, van Doorn R. Loss of Wild-Type CDKN2A Is an Early Event in the Development of Melanoma in FAMMM Syndrome. *J Invest Dermatol.* 2020;140(11):2298-301.e3.
90. Louie BH, Kurzrock R. BAP1: Not just a BRCA1-associated protein. *Cancer Treat Rev.* 2020;90:102091.
91. Masoomian B, Shields JA, Shields CL. Overview of BAP1 cancer predisposition syndrome and the relationship to uveal melanoma. *Journal of Current Ophthalmology.* 2018;30(2):102-9.

92. Battaglia A. The Importance of Multidisciplinary Approach in Early Detection of BAP1 Tumor Predisposition Syndrome: Clinical Management and Risk Assessment. *Clinical Medicine Insights: Oncology*. 2014;8:CMO.S15239.
93. Laitman Y, Newberg J, Molho RB, Jin DX, Friedman E. The spectrum of tumors harboring BAP1 gene alterations. *Cancer Genet*. 2021;256-257:31-5.
94. Fallico M, Raciti G, Longo A, Reibaldi M, Bonfiglio V, Russo A i sur. Current molecular and clinical insights into uveal melanoma (Review). *Int J Oncol*. 2021;58(4):10.
95. Goldberg Y, Laitman Y, Ben David M, Bazak L, Lidzbarsky G, Salmon LB i sur. Re-evaluating the pathogenicity of the c.783+2T>C BAP1 germline variant. *Hum Mutat*. 2021;42(5):592-9.
96. Uner OE, See TRO, Szalai E, Grossniklaus HE, Stålhammar G. Estimation of the timing of BAP1 mutation in uveal melanoma progression. *Sci Rep*. 2021;11(1):8923.
97. Wang F, Luo M, Qu H, Cheng Y. BAP1 promotes viability and migration of ECA109 cells through KLF5/CyclinD1/FGF-BP1. *FEBS Open Bio*. 2021;11(5):1497-503.
98. Cabaret O, Perron E, Bressac-de Paillerets B, Soufir N, de la Fouchardière A. Occurrence of BAP1 germline mutations in cutaneous melanocytic tumors with loss of BAP1-expression: A pilot study. *Genes Chromosomes Cancer*. 2017;56(9):691-4.
99. Skirton H, Cordier C, Ingvaldstad C, Taris N, Benjamin C. The role of the genetic counsellor: a systematic review of research evidence. *Eur J Hum Genet*. 2015;23(4):452-8.
100. McDaniels BA, Hianik RS, Bellcross C, Shaib WL, Switchenko J, Dixon MD i sur. The Impact of Genetic Counseling Educational Tools on Patients' Knowledge of Molecular Testing Terminology. *J Cancer Educ*. 2020;35(5):864-70.
101. Zhu X, Leof ER, Rabe KG, McCormick JB, Petersen GM, Radecki Breitkopf C. Psychological Impact of Learning CDKN2A Variant Status as a Genetic Research Result. *Public Health Genomics*. 2018;21(3-4):154-63.
102. Taylor NJ, Mitra N, Qian L, Avril MF, Bishop DT, Bressac-de Paillerets B i sur. Estimating CDKN2A mutation carrier probability among global familial melanoma cases using GenoMELPREDICT. *J Am Acad Dermatol*. 2019;81(2):386-94.
103. CDKN2A genetic testing. Dostupno na: <https://www.eviq.org.au/cancer-genetics/adult/genetic-testing-for-heritable-pathogenic-variants/1864-cdkn2a-genetic-testing>; Zadnje pristupljeno: 4. listopad 2021.
104. Holland EA, Lo S, Kelly B, Schmid H, Cust AE, Palmer JM i sur. FRAME: Familial Risk Assessment of Melanoma-a risk prediction tool to guide CDKN2A germline mutation testing in Australian familial melanoma. *Fam Cancer*. 2020.
105. Hemminki K, Srivastava A, Rachakonda S, Bandapalli O, Nagore E, Hemminki A i sur. Informing patients about their mutation tests: CDKN2A c.256G>A in melanoma as an example. *Hered Cancer Clin Pract*. 2020;18:15.



106. Taber JM, Aspinwall LG, Drummond DM, Stump TK, Kohlmann W, Champine M i sur. Priority of Risk (But Not Perceived Magnitude of Risk) Predicts Improved Sun-Protection Behavior Following Genetic Counseling for Familial Melanoma. *Ann Behav Med.* 2021;55(1):24-40.
107. Wu YP, Aspinwall LG, Parsons B, Stump TK, Nottingham K, Kohlmann W i sur. Parent and child perspectives on family interactions related to melanoma risk and prevention after CDKN2A/p16 testing of minor children. *Journal of Community Genetics.* 2020;11(3):321-9.
108. Stump TK, Aspinwall LG, Drummond DM, Taber JM, Kohlmann W, Champine M i sur. CDKN2A testing and genetic counseling promote reductions in objectively measured sun exposure one year later. *Genet Med.* 2020;22(1):26-34.
109. Leachman SA, Carucci J, Kohlmann W, Banks KC, Asgari MM, Bergman W i sur. Selection criteria for genetic assessment of patients with familial melanoma. *J Am Acad Dermatol.* 2009;61(4):677.e1-14.
110. Leachman SA, Lucero OM, Sampson JE, Cassidy P, Bruno W, Queirolo P i sur. Identification, genetic testing, and management of hereditary melanoma. *Cancer Metastasis Rev.* 2017;36(1):77-90.

## **11. ŽIVOTOPIS**

Rođen sam 19. ožujka 1996. godine u Zagrebu. Završio sam Osnovnu školu „Silvije Strahimir Kranjčević“ u Zagrebu 2010. godine te Osnovnu glazbenu školu „Pavao Markovac“. 2011. godine bio sam državni prvak u sportu jiu-jitsu u kategoriji mlađih juniora. Maturirao sam 2014. godine u zagrebačkoj II. gimnaziji te iste godine upisao Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija sudjelovao sam u provedbi Dana otvorenih vrata Medicinskog fakulteta 2015. godine, a 2016. godine na Festivalu znanosti kao sudionik radionice „Umjetnost nasljeđivanja“. Govorim engleski (FCE diploma i CAE diploma Cambridge English Qualifications) i njemački jezik.