

# KNJIGA SAŽETAKA



Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa  
Studentska sekcija HDKI-ja  
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije  
Sveučilišta u Zagrebu

# SKOK

## STUDENTSKI KONGRES O KARCINOMU

Zagreb, 11. i 12. prosinca 2020.



Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa (HDKI)

Studentska sekcija HDKI-ja

Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije  
Sveučilišta u Zagrebu



**STUDENTSKI KONGRES O KARCINOMU  
KNJIGA SAŽETAKA**

Zagreb, 11. i 12. prosinca 2020.

**Izdavač**

Hrvatsko društvo kemijskih inženjera i tehnologa (HDKI)

**Za izdavača**

Tomislav Bolanča

**Urednica**

Antonia Škarica

**Tekst pripremili**

AUTORI, koji su odgovorni za tekst sažetaka

**Priprema**

Antonia Škarica

Ema Podravski

ISBN 978-953-6894-76-5

## UVODNA RIJEČ

Rak je bolest uzrokovana nekontroliranim rastom stanica koje se šire u okolno tkivo. Ukoliko se klasificira prema tipu stanica od kojih je sastavljen, razlikuju se karcinomi, mijelomi, limfomi, leukemije te sarkomi. Karcinom je najčešći tip raka koji nastaje iz epitelnih stanica koje pokrivaju unutarnje i vanjske površine tijela.<sup>1</sup>

U novijim vremenima svjedoci smo sve većeg broja oboljelih od malignih bolesti na svjetskoj razini. Republika Hrvatska je u razdoblju od 2001. do 2017. godine zabilježila porast broja oboljelih od raka u prosjeku za jedan posto godišnje. Iako su maligne bolesti drugi najčešći uzrok smrti, nadu daje činjenica da je standardizirana stopa mortaliteta od raka u padu.<sup>2</sup> Razlozi obolijevanja, dijagnostika, liječenje i prevencija postali su predmet istraživanja brojnim znanstvenicima.

Ideja širenja znanja o tome što karcinom jest, kako ga dijagnosticirati te liječiti, potaknula je članove Studentske sekcije Hrvatskoga društva kemijskih inženjera i tehnologa na organizaciju prvog Studentskog kongresa o karcinomu (SKoK). Mnogobrojni stručnjaci će kroz dva dana predavanja sudionicima prenijeti znanje o nastanku karcinoma, dijagnostici, metodama liječenja te prevenciji nastanka karcinoma.

Svim sudionicima želim uspješan rad i dobro zdravlje!

Antonia Škarica,

predsjednica Organizacijskog odbora SKoK-a

<sup>1</sup> <https://www.onkologija.net/vrste-raka> (pristupljeno 1.12.2020.g.)

<sup>2</sup> <https://www.hzjz.hr/aktualnosti/svjetski-dan-raka-2020/> (pristupljeno 1.12.2020.g.)

PROGRAM	1.
11. prosinca 2020.g.	2.
12. prosinca 2020.g.	3.
PLENARNA IZLAGANJA	5.
POZVANA IZLAGANJA	12.
USMENA IZLAGANJA	18.

**SPONZORI:**



FKITMCMXIX



PLIVA



Ru-Ve



# **PROGRAM**

## 11. prosinca 2020.

VRIJEME	PREDAVAČ	NASLOV PREDAVANJA	str.
15:45 h – 16:00 h		<i>Registracija sudionika</i> <i>Uvodna riječ</i>	
16:15 h – 17:45 h	<b>prof. dr. sc. Nada Oršolić</b>	„Što jest tumor?“	6.
17:45 h – 18:00 h		<i>PAUZA</i>	
18:00 h – 18:30 h	<b>Natko Beck, dr. med.</b>	„Radiološke metode otkrivanja karcinoma“	
18:30 h – 18:35 h		<i>PAUZA</i>	
18:35 h – 19:20 h	<b>prof. dr. sc. Silvana Raić Malić</b>	„Razvoj novih purinskih bioizostera s antitumorskim djelovanjem“	8.



## 12. prosinca 2020.

VRIJEME	PREDAVAČ	NASLOV PREDAVANJA	str.
10:00 h – 10:15 h		<i>Registracija sudionika</i>	
10:15 h – 10:30 h		<i>Uvodna riječ</i>	
10:30 h – 11:00 h	<b>dr. sc. Ana Čipak Gašparović</b>	„Oksidacijski stres vs antioksidacijska zaštita u borbi protiv rezistencije tumora”	13.
11:00 h – 11:05 h		<i>PAUZA</i>	
11:05 h – 11:35 h	<b>prof. dr. sc. Karmela Barišić</b>	„Koncept tekuće biopsije u molekulskom profiliranju kolorektalnoga tumora”	14.
11:35 h – 11:40 h		<i>PAUZA</i>	
11:40 h – 12:10 h	<b>doc. dr. sc. Petar Ozretić</b>	„Primjena bioinformatike u otkrivanju genetske podloge raka”	15.
12:10 h – 12:25 h		<i>PAUZA</i>	
12:25 h – 12:55 h	<b>dr. sc. Marija Matković</b>	„Nukleinske kiseline-biomakromolekularne mete u terapiji i dijagnostici karcinoma”	16.
12:55 h – 13:00 h		<i>PAUZA</i>	
13:00 h – 13:45 h	<b>Nenad Bratković, mag. nutr., univ. mag. pharm.</b>	“Uloga prehrane pri prevenciji karcinoma”	10.
13:45 h – 14:00 h		<i>PAUZA</i>	

VRIJEME	PREDAVAČ	TEMA	str.
14:00 h – 14:35 h	<b>Tea Sinožić, mag. med. biochem.</b> <b>Robert Kolman, mag. med. biochem.</b>	„Medicinsko-biokemijska dijagnostika u onkologiji”	19.
14:35 h – 14:50 h	<b>Snježana Kodba, mag. biol. mol.</b>	„Učestalost aneuploidije u tumorskim i netumorskim stanicama te određivanje osnovnih pogrešaka pri segregaciji kromosoma”	21.
14:50 h – 15:05 h	<b>Sara Hrg</b>	„Usporedba incidencije melanoma u dva hrvatska grada”	22.
15:05 h – 15:20 h	<b>Rebeka Štulić, mag. appl. chem.</b>	„Sinteza novih 5-amidino-benzimidazola s potencijalnom biološkom aktivnošću”	23.
15:20 h – 15:35 h	<b>Emilija Brglez, mag. exp. biol.</b>	„Povezanost fosforilacijskog statusa beta-katenina sa strukturnim promjenama gena <i>APC</i> u glioblastomu čovjeka”	25.
15:35 h – 15:50 h	<b>Petar Brlek</b>	„Bioinformatička analiza difuznih glioma mozga upotrebom cBioPortal baze za tumorsku genomiku“	27.
15:50 h – 16:00 h	<i>Odjava kongresa</i>		

# **PLENARNA IZLAGANJA**

## Što jest tumor?

prof. dr. sc. Nada Oršolić, redoviti profesor u trajnom zvanju

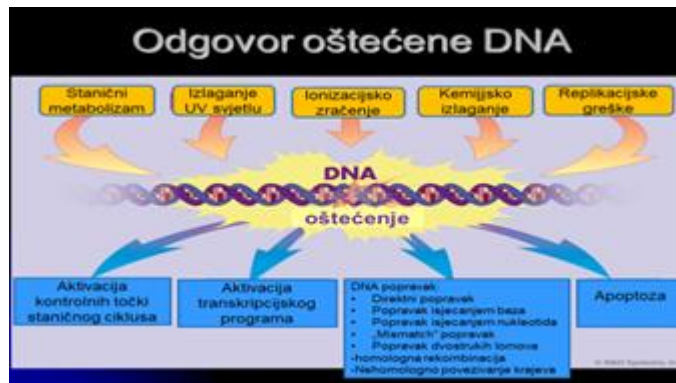
Prirodoslovno-matematički fakultet u Zagrebu, Sveučilište u Zagrebu

Zavod za animalnu fiziologiju

nada.orsolic@biol.pmf.hr

Zloćudni tumor ili rak jest kronična bolest s obilježjem nekontroliranog staničnog rasta i diferencijacije stanica te njihovog širenja u udaljena tkiva i organe (proces metastaziranja). Poremećaj koji vodi nastanku tumora jest mutacija gena koji nadziru stanični ciklus što posljedično vodi gubitku kontrole staničnog umnožavanja. Mutacije gena mogu biti izazvane fizikalnim ili kemijskim oštećenjima ali i unosom virusnog genoma. Rak je bolest genoma; proces uzrokovan nakupljanjem genetskih i epigenetskih promjena. Proces nastanka tumora naziva se – kancerogeneza, a posljedica je višestrukih mutacija prouzročenih unutrašnjim i vanjskim kancerogenim čimbenicima te spontanim mutacijama u organizmu. Navedene promjene vode stvaranju abazičnih mjesta, deaminaciji, promjeni baza, jednostrukim i dvostrukim lomovima DNA, što može stvoriti oko  $10^5$  lezija DNA na dan. U procesu zloćudne preobrazbe najodgovornije su promjene u aktivnosti triju ključnih skupina gena: 1) onkogeni; 2) tumor-supresorskih gena, i 3) gena koji sprječavaju pogreške u genomu. Razvoj malignog tumora ima tri, odnosno četiri stadija: inicijaciju, promociju i progresiju tumora te metastaziranje. Tijekom zloćudne preobrazbe tumorske stanice stječu obilježja kako slijedi: 1) proizvode vlastite signale rasta, 2) ignoriraju postojeće inhibitore rasta; 3) izbjegavaju staničnu smrt; 4) neograničeno se repliciraju; 5) održavaju angiogenezu; 6) prodiru u tkiva razaranjem staničnih membrana i kapilarnih stijenki te 7) izbjegavaju imunosnu obranu i metastaziraju; 8) vode nastanku lokalnih i sustavnih učinaka tumora uključujući nastanak različitih paraneoplastičnih sindroma. Međudjelovanjem zloćudnih stanica i domaćina razvija se zloćudna bolest. U razvoju zloćudne bolesti tumorske stanice moraju prijeći tri preprjeka: genomsku, energijsku i imunosnu. Genomsku preprjeku čine sustavi nadzora i popravka DNA. Oštećenja DNA uzrokuju mutacije koje nastaju zaobilazanjem mehanizama popravka DNA, ali i nastankom pogrešaka tijekom popravka. Energijsku preprjeku čine ograničenja u dotoku kisika i hranjivih tvari zloćudnim stanicama. Prožiljenjem tumora (proces angiogeneze), preprjeka se zaobilazi. Imunosna preprjeka se temelji na nadzoru imunosnih stanica nad našim promijenjenim zloćudnim stanicama. Zloćudne stanice i tu preprjeku zaobilaze različitim promjenama molekularnih biljega nužnim za imunosno prepoznavanje što vodi bijegu tumorskih stanica, njihovom umnažanju i metastaziranju. Temeljem navedenog, tumorske stanice karakterizira genomska nestabilnost i promjene u kariotipu uzrokovane točkastim mutacijama, kromosomskim aberacijama i mikrosatelitskom nestabilnošću. Genomska nestabilnost može se definirati kao povećanje učestalosti oštećenja, gubitka ili preuređenja DNA. Stupanj i varijabilnost

genomske nestabilnosti odgovoran je za heterogenost karcinogenetskih mehanizama, kliničku varijabilnost, sklonost metastaziranju te različito reagiranje na terapijske postupke. Maligni tumori najčešće progrediraju u invazivni i metastatski, koji postaje nezavisan od čimbenika rasta, hormona i drugih kontrolnih regulatornih mehanizama. Rast tumora i metastaziranje ovisi o procesu angiogeneze te nazočnosti proangiogenih i anti-angiogenih čimbenika koji nisu izravno citotoksični za tumorske stanice, a mogu povećati apoptozu/nekrozu tumorskih stanica. Transkripcija i ekspresija čimbenika rasta krvožilnog endotela (VEGF), potaknuta je kao odgovor na hipoksiju, niski pH, aktiviranje onkogeno (primjerice, RAS, SRC, EGFR, HER2), alternativno cijepanje specifičnih tumor supresor gena (npr. PTEN, p53, VHL), različite upalne citokine i čimbenike rasta te hormone poput estrogena. Rastući tumor treba razgranatu mrežu kapilara kako bi si osigurao hranjive tvari i kisik. U tomu važnu ulogu imaju tumoru pridruženi makrofazi (TAM) koji obavljaju immunosupresivne uloge kroz: 1) osobađanje antiupalnih citokina; 2) moduliranje mikrookoliša tumora proizvodnjom čimbenika preživljavanja/rasta (primjerice, čimbenika rasta krvožilnog endotela, VEGF); 3) olakšavanje progresije tumora kroz otpuštanje proangiogenetskih čimbenika (npr. matriks-metaloproteinaza-2 i -9, MMP2 i MMP9); 4) povećanje aktivnosti arginaze (Arg), a smanjenje aktivnosti inducibilne dušikov oksid sintaze (iNOS). Stanice imunskog sustava glavne su sastavnice tumorskog mikrookoliša; njihovo međudjelovanje s tumorskim stanicama višestruko utječe na progresiju tumora ali i na odgovor tijekom terapije.



## Razvoj novih purinskih bioizostera s antitumorskim djelovanjem

prof.dr.sc. Silvana Raić-Malić

Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

sraic@fkit.hr

Posljednjih se godina broj neuspješnih liječenja koja su povezana s razvojem rezistentnosti tumorskih stanica na lijekove alarmantno povećao. Tako je 2018. godine u svijetu karcinom uzrokovao 9,6 milijuna smrtnih slučajeva. Predviđa da će do 2020. godine broj novih oboljenja od raka u svijetu porasti na više od 15 milijuna, a smrtnost se povećati na 12 milijuna. Tijekom posljednjih 40 godina, razvoj nukleinskih kiselina i nukleozidnih analoga za medicinsku uporabu imao je značajan utjecaj u kliničkoj kemoterapiji. Tako su nukleozidni analozi bili među prvim primijenjenim onkološkim lijekovima. Veliki naponi sintetskih kemičara usmjereni su na razumijevanje molekularnih mehanizama pojave raka i otkriće novih pristupa u liječenju raka.

Provedene su sinteze novih purinomimetika koji su povezani s drugom farmakofornom jedinicom preko različitih prenosnica koje su pokazale utjecaj na biološku aktivnost. Među spojevima strukturno srodni purinima, 5,6-disupstituirani furo[2,3-*d*]pirimidin-2-on koji sadrži ciklopropilnu skupinu pokazao je najizraženije citostatsko djelovanje na karcinom jetre (HepG2) i karcinom grlića maternice (HeLa). Također je pronađeno da su antiproliferativni i antiapoptotički učinci derivata benzimidazola s hidrofobnim *p*-klorfenilnim prstenom u ne-malim stanicama karcinoma pluća A549 povezani s inhibicijom specifičnih receptora plazmene membrane što dovodi do blokade signalizacijskog puta p38 MAP kinaze i transkripcijskog faktora NF- $\kappa$ B. Spoj s bis-pirololo[2,3-*d*]pirimidinskom (7-deazapurinskom) okosnicom povezan preko aromatske di(1,2,3-triazolil)fenilne poveznice pokazao je snažan antiproliferativni učinak u nM području na karcinom gušterače (CFPAC-1), a koji se može pripisati inhibiciji kinaze CDK9/ciklin T1 i slabljenju onkogene signalizacije posredovane c-Raf i p38 MAP kinazama. Razvijeni su amidino-2-supstituirani benzimidazoli povezani s 1,4-disupstituiranim 1,2,3-triazolima i aromatskim hidrofobnim ostatkom koji su pokazali selektivno i snažno citostatsko djelovanje na ne-male stanice karcinoma pluća (A549) u niskom nM području. Citostatsko djelovanje imidazolinskih i *N*-izopropilamidinskog derivata benzimidazola pripisano je smanjenju aktivnosti dviju kinaza, sfingozin-kinaze (SK1) i p38 MAP kinaze.

[1] T. Gregorić et al. Eur. J. Med. Chem. 125 (2017) 1247–1267.

- [2] A. Bistrović et al. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 33 (2018) 271–285.
- [3] A. Bistrović et al. *Int. J. Mol. Sci.* 18 (2017) 2292–2312.
- [4] A. Bistrović et al. *Eur. J. Med. Chem.* 143 (2018) 1616–1634.
- [5] A. Harej et al. *Int. J. Mol. Sci.*, 20 (2019) 4735-4761.
- [6] A. Meščić Macan et al. *Antioxidants*, 8 (2019) 247–283.
- [7] A. Meščić Macan et al. *Eur. J. Med. Chem.* 184 (2019) 111739–111756.

## **Uloga prehrane pri prevenciji karcinoma**

Nenad Bratković

NutriKlinika centar za dijetoterapiju i sportsku prehranu, Palinovečka 25A, Zagreb.

nenad.bratkovic@nutriklinika.com

Primarna prevencija karcinoma značajan je imperativ javnozdravstvenih sustava, obzirom na rastuću incidenciju ove bolesti. Obzirom na složenu etiologiju karcinoma, pristup prevenciji treba biti složen i interdisciplinaran. Najveća poboljšanja u prevenciji raka mogla bi se postići upravo primjenom različitih intervencija, uključujući i okolišne čimbenike, temeljeno na sve većoj bazi znanstvenih dokaza. Okolišni čimbenici koji mogu utjecati na razvoj i nastanak karcinoma uključuju i prehranu i redovnu tjelesnu aktivnost. Naime, sjedilački način života i posljedična debljina rizičan je čimbenik za nastanak nekoliko karcinoma.

Prehrana utječe na ključne stanične i molekularne procese, a dostupni su znanstveno utemeljeni dokazi o korelacijskim, ali i potencijalno uzročnim čimbenicima za pojedine tipove raka. Naime, smatra se da je izloženost u prehrani mesnim prerađevinama i alkoholnim pićima vjerojatni uzročnik za neke entitete karcinoma.

Prema nekim znanstvenim dokazima, preporuča se ograničavanje ili izbjegavanje mliječnih proizvoda kako bi se smanjio rizik od karcinoma prostate, ograničavanje alkohola kako bi se smanjio rizik od karcinoma usta, ždrijela, jednjaka, debelog crijeva, rektuma i dojke; izbjegavanje prerađenog i crvenog mesa kako bi se smanjio rizik od karcinoma debelog crijeva i rektuma, a prije svega izbjegavanje mesa s roštilja, pržene i pečene hrane, kako bi se smanjio rizik od karcinoma debelog crijeva, rektuma, dojke, prostate, bubrega i gušterače.

Što se tiče zaštitnog učinka sastavnica prehrane, smatra se da biljna vlakna djeluju zaštitno od nastanka karcinoma debelog crijeva. Zaštitna uloga prehrane proizlazi iz sustavnog osiguranja metaboličkog okruženja koje promiče normalnu replikaciju stanica te posljedični optimalan integritet tkiva. Studije su dosljedno povezivale obilnu konzumaciju prehranu temeljenu na biljnim namirnicama sa značajnim smanjenjem rizika od razvoja različitih karcinoma.

Studije pokazuju da je ovaj kemopreventivni učinak povezan s visokom razinom brojnih fitokemikalija u ovim namirnicama. Neke razine dokaza ukazuju na sposobnost fitokemikalija da blokiraju napredovanje latentnih mikrotumora. Ova svojstva proizlaze iz visokog sadržaja fitokemikalija, molekula koje imaju za cilj nekoliko ključnih procesa u razvoju raka. Navedene fitokemikalije uključene su u inhibicijske procese nekoliko staničnih procesa, koje su značajni u napredovanju raka, a također pri upalnim procesima koji potiču razvoj raka. Također, tip masnih kiselina u prehrani, udružen s proinflamacijskim učinkom dodanih šećera ostaje kao područje koje bi valjalo detaljnije istražiti u budućim studijama.

Opće mjere povezane s prehranom koje bi mogle smanjiti mogućnost kancerogeneze uključuju: prehrana bogata biljnim namirnicama (povrće, mahunarke, voće, cjelovite žitarice), prehrana sa



skromnim i umjerenim unosom mliječnih proizvoda i mesa, s vrlo niskim sadržajem alkohola, soli te prehranu bez trans-masnih kiselina.

Prehrana kao okolišni čimbenik ima određeni potencijal pri primarnoj prevenciji karcinoma. Prehrana temeljena na biljnim namirnicama bogatih fitokemikalijama i vlaknima, a siromašna industrijski procesuiranim namirnicama, prije svega trans-masnim kiselinama i konzervansima nitratima neke su od mjera koje bi mogle smanjiti mogući nastanak nekih karcinoma.

# **POZVANA IZLAGANJA**

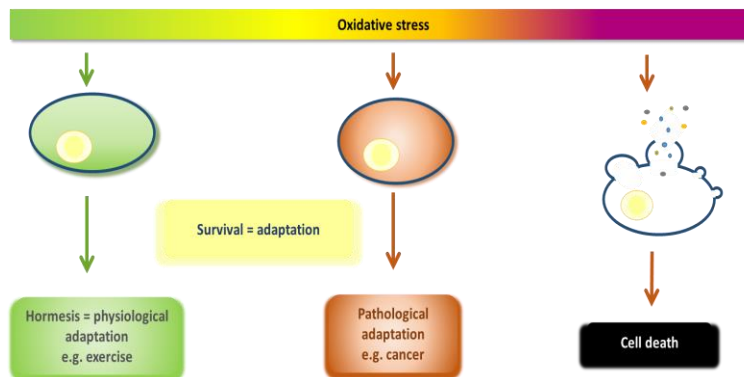
## Oksidacijski stres vs antioksidacijska zaštita u borbi protiv rezistencije tumora

dr. sc. Ana Čipak Gašparović

Institut Ruđer Bošković, Zagreb

acipak@irb.hr

Oksidacijski stres je jedan od uzroka nastanka tumora. Međutim, oksidacijski stres je i mehanizam kojim konvencionalna kemoterapija djeluje na stanice tumora. Evolucijski, stres potiče jačanje obrambenih mehanizama preživljavanja, što u slučaju oksidacijskog stresa znači jačanje antioksidacijske zaštite. Pitanje razvoja tumora je pitanje ravnoteže između oksidacijskog stresa i antioksidacijske zaštite. Također, mehanizmi koji vode razvoju tumora drugačiji su kod oštećenja DNA, proteina i lipida. Lipidi su često doživljavani kao inertna barijera između stanice i njenog okoliša, međutim njihova uloga u razvoju tumora te u razvoju rezistencije je prilično aktivna. Stoga će predavanje staviti naglasak na promjene na lipidima zbog oksidacijskog stresa, njihov utjecaj na antioksidacijsku zaštitu te povezati s razvojem rezistencije kod tumora.



## Koncept tekuće biopsije u molekulskom profiliranju kolorektalnoga tumora\*

prof. dr. sc. Karmela Barišić

Farmaceutsko - biokemijski fakultet, Sveučilište u Zagrebu

kbarisic@pharma.hr

Kolorektalni karcinom (CRC), prema globalnim podacima, četvrti je uzrok smrti od malignih bolesti i procijenjeno je da se u svijetu svake godine pojavljuje oko 1,4 milijuna novih slučajeva. Rana dijagnoza ove maligne bolesti ključni je čimbenik za uspješan odabir terapijskog pristupa i omogućavanja više stope preživljenja bolesnika. Etiologija CRC-a relativno je dobro poznata. Oko 70 % slučajeva opisuju se kao sporadični CRC. Ostali su CRC-i nasljednoga tipa. Tu spadaju nepolipozne neoplazme (oko 5 % CRC-a) i obiteljski polipozni CRC-i.

Genska nestabilnost važan je čimbenik u započinjanju molekulske kaskade koja vodi ka malignoj transformaciji i razvoju CRC-a. Obuhvaća kromosomsku (CIN) i mikrosatelitnu (MSI) te epigenetsku nestabilnost (CIMP). CIN podrazumijeva promjene u broju i strukturi kromosoma; obuhvaća aktivaciju proto-onkogena (*KRAS*) i inaktivaciju tumorskih supresorskih gena (*APC*, *TP53*). MSI mijenja duljinu gena insercijom ili delecijom kratkih ponavljajućih sljedova. MSI je rezultat neodgovarajućega sustava popravka (tzv. *mismatch repair*, MMR) gena, zbog nefunkcionalnosti oba alela MMR gena (*MSH2*, *MLH1*, *MLH6*, *PMS1* i *PMS2*) ili zbog hipermetilacije promotorskih područja MMR gena. Epigenetska nestabilnost, CIMP, povezana je s hipermetilacijom tumorskih supresorskih gena i gubitkom ekspresije odgovarajućih proteina. Najčešće mutacije, kromosomske promjene i translokacije pogađaju gene koji kodiraju proteine uključene u važne signalne putove WNT, MAPK/PI3K i TGF-beta te regulaciju staničnog ciklusa putem p53.

Utvrđivanjem molekulskih promjena na razini DNA, RNA i proteina, molekulskoga profila CRC-a, unaprjeđuje se dijagnoza, prognoza tijeka bolesti i odabir odgovarajuće terapije za svakoga pacijenta što je temelj personalizirane medicinske skrbi. U profiliranju CRC-a tekuća biopsija, neinvazivni ponovljiv medicinski postupak uzimanja periferne krvi koja je odgovarajući biološki izvor za dijagnostički probir, ali i utvrđivanje odgovora na terapiju te procjenu ishoda bolesti jest novi pristup. U cirkulaciji se mogu naći tumorske stanice (CTC), tumorska DNA (ctDNA) i vezikulne strukture, eksosomi, koje tumorske stanice otpuštaju u cirkulaciju. Oni sadrže i relevantne proteine i molekule RNA iz tumorskih stanica. Na taj se način neinvazivno, preko analize periferne krvi može ustanoviti molekulski profil bolesti, odrediti stupanj zahvaćenosti i procijeniti odgovor na terapiju. Time se ostvaruje jedna od bitnih ideja precizne medicine, istaknute prije gotovo desetak godina od strane osnivača i utemeljitelja novih principa i načina liječenja Leroya Hooda (2013) da „*krv postaje prozor kroz koji gledamo što se zbiva u organizmu*“.

\*Predstavljeni koncept dio je HRZZ projekta CRCMolProfil, broj IP-2019-04-4624; 2020-2024

## Primjena bioinformatike u otkrivanju genetske podloge raka

doc. dr. sc. Petar Ozretić

Institut Ruđer Bošković, Zagreb

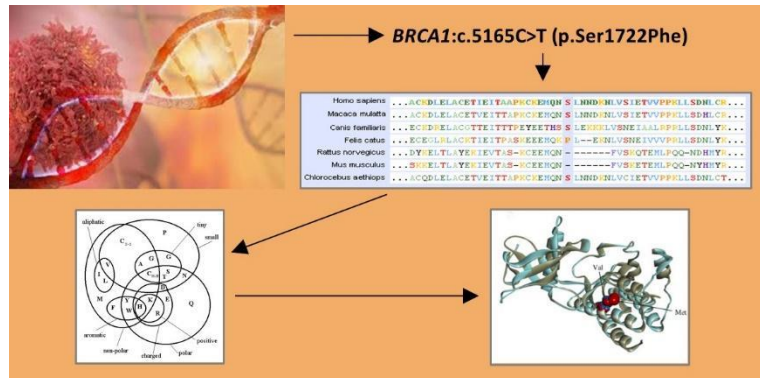
Laboratorij za nasljedni rak, Zavod za molekularnu medicinu

pozretic@irb.hr

Rak je multifaktorska bolest uzrokovana kombiniranim učincima genetskih i okolišnih čimbenika. Razvoj i sve šira dostupnost tehnika masovnog paralelnog sekvenciranja omogućila je određivanje nukleotidnog slijeda cjelokupnog eksoma ili genoma stanica raka, a ne više samo pojedinih gena ili mutacijskih "vrućih mjesta" unutar pojedinog gena. Najveći nedostatak primjene novih metoda u otkrivanju genetske podloge raka je činjenica da se primjenom takvih visoko protočnih metoda u analizi samo jednog eksoma ili genoma otkriva nekoliko stotina tisuća ili čak milijun genskih varijanti. Za veliku većinu pronađenih genskih varijanti ne može se *a priori* reći jesu li štetne (patogene), odnosno koji je njihov funkcionalni, a time potencijalno i klinički, značaj u nastanku raka. Takve varijante gena nazivaju se neklasificirane varijante (engl. *unclassified variants*, UV) ili varijante nepoznatog kliničkog značaja (engl. *variants of unknown significance*, VUS). Upravo primjena bioinformatike ima značajnu ulogu u otkrivanju funkcionalnog/kliničkog značaja takvih genskih varijanti, a time i genetske podloge raka.

U ovom predavanju bit će prikazano koje su sve informacije potrebne da bi se odredio funkcionalni/klinički značaj neke genske varijante. Kao paradigma primjene bioinformatike u istraživanju genetske podloge raka, poseban naglasak biti će na prikazu alata koji se koriste za procjenu utjecaja promjene u aminokiselinskom slijedu proteina na njegovu strukturu i funkciju (tzv. *missense* ili krivosmislene genske varijante). Također, s obzirom da je to predmet mojih vlastitih istraživanja, bit će prikazana primjena bioinformatičkih alata u otkrivanju funkcionalnog značaja genskih varijanti nađenih u 5' netranslatiranoj regiji (5'UTR) gena *BRCA2*, koji ima važnu ulogu u nastanku obiteljskog oblika raka dojke i jajnika. Genske varijante nađene u regulatornim regijama gena, kao što je 5'UTR, predstavljaju poseban izazov u bioinformatici jer one imaju važniji utjecaj na razinu genske ekspresije nego na aminokiselinski slijed proteinskog produkta za koji taj gena kodira.

Naposlijetku, glavna „take-home message“ ovog predavanja je da je za razumijevanje rezultata primjene bioinformatičkih alata ipak važnije dobro poznavanje biokemije i molekularne biologije nego same bio/informatike.



## **Nukleinske kiseline-biomakromolekularne mete u terapiji i dijagnostici karcinoma**

dr.sc. Marija Matković

Institut Ruđer Bošković, Zagreb

mmatkovic@irb.hr

Klasična antitumorska terapija primjenjuje kemoterapeutike usmjerene na DNA tumorskih stanica, te sustav mikrotubularne dinamike, kako bi se spriječila replikacija DNA i stanična dioba. Antineoplastični lijekovi ovog tipa i dalje su u kliničkoj praksi[1,2]. Proučavanjem metabolizma karcinoma prepoznate su različite druge biomakromolekularne mete pogodne za razvoj efikasnijih, selektivnijih i manje toksičnih antineoplastičnih lijekova u suvremenim terapijama[1,3]. Međutim, u liječenju uznapredovalih karcinoma i metastaza i dalje su neizbježni citotoksični lijekovi, što može rezultirati u kombiniranoj terapiji[4]. Nukleinske kiseline i nadalje su značajne antitumorske biomakromolekularne mete i predmet istraživanja[5,6]. Različito „bojanje“ nukleinskih kiselina vezanjem karakterističnih malih molekula otvara mogućnosti u dijagnostici i teragnostici tumora[7,8,9].



- [1] Ke, X., Shen, L., *Frontiers in Laboratory Medicine* 1 (69-75) 2017.
- [2] Malhotra, V., Perry, M.C., *Cancer Biol. Ther.* 2 (2-4) 2003.
- [3] Espinosa E., Zamora, P., Feliu, J., Barón, M.G., *Cancer Treat. Rev.* 29 (515-523) 2003.
- [4] Bailly, C., Thuru, X., Quesnel, B., *NAR Cancer* 2 (1-20) 2020.
- [5] Gurova, K., *Future Oncol* 5 (1685-704) 2009.
- [6] Miljanić, S., Ratkaj, M., Matković, M., Piantanida I., Gratteri, P., Bazzicalupi, C., *Anal Bioanal Chem* 409 (2285-2295) 2017.

[7] Lejoy, A., Arpita, R., Krishna, B., Venkatesh, N., Ethiop J Health Sci. 26 (201-208) 2016.

[8] Maity, D., Matković, M., Li, S., Ehlers, M., Wu, J., Piantanida, I., Schmuck, C., Chem. Eur. J. 23 (17356-17362) 2017.

[9] Šmidlehner, T., Koščak, M., Božinović, K., Majhen, D., Schmuck, C., Piantanida, I., Molecules 25 (1420-3049) 2020.

Slika: <https://clipart.me/> (pristup 5.12.2020)

# **USMENA IZLAGANJA**



## **Medicinsko-biokemijska dijagnostika u onkologiji**

Robert Kolman, mag. med. biochem.

Tea Sinožić, mag. med. biochem.

Klinika za tumore, KBC Sestre milosrdnice, Zagreb

Odjel za medicinsku biokemiju u onkologiji

kolman.robert@outlook.com, sinozictea@gmail.com

Medicinska biokemija je grana biomedicinskih znanosti koja proučava biokemijski sastav krvi, mokraće i ostalih tjelesnih tekućina u svrhu razumijevanja i prosudbe ljudskog zdravlja i bolesti prateći tijek biokemijskih, fizioloških i patoloških procesa u čovječjem organizmu [1]. Medicinsko-biokemijska dijagnostika u onkologiji koristi se u gotovo svim fazama praćenja onkoloških bolesnika. Laboratorijska dijagnostika u okviru multimodalnog pristupa liječenju malignih bolesti obuhvaća spektar hematoloških, biokemijskih i imunokemijskih pretraga s ciljem uvida u funkcionalnost pojedinih organskih sustava. Uloga medicinsko-biokemijskog laboratorija kao neizostavne komponente u pružanju cjelovite zdravstvene skrbi za onkološke bolesnike uključuje probir visokorizičnih skupina, pomoć u postavljanju dijagnoze i određivanju stadija tumora, utvrđivanju mogućnosti liječenja, praćenja učinkovitosti terapije te otkrivanja recidiva. Probir visokorizičnih skupina odvija se u okviru Nacionalnih preventivnih zdravstvenih programa. Između ostalih pretraga probira, nacionalni program uključuje i program ranog otkrivanja raka debelog crijeva namijenjen muškarcima i ženama u dobi 50 do 74 godina s uobičajenim rizikom za razvoj raka debelog crijeva testiranjem okultnog fekalnog krvarenja (FOBT) u uzorku stolice svake dvije godine [2]. Također, u ranom otkrivanju karcinoma prostate kod muškaraca starijih od 50 godina koristi se određivanje prostate-specifičnog antigena (PSA) uz digitorektalni pregled [3]. Medicinsko-biokemijske pretrage koriste se kao pomoć u postavljanju dijagnoze i određivanju stadija tumora prvenstveno kroz longitudinalno određivanje vrijednosti specifičnih tumorskih biljega. Hematološke, opće i specijalne biokemijske pretrage koriste se u predoperativnoj i postoperativnoj obradi pacijenata, a neki laboratorijski parametri koristan su alat tijekom operativnih zahvata u svrhu provjere potpunog odstranjivanja primjerice paratireoidnih žlijezda. Posebna skupina poremećaja i stanja koja zahtijevaju hitnu i preciznu kliničku intervenciju jesu i hitna stanja u onkologiji, od kojih se izdvajaju metabolički poremećaji uzrokovani malignom bolešću kod kojih medicinsko-biokemijski laboratorij ima važnu ulogu u diferencijalno dijagnostičkom pristupu istima. U praćenju uspješnosti terapije i povratka bolesti, najkorisniju kliničku primjenu imaju tumorski biljezi – heterogena skupina molekula koje sintetiziraju tumorske stanice ili zdrave tjelesne stanice kao reakciju na tumor, a izlučuju se u krv te se u njoj mogu dokazivati i određivati različitim laboratorijskim metodama [4]. Njihovu dijagnostičku vrijednost procjenjujemo temeljem njihove osjetljivosti i specifičnosti te pozitivne prediktivne vrijednosti, a sukladno tome kategoriziramo ih prema njihovoj primjeni i komparativnim prednostima. S ciljem unaprjeđenja dijagnostičkih mogućnosti u otkrivanju i prevenciji karcinoma, tekuća biopsija predstavlja inovaciju na području onkološke dijagnostike. Neinvazivna je metoda kojom se iz uzorka krvi izoliraju cirkulirajuće tumorske stanice, slobodna cirkulirajuća DNA (uz frakciju tumorske DNA), cirkulirajući egzozomi ili mikroRNA. Iako zahtjeva specifične metode izolacije i analize pojedinih elemenata od interesa, tekuća biopsija se može primijeniti u

predoperativnoj predikciji preživljenja pacijenata s karcinomom, za praćenje tijeka i progresije bolesti, kao i za praćenje odgovora na terapiju ili ranog povratka bolesti [5].



[1] Topić E, Primorac D, Janković S, Štefanović M. Medicinska biokemija i laboratorijska medicina u kliničkoj praksi. Medicinska naklada, Zagreb, 2018.

[2] Nacionalni program ranog otkrivanja raka debelog crijeva. Ministarstvo zdravstva i socijalne skrbi, Zagreb, 2007.

[3] Čvorišćec D, Čepelak I. Štrausova Medicinska biokemija. Medicinska naklada, Zagreb, 2009.

[4] Čvorišćec D. Tumorski biljezi u kliničkoj praksi. HKMB. Zagreb, 2012.

[5] Periša J, Bulić P, Špacir Prskalo Z, Gaće M, Mayer Lj. Mogućnosti tekuće biopsije u kliničkoj praksi. Libri oncologici: Croatian journal of oncology. 2017; 45 (1), 23-30.

## Učestalost aneuploidije u tumorskim i netumorskim stanicama te određivanje osnovnih pogrešaka pri segregaciji kromosoma

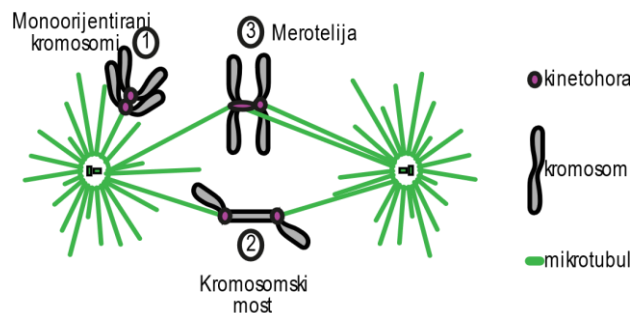
Snježana Kodba, mag. biol. mol.

Institut Ruđer Bošković, Zagreb

skodba@irb.hr

Pravilan razvoj svih živih organizama ovisi o ispravnosti stanične diobe. Pogrešna segregacija genetičkog materijala tijekom stanične diobe može imati teške do letalne posljedice za stanicu, ali i cijeli organizam. Kromosomsko stanje koje nastaje zbog pogrešne segregacije kromosoma naziva se aneuploidija. Mehanizam kojim nastaje aneuploidija te način na koji ju stanica propagira još uvijek nisu posve razjašnjeni. Različite stanične linije imaju različite stope pogrešaka pri segregaciji kromosoma. Tu se ističu tumorske stanice koje se često mogu

nesmetano dijeliti usprkos kromosomskoj nestabilnosti.<sup>1</sup> U ovom istraživanju analizirana je razlika učestalosti aneuploidije između ljudskih tumorskih stanica linije U2OS CENP-A-GFP mCherry- $\alpha$ -tubulin PA-tubulin i netumorskih stanica linije RPE1 CENP-A-GFP Centrin1-GFP. Korištenjem fluorescentno obilježenih proteina praćeno je kretanje kinetohora u vremenu te je analizirano trajanje stanične diobe. Detaljnije su opisane pojedinačne specifične pogreške. Stopa pogrešaka u tumorskim stanicama U2OS CENP-A-GFP mCherry- $\alpha$ -tubulin PA-tubulin veća je nego u netumorskim stanicama RPE1 CENP-A-GFP Centrin1-GFP. Najučestalije su pogreške koje uspješno izbjegavaju mitotsku kontrolnu točku u obje stanične linije, a to su merotelično vezane kinetohore i kromosomski mostovi. Novi rezultat proizlazi iz ovog istraživanja, a koji nije prethodno opisan u literaturi, je da u stanicama linije U2OS CENP-A-GFP mCherry- $\alpha$ -tubulin PA-tubulin monoorijentirani kromosomi također uzrokuju aneuploidiju. Njihova interkinetohorna udaljenost je varijabilna te se naglo povećava neposredno prije početka anafaze zbog utišavanja mitotske kontrolne točke. Merotelično vezane kinetohore počinju se brzo gibati tek nekoliko minuta nakon početka anafaze.



[1] Knouse, A. K., Lopez, K. E., Bachofner, M., Amon, A. Cell. 175 (200-211) 2018.

## Usporedba incidencije melanoma u dva hrvatska grada

Sara Hrg<sup>1,2</sup>, Morana Belović<sup>1,3</sup>, Iva Benić<sup>1,4</sup>, Sven Seiwerth<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup> Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Šalata 3, 10 000 Zagreb

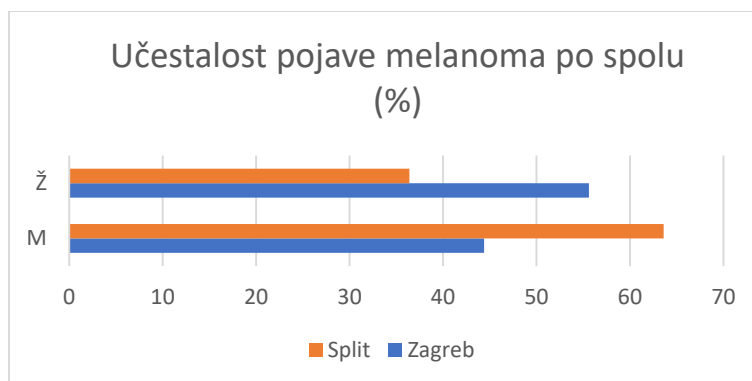
<sup>2</sup> sara.hrg@student.mef.hr, <sup>3</sup> mbelovic@student.mef.hr, <sup>4</sup> iva8benic@gmail.com,  
<sup>5</sup> sven.seiwerth@mef.hr

Pojavnost melanoma je u porastu zadnjih godina. Smatra se da tome pridonosi periodična izloženost sunčevim UV zrakama. Rezultati prikazani u ovoj analizi dio su većeg rada koji je još u izradi. Tema samog rada je usporedba pigmentiranih promjena kože u dva hrvatska grada, Zagrebu i Splitu, s distinkcijom između benignih (različite vrste nevusa) i malignih promjena (melanomi). Prikupljeni su jednogodišnji podaci o patohistološkom tipu pigmentiranih lezija dobivenih biopsijom (ukupno 5516 lezija) te je analizirana njihova pojavnost po različitim parametrima – spol, dob u dekadama, lokalizacija na tijelu te sama dijagnoza.

U ovu smo analizu uključili samo maligne pigmentirane promjene kože, odnosno melanome. Uzorci su analizirani prema prethodno navedenim parametrima te također po TNM klasifikaciji tumora, stupnjevima po Clarku i stupnjevima po Breslowu, specifičnima za melanome.

Rezultati analize su pokazali povećan udio melanoma u Splitu (176) u odnosu na Zagreb (54). Također je vidljivo iz naših rezultata koje ćemo prikazati da se ženama melanomi dijagnosticiraju ranije (statistički značajna razlika,  $p = 0,002$ ) i u nižim stadijima bolesti.

Zaključno, ovo nam istraživanje daje vrijedne rezultate koji ukazuju na moguću važnost okolišnih čimbenika u procesu kancerogeneze pigmentiranih lezija kože.



## Sinteza novih 5-amidino-benzimidazola s potencijalnom biološkom aktivnošću

Rebeka Štulić, Valentina Rep, Silvana Raić-Malić

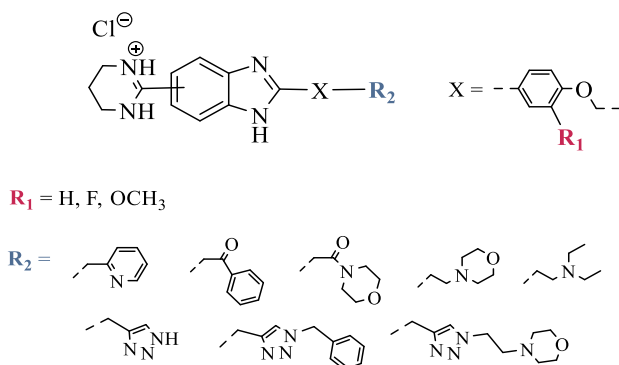
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Marulićev trg 19, Zagreb, Hrvatska

rebeka.stulic@gmail.com

Benzimidazoli su istaknuti kao heterociklički gradivni blokovi u brojnim biološki aktivnim spojevima odgovornim za niz farmakoloških aktivnosti. [1] Znanstveni interes za novim derivatima ove jezgre kao predmetima istraživanja ne jenjava budući da uvođenje funkcionalnih skupina može značajno doprinijeti interakcijama molekule i njene biološke mete u živim sustavima. [2] Supstitucija benzimidazola na položajima C-2 i C-5 pokazala se važnom sintetskom strategijom u procesu otkrića novih antitumorskih i antimikrobnih agensa. [3-4]

S ciljem procjene biološke aktivnosti, novi derivati 5-amidino-benzimidazola s različitim alifatskim i arilnim jedinicama pripremljeni su višestupnjevitom sintezom korištenjem klasičnih metoda i mikrovalovima potpomognutom sintezom. Regioselektivnom Cu(I)-kataliziranom *click* reakcijom dobiveni su 1,2,3-triazolilnih benzimidazolni produkti. Strukturna i spektroskopska karakterizacija novopripređenih spojeva provedena je <sup>1</sup>H i <sup>13</sup>C NMR spektroskopijom. *In silico* pristupom predviđena su ADME i farmakokinetička svojstva te istraživanje parametara sličnosti s lijekovima.



Ovaj rad financirala je Hrvatska zaklada za znanost projektom IP-2018-01-4682 pod nazivom „Novi spojevi temeljeni na bioizosterima purina za ispitivanje njihovih antitumorskih i antipatogenih djelovanja“.

- [1] Diverse pharmacological aspects of benzimidazole derivatives, S. Enumula, A. Pangal, M. Gazge, J. A. Shaikh, K. Ahmed, Res. J. Chem. Sci. 4(4) 2014.
- [2] Novel research strategies of benzimidazole derivatives, K. P. Barot, S. Nikolova, I. Ivanov, M. D. Ghate, Mini-Rev. Med. Chem. 13(10) 2013.
- [3] Novel amidino substituted benzimidazole and benzothiazole benzo[b]thieno-2-carboxamides exert strong antiproliferative and DNA binding properties, M. Cindrić, I. Sović, I. Martin-Kleiner, M. Kralj, T. Mašek, M. Hranjec, K. Starčević, Med. Chem. Res. (26) 2017.
- [4] Synthesis, anti-bacterial and anti-protozoal activities of amidinobenzimidazole derivatives and their interactions with DNA and RNA, A. Bistrovčić, L. Krstulović, I. Stolić, D. Drenjančević, J. Talapko, M. C. Taylor, J. M. Kelly, M. Bajić, S. Raić-Malić, J. Enzyme Inhib. Med. Chem. (33) 2018.

## **Povezanost fosforilacijskog statusa beta-ksenina sa strukturnim promjenama gena *APC* u glioblastomu čovjeka**

Emilija Brglez<sup>1</sup>, Petar Brlek<sup>1,2</sup>, Anja Bukovac<sup>1,2</sup>, Anja Kafka<sup>1,2</sup>, Nives Pećina-Šlaus<sup>1,2</sup>

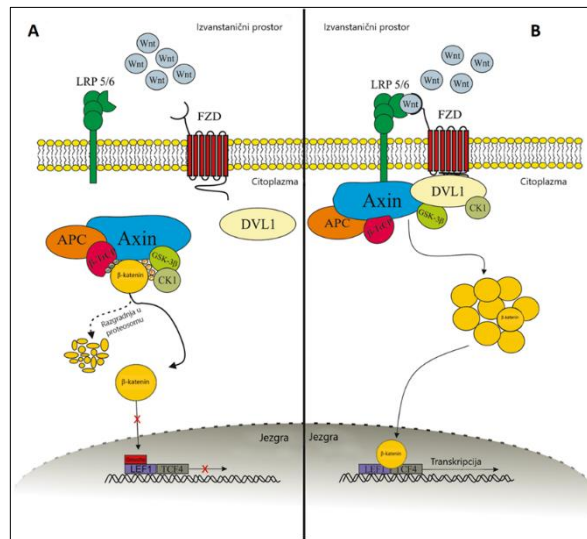
<sup>1</sup>Laboratorij za neuroonkologiju, Hrvatski institut za istraživanje mozga, Šalata 12

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Šalata 3, 10000 Zagreb<sup>2</sup>

Zavod za biologiju,

brglez.e@gmail.com

Glioblastomi (gradus IV) čine 45.6% svih malignih primarnih tumora mozga te se smatraju najčešćim i najsmrtonosnijim tumorima središnjeg živčanog sustava [1]. Među brojnim poznatim signalnim putevima koji sudjeluju u nastanku i razvoju glioblastoma nalazi se i signalni put Wnt [2]. Ovaj evolucijski očuvan signalni put važan je za održavanje homeostaze i odvijanje raznih bioloških procesa, a njegova neispravna regulacija povezuje se s brojim bolestima, uključujući tumore [3]. Proteini β-ksenin i APC (engl. *Adenomatous polyposis coli*) dio su Wnt signalizacije. Nefosforilirani β-ksenin dovodi do transkripcije ciljnih gena puta Wnt, dok APC čini dio funkcionalnog destruktivnog kompleksa odgovornog za fosforilaciju i posljedičnu razgradnju β-ksenina [4]. Glavni cilj ovog rada bio je povezati fosforilacijski status β-ksenina sa strukturnim promjenama gena *APC* u glioblastomima ljudi. Za određivanje razine ekspresije i lokalizacije ukupnog i nefosforiliranog (aktivnog) β-ksenina napravljena je imunohistokemija na ukupno 30 uzoraka tkiva glioblastoma. Zabilježena je pojačana ekspresija ukupnog i nefosforiliranog β-ksenina što upućuje na aktivaciju signalnog puta Wnt u glioblastomima. Rezultati proteinske ekspresije dobiveni pomoću H-zbroja (engl. *H-score*) uspoređeni su Spearmanovim testom koji je pokazao statistički značajnu pozitivnu korelaciju između vrijednosti ukupnog i nefosforiliranog β-ksenina ( $p < 0.001$ ). Genskom analizom uočene su promjene u eksonu 11 gena *APC* u 44% informativnih uzoraka koji uključuju mutacije u 11% te gubitak heterozigotnosti (LOH) u 33% uzoraka. Studentov t-test pokazao je statistički značajnu razliku u ekspresiji ukupnog β-ksenina između uzoraka s genskim promjenama i uzoraka bez pronađenih genskih promjena ( $p = 0.038$ ). Uzorci s genskim promjenama pokazali su jaču ekspresiju ukupnog, ali i nefosforiliranog β-ksenina. Ovi rezultati upućuju na važnu ulogu molekularnih promjena gena *APC* u akumulaciji β-ksenina i posljedičnoj aktivaciji signalnog puta Wnt te otkrivaju potencijalne markere za istraživanja ciljane terapije za ove biološki agresivne grupe tumora.



[1] Yao, M., Li, S., Wu, X., Diao, S., Zhang, G., He, H., Bian, L., Lu, Y. (2018). Cellular origin of glioblastoma and its implication in precision therapy. *Cellular & molecular immunology*, 15(8), 737-739.

[2] Kafka, A., Bačić, M., Tomas, D., Žarković, K., Bukovac, A., Njirić, N., Mrak, G., Krsnik, Ž., & Pećina-Šlaus, N. (2019). Different behaviour of DVL1, DVL2, DVL3 in astrocytoma malignancy grades and their association to TCF1 and LEF1 upregulation. *Journal of cellular and molecular medicine*, 23(1), 641–655.

[3] Kahn, M. (2014). Can we safely target the WNT pathway? *Nature Reviews Drug Discovery*, 13(7), 513–532.

[4] Tompa, M., Kalovits, F., Nagy, A., Kalman, B. (2018). Contribution of the Wnt pathway to defining biology of glioblastoma. *Neuromolecular medicine*, 20(4), 437-451.



## **Bioinformatička analiza difuznih glioma mozga upotrebom cBioPortal baze za tumorsku genomiku**

Petar Brlek<sup>1,2</sup>, Sara Aničić<sup>2</sup>, Emilija Brglez<sup>1</sup>, Anja Bukovac<sup>1,2</sup>, Anja Kafka<sup>1,2</sup>, Nives Pećina-Šlaus<sup>1,2</sup>

Hrvatski institut za istraživanje mozga, Šalata 12<sup>1</sup>

Laboratorij za neuroonkologiju

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Šalata 3, 10000 Zagreb<sup>2</sup>

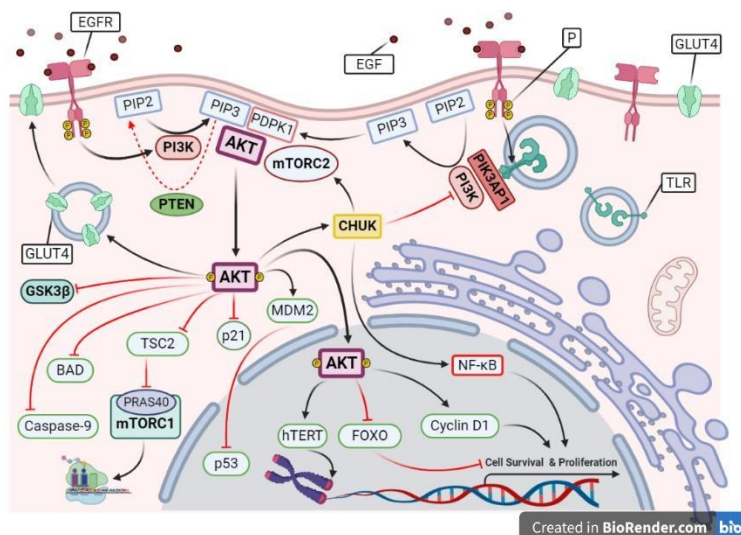
Zavod za biologiju

pbrlek@gmail.com

Tehnologija 21. stoljeća omogućila je razvoj tzv. *large scale* podatkovnih analiza za interaktivno istraživanje, višedimenzionalnu obradu i statističku te programsku analizu velike količine podataka. Javno dostupna baza cBioPortal sintetizirala je preko 400 TB podataka o tumorskim promjenama od genske do proteinske razine [1]. U ovom istraživanju korištenjem cBioPortal softvera [2] stvorena je virtualna studija kombinacijom podataka dvije velike prethodne studije: Brain Lower Grade Glioma (TCGA Firehose Legacy) i Glioblastoma Multiforme (TCGA Firehose Legacy). Ukupni uzorak od 751 difuznog glioma mozga otkrio je razlike u aktivnosti proteinske kinaze B  $\beta$  (AKT2) kao središnjeg regulatora signalnog puta PI3K-AKT-mTOR unutar različitih gradusa i patohistoloških tipova glioma.

Analiza CNA (promjena u broju kopija) gena *AKT2* pokazala je da su amplifikacije najčešće promjene. Amplifikacije su nađene u 182 (33%) uzorka glioblastoma (gradus IV). Mann-Whitney test je pokazao da su amplifikacijske promjene značajno više u glioblastomima u odnosu na niže graduse difuznih glioma ( $p < 0.001$ ). Sekvencioniranje sljedeće generacije (engl. next generation sequencing – NGS) otkrilo je pojačanu transkripciju gena *AKT2* u glioblastomima u odnosu na difuzne astrocitome (gradus II) ( $p = 0.030$ ) te u odnosu na anaplastične astrocitome (gradusa III) ( $p = 0.018$ ). Rezultati Mann-Whitney testa pokazuju da je metilacija gena *AKT2* značajno niža u glioblastomima u odnosu na gliome gradusa III ( $p = 0.047$ ) i gradusa II ( $p = 0.018$ ). Spearmanovim testom utvrđena je statistički značajna negativna korelacija između metilacije i mRNA ekspresije gena *AKT2* u anaplastičnim astrocitomima ( $p < 0.001$ ), dok je pozitivna korelacija između CNA promjena i mRNA ekspresije pokazala značajnost u anaplastičnim astrocitomima i glioblastomima ( $p < 0.001$  oboje). Statistički značajnu pozitivnu korelaciju pokazala je i analiza mRNA i proteinske ekspresije u anaplastičnim astrocitomima ( $p = 0.003$ ) te glioblastomima ( $p = 0.031$ ).

Ovakvi rezultati sugeriraju onkogenu ulogu *AKT2* sa pojačanom aktivacijom AKT-mTOR signalne kaskade u grupi difuznih glioma mozga (gradusa IV). Ovo istraživanje pokazuje značajne korelacije između genske, transkripcijske, epigenetičke i proteinske razine gena *AKT2* te složenu dinamiku u progresiji ove biološki agresivne grupe tumora.



[1] Gao, J., Aksoy, B. A., Dogrusoz, U., Dresdner, G., Gross, B., Sumer, S. O., Sun, Y., Jacobsen, A., Sinha, R., Larsson, E., Cerami, E., Sander, C., i Schultz, N. (2013). Integrative analysis of complex cancer genomics and clinical profiles using the cBioPortal. *Science signaling*, 6(269)

[2] <https://www.cbioportal.org/> (pristup 30.4.2020.)

