

# Uloga proteina aksina i beta-ksenina u Wnt signalnom putu zdravih stanica i stanica meningeoma

---

**Grubišić, Ana**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2017**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnoški fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:737236>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Biotehnologija**

**Ana Grubišić**

6966/BT

**ULOGA PROTEINA AKSINA I  $\beta$ -KATENINA U WNT  
SIGNALNOM PUTU ZDRAVIH STANICA I STANICA  
MENINGEOMA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Biologija 2

**Mentor:** Izv. prof. dr. sc. Reno Hrašćan

**Zagreb, 2017.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski sveučilišni studij Biotehnologija

Zavod za biokemijsko inženjerstvo  
Laboratorij za biologiju i genetiku mikroorganizama

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Biotehnologija

**Uloga proteina aksina i  $\beta$ -katenina u Wnt signalnom putu zdravih stanica i stanica meningeoma**

*Ana Grubišić, 0058205518*

**Sažetak:** U ovom radu su prikazane uloge proteina aksina i  $\beta$ -katenina kao ključnih komponenti Wnt signalnog puta u zdravim stanicama i u meningeomima. Osim što ima ulogu kao glavna signalna molekula Wnt puta,  $\beta$ -katenin je također dio međustaničnih spojeva zajedno s E-kaderinom. Do nastanka i progresije meningeoma dolazi zbog narušavanja međustaničnih spojeva, tako da će smanjen broj molekula stanične adhezije dovesti do povećane proliferacije tumorskih stanica i može doprinijeti invazivnoj sposobnosti meningeoma. Aksin djeluje kao tumor supresor u karcinomu, ali njegova uloga u meningeomima još nije dovoljno razjašnjena. Ipak, gubitak heterozigotnosti AXIN1 gena u meningeomima može upućivati na njegovu ulogu kao tumor supresora te na posljedično smanjenje razine proteina aksina.

**Ključne riječi:** aksin,  $\beta$ -katenin, meningeom, Wnt signalni put

**Rad sadrži:** 29 stranica, 3 slike, 3 tablice, 52 literaturna navoda, 1 prilog

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** Izv. prof. dr. sc. Reno Hrašćan

**Datum obrane:** 18. rujna 2017.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**University undergraduate study Biotechnology**

**Department of Biochemical Engineering**  
**Laboratory for Biology and Microbial Genetics**

**Scientific area: Biotechnical Sciences**  
**Scientific field: Biotechnology**

**The role of Axin and  $\beta$ -catenin in Wnt signaling pathway in healthy and meningioma cells**

***Ana Grubišić, 0058205518***

**Abstract:** This paper studies the roles of  $\beta$ -catenin and Axin as key components of Wnt signaling pathway in healthy and meningioma cells. In addition to having a role as a key signaling molecule of Wnt signaling pathway,  $\beta$ -catenin is also a part of the adherens junctions together with E-cadherin. The occurrence and progression of meningiomas are due to disrupted adherens junctions and the decrease in cell adhesion molecules may lead to increased tumor cell proliferation and it may contribute to invasive ability of meningioma. Axin acts as a tumor suppressor in cancer, but its role in meningiomas remains unresolved. However, the loss of heterozygosity of AXIN1 gene in meningiomas may indicate its role as a tumor suppressor and suggest consequent down-regulation of its protein.

**Keywords:** Axin,  $\beta$ -catenin, meningioma, Wnt signaling pathway

**Thesis contains:** 29 pages, 3 figures, 3 tables, 52 references, 1 supplement

**Original in:** Croatian

**Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb**

**Mentor:** Dr. sc. Reno Hrašćan, Assoc. Prof.

**Defence date:** September 18<sup>th</sup> 2017

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. TEORIJSKI DIO</b> .....	<b>2</b>
2.1. OPĆENITO O TUMORIMA .....	2
2.1.1. Definicija tumora .....	2
2.1.2. Nastanak tumorske stanice.....	2
2.1.3. Karcinogeneza.....	3
2.2. TUMORI SREDIŠNJEG ŽIVČANOG SUSTAVA.....	3
2.3. MENINGEOMI.....	5
2.3.1. Podjela meningeoma .....	6
2.3.2. Simptomi i liječenje .....	6
2.3.3. Patogeneza meningeoma .....	7
2.4. WNT SIGNALNI PUT .....	8
2.4.1. Nekanonski oblik ( $\beta$ -katenin neovisan) .....	9
2.4.2. Kanonski oblik ( $\beta$ -katenin ovisan).....	9
2.4.3. Wnt neaktivno stanje .....	10
2.4.4. Wnt aktivno stanje .....	10
2.4.5. Poveznica Wnt signalnog puta s karcinomom .....	12
2.5. WNT SIGNALNI PUT U MENINGEOMIMA .....	16
2.5.1. $\beta$ -katenin .....	16
2.5.2. Uloga $\beta$ -katenina u meningeomima .....	17
2.5.3. Aksin .....	20
2.5.4. Uloga aksina u meningeomima .....	22
<b>3. ZAKLJUČAK</b> .....	<b>25</b>
<b>4. POPIS LITERATURE</b> .....	<b>26</b>
<b>5. PRILOZI</b>	
5.1. POPIS KRATICA	

# 1. UVOD

Meningeomi su primarni tumori središnjeg živčanog sustava koji nastaju od arahnoidalnih stanica moždanih ovojnica. Čine oko 30% svih primarnih intrakranijalnih tumora. Češće se javljaju kod žena nego kod muškaraca (omjer 2:1). Mogu se pojaviti i kod djece, ali se najčešće pojavljuju kod odraslih u srednjoj i starijoj dobi (Pećina-Šlaus i sur., 2016a). Meningeomi su najčešće benigni, ali imaju i veliku stopu ponavljanja čak i kada se uspješno uklone. Dva su poznata rizična faktora za nastanak meningeoma – izloženost zračenju te genetički poremećaj neurofibromatoza tip 2. Mutacije u NF2 genu i gubitak kromosoma 22q su najčešće genetičke promjene povezane s nastankom meningeoma.

Osim genetskih i kromosomskih promjena koje dovode do nastanka meningeoma, Wnt signalni put također je uključen u nastanak i progresiju meningeoma. Wnt signalni put regulira procese stanične proliferacije, polarnosti, migracije i diferencijacije stanica tijekom embriogeneze, a ima i važnu ulogu u razvoju središnjeg živčanog sustava. Aberantna aktivacija Wnt signalnog puta dovodi do razvoja različitih tumora među kojima su i meningeomi.

U ovom radu naglasak je stavljen na dva proteina koji sudjeluju u Wnt signalnom putu meningeoma – aksinu i  $\beta$ -kateninu.  $\beta$ -katenin je ključna komponenta kanonskog Wnt signalnog puta koja ima ulogu transkripcijskog faktora. S druge strane, aksin je negativni regulator Wnt signalnog puta koji djeluje kao tumor supresor. Ove dvije komponente Wnt signalnog puta važne su za njegovo normalno funkcioniranje, a njihove promjene dovode do nastanka i progresije meningeoma.

## **2. TEORIJSKI DIO**

### **2.1. OPĆENITO O TUMORIMA**

#### **2.1.1. Definicija tumora**

Tumor je nakupina tkiva nastala prekomjernim umnažanjem abnormalnih stanica. Nastanak tumora je postupni i dugotrajni proces koji može trajati mjesecima pa čak i godinama (Cooper, 2000). Karakteristika tumora je njegova heterogenost, odnosno tumor sadrži različite populacije stanica s nejednakim osobinama. Fenotipska i funkcionalna heterogenost nastaje među stanicama unutar istog tumora kao posljedica genske promjene, utjecaja mikrookoliša i makrookoliša te reverzibilnih promjena staničnih svojstava (Meacham i Morrison, 2013).

#### **2.1.2. Nastanak tumorske stanice**

Tumor može nastati iz jedne ili nekoliko stanica u kojima dolazi do nagomilavanja mutacija u genima koji kontroliraju procese poput stanične proliferacije i stanične smrti. Mutacije odgovorne za nastanak tumora se javljaju u tri skupine gena:

- onkogeni
- tumor supresorski geni
- geni za provjeru i popravak DNA

Onkogeni su aktivirani (često mutirani) aleli normalno funkcionalnih gena divljeg tipa (protoonkogeni) koji sudjeluju u staničnom rastu, proliferaciji i diferencijaciji. Promjena protoonkogeni u onkogen mijenja njegovu fiziološku funkciju i može dovesti do nekontroliranog ili neoplastičnog rasta (Pećina-Šlaus, 1998). Dok su protoonkogeni normalni stanični geni koji djeluju pozitivno u promicanju fiziološkog rasta stanica i diferencijacije, tumor supresorski geni djeluju kao stanični kočni mehanizam koji regulira rast stanica na negativan način. Budući da promjene funkcije tumor supresorskog proteina doprinose razvoju raka, njihova je glavna uloga vjerojatno kontrola stanične proliferacije i diferencijacije. Tumor supresorski geni moraju biti inaktivirani ili izgubljeni da bi došlo do neoplastične preobrazbe stanice, odnosno gubitak funkcije ovih gena rezultira nastankom tumora (Rivenbark, 2017).

### **2.1.3. Karcinogeneza**

Karcinogeneza je proces koji se odvija u više koraka (inicijacija, promocija, progresija), a ti koraci odražavaju genetske promjene koje pokreću postupnu promjenu normalne ljudske stanice u malignu. Pri tome normalne stanice izbjegavaju normalne regulatorne i inhibitorne signale rasta i uđu u stanje nekontroliranog staničnog rasta i proliferacije što dovodi do maligne transformacije (Patriotis i sur., 2017). Do promjena u genima povezanih s tumorom može doći uslijed dugotrajne izloženosti kancerogenim čimbenicima (mehaničkim, kemijskim, fizikalnim) ili te promjene mogu biti posljedica spontanijh mutacija. Spontane mutacije DNA se mogu pojaviti izravno kao posljedica grešaka u replikaciji ili neizravno kao posljedica kemijskog oštećenja DNA koje dovodi do grešaka u pravilnom očitavanju oštećene DNA pomoću DNA polimeraze tijekom procesa replikacije (Bertram, 2001).

## **2.2. TUMORI SREDIŠNJEG ŽIVČANOG SUSTAVA**

Pojam tumor na mozgu odnosi se na karcinom koji nastaje u različitim parenhimskim slojevima i tkivima različitog staničnog podrijetla unutar središnjeg živčanog sustava. Uzroci tumora mozga još do danas nisu potpuno utvrđeni. Jedini utvrđeni čimbenik rizika za razvoj tumora središnjeg živčanog sustava (CNS, od eng. *Central Nervous System*) je izloženost prekomjernom ionizirajućem zračenju. Utjecaj neionizirajućeg zračenja poput onoga od mobitela, kao i utjecaj pušenja na tumor također su opsežno ispitivani, ali nije uspostavljena pouzdana uzročna veza (Coluccia i sur., 2017). Primarni tumori središnjeg živčanog sustava, tj. primarni intrakranijalni i intraspinalni tumori čine do 10% svih primarnih zloćudnih tumora u čovjeka (Markulin-Grgić i Šantek, 2001). Najbrojniji primarni intrakranijalni tumori su meningeomi, a zatim slijede gliomi, glioblastomi i drugi astrocitomi (ABTA, 2014).

Osnovna podjela tumora središnjeg živčanog sustava je na primarne i sekundarne. Primarni tumori nastaju iz različitih dijelova moždanog tkiva, a sekundarni tumori su metastaze kod kojih maligne stanice krvotokom ulaze u mozak ili lubanjsku šupljinu. Primarni tumori mogu biti zloćudni (maligni) i dobroćudni (benigni). Benigni tumori nisu agresivni i obično se ne šire u okolna tkiva, dok maligni tumori imaju mogućnost širenja na okolna zdrava tkiva i stvaranja metastaza (AANS, 2017).

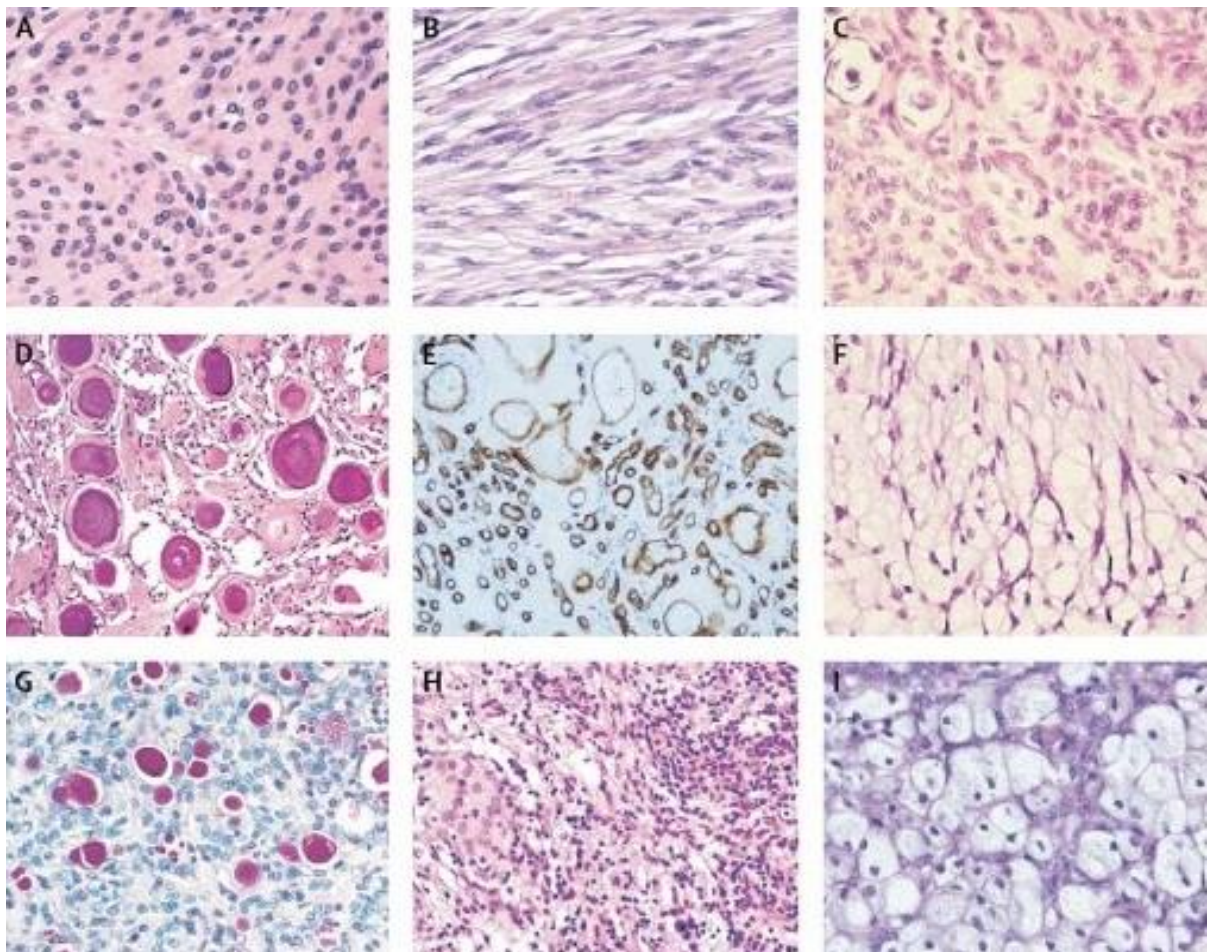


Svjetska zdravstvena organizacija (WHO, od eng. *World Health Organization*) grupira tumore prema njihovoj agresivnosti u stupnjeve ili graduse od I do IV. Gradus I predstavlja benigne tumore koji sporo rastu i najmanje su agresivni. Stanice tumora su nalik stanicama normalnog tkiva, a mogućnost izlječenja od ove vrste tumora postoji nakon kirurškog uklanjanja. Gradus II tumori relativno sporo rastu, stanice su slične stanicama normalnog tkiva, ali se brže umnožavaju. Ovi tumori se mogu proširiti na okolno zdravo tkivo i postati tumori "višeg stupnja". Gradus III i IV su maligni tumori koji brzo rastu i invazivni su. Kod njih je potrebno dodatno liječenje kemoterapijom i zračenjem (Louis i sur., 2007).

Primarni tumori CNS-a se prema WHO klasifikaciji iz 2007. godine dijele u 7 skupina, ovisno o pretpostavljenom histogenetskom podrijetlu: 1. tumori neuroepitelijalnog tipa; 2. tumori kranijalnih i paraspinalnih živaca; 3. tumori moždanih ovojnica; 4. limfomi i hematopoetske neoplazme; 5. tumori zametnih stanica; 6. tumori selarnog područja; 7. metastatski tumori (Coluccia D., 2017).

### 2.3. MENINGEOMI

Meningeom je tumor koji je građen od stanica moždanih ovojnica (meningotelijske, tj. arahnoidalne stanice). Moždane ovojnice (meninge) leže odmah ispod unutrašnje strane lubanje te imaju ulogu da štite mozak i leđnu moždinu. Sastoje se od tri sloja membranskog vezivnog tkiva: *dura mater*, *arachnoidea mater* i *pia mater* (Krmpotić-Nemanić i Marušić, 2007). Meningeom raste iz arahnoidalnih stanica koje imaju tanke membrane koje izgledaju poput paučine (paučinasta ovojnica) (AANS, 2017). Meningeomi najčešće rastu prema unutra stvarajući pritisak na mozak ili leđnu moždinu, ali mogu rasti i van prema lubanji uzrokujući zadebljanje lubanje (hiperostoza) (ABTA, 2014). Većina meningeoma su benigni, sporo rastući tumori (oko 90%) (Slika 1.).



**Slika 1.** Histologija različitih tipova benignih meningeoma (WHO gradus I)

Tipovi WHO gradusa I: meningotelijski (A), fibrozni (B), tranzicijski (C), psamomski (D), angiomatozni (E), mikrocistični (F), sekretorni (G), meningeom bogat limfoplazmocitima (H) i metaplastični (I) (Riemenschneider i sur., 2006).

### 2.3.1. Podjela meningeoma

Prema podjeli Svjetske zdravstvene organizacije razlikujemo 15 vrsta meningeoma koji se dijele na 3 gradusa (Tablica 1.). Gradus I su benigni meningeomi koji sporo rastu i obično se ne vraćaju nakon tretmana ako je sav tumor uklonjen. Gradus II su atipični meningeomi koji rastu brže od gradusa I te kod njih postoji veći rizik od vraćanja nakon tretmana (recidiv). Gradus III čine maligni meningeomi koji su najagresivniji i nazivaju se anaplastičnim. Iako su jako rijetki (1-3 %), maligni meningeomi mogu biti jako agresivni i teški za liječenje (ABTA, 2014).

**Tablica 1.** Podjela meningeoma prema WHO (Riemenschneider i sur., 2006)

<b>WHO gradus I</b>	<b>WHO gradus II</b>	<b>WHO gradus III</b>
meningotelijski	hordoidni	papilarni
fibrozni	svijetlostanični	rabdoidni
tranzicijski (mješoviti)	atipični	anaplastični
psamomski		
angiomatozni		
mikrocistični		
sekretorni		
meningeom bogat limfoplazmocitima		
metaplastični		

### 2.3.2. Simptomi i liječenje

Tumor se često otkrije slučajno prilikom dijagnostičkog pregleda provedenog iz nekog drugog razloga. Simptomi koje uzrokuju meningeomi se obično pojavljuju postupno i razlikuju se ovisno o položaju i veličini tumora. Često se prvo pojave glavobolje i epileptični napadaji uzrokovani povećanim pritiskom rastućeg tumora. Slabost u rukama i nogama ili gubitak osjeta su najčešći simptomi meningeoma leđne moždine. Budući da su to uglavnom sporo rastući tumori, ne trebaju se svi meningeomi odmah liječiti. Opcije liječenja usmjerene su na uklanjanje tumora i ublažavanje pritiska na mozak. Operacija je prvi izbor liječenja za

meningeome smještene u dostupnom području mozga ili leđne moždine. Cilj operacije je ukloniti što je moguće više tumora te dobivanje tumorskog tkiva za dijagnozu. Ako se tumor ne može ukloniti, može se provesti biopsija za dobivanje uzorka tumorskog tkiva. U slučajevima kad se tumor ne može potpuno ukloniti, djelomično uklanjanje može pomoći u ublažavanju simptoma. Ako postoji povećan rizik kod uklanjanja tumora, onda se tumor ne uklanja, već se promatra njegov rast tijekom vremena pomoću MRI skeniranja i redovitim pregledima. Terapija zračenjem se može koristiti za neoperabilne tumore, tumore koji nisu potpuno uklonjeni operacijom, atipične i maligne tumore ili recidivirajuće tumore. Kemoterapija se rijetko koristi za tretiranje meningeoma, osim u slučaju atipičnih ili malignih podtipova koji se ne mogu adekvatno liječiti kirurškim zahvatom i/ili zračenjem (ABTA, 2014).

### **2.3.3. Patogeneza meningeoma**

Tumorigeneza i progresija tumora kod meningeoma povezani su s mutacijama ili promjenama tumor supresorskih gena te gubitkom heterozigotnosti (LOH) različitih kromosoma. Uobičajene genetske promjene su monosomija kromosoma 22, primijećena u oko 70% meningeoma te mutacije tumor supresorskog gena NF2 (neurofibromatoze tipa 2) koje su povezane s preko 60% sporadičnih meningeoma (Abbritti i sur., 2016; Domingues i sur., 2015). Budući da je učestalost mutacije NF2 gena (na kromosomu 22q12) otprilike jednaka u različitim WHO razredima, smatra se bitnom genetskom promjenom u inicijaciji tumora, a ne u malignoj progresiji (Pèrez-Magán i sur., 2012; Domingues i sur., 2015). Učestalost NF2 mutacija varira s histološkim podtipom meningeoma. Tako se monosomija kromosoma 22q češće javlja kod tranzicijskih i fibroznih meningeoma u odnosu na meningotelijske (Brunner i sur., 2006; Domingues i sur., 2015). Pored gubitka kromosoma 22q, u atipičnim i anaplastičnim meningeomima često se javljaju dodatne genetske promjene, kao što su gubici kromosoma 1p, 6q, 9p, 10, 14q i 18q i dobici kromosoma 1q, 9q, 12q, 15q, 17q i 20q. Konkretno, gubici 1p, 6q i 14q predloženi su kao važni događaji u progresiji i recidivu meningeoma. Na razini stanične signalizacije, pokazalo se da su Wnt put (putem promjena E-kaderina i  $\alpha$ -katenina) i promjene Hedgehog signalnog puta uključeni u napredovanje meningeoma (Pèrez-Magán i sur., 2012).

Postoje dva utvrđena rizična čimbenika za razvoj meningeoma. Jedan od rizičnih faktora je delecija koja utječe na gen neurofibromatoze tipa 2. Neurofibromatoza tipa 2 je karakterizirana pojavom ponekad i multiplih švanoma, glioma te meningeoma kod pogođenih bolesnika. Protein Merlin (također poznat kao schwannomin) je produkt gena NF2. Merlin je član 4.1

obitelji proteina koji povezuju integralne membranske proteine s citoskeletom i koji su uključeni u regulaciju staničnog rasta, proliferacije i pokretljivosti. Mutacije meningeoma povezane s NF2 obično dovode do skraćenih, nefunkcionalnih proteina, koje mogu dovesti do abnormalnog rasta stanica i pokretljivosti destabilizacijom međustaničnih spojeva. Ova saznanja upućuju na to da Merlin ima ulogu u tumorigenezi meningeoma (Marosi i sur., 2008; Domingues i sur., 2015). Drugi rizični faktor je ionizirajuće zračenje za kojeg postoje dokazi da bi vrlo male doze zračenja glave, kao što je doza koja se koristi za dentalnu radiografiju, mogle povećati rizik od razvoja meningeoma. Iako se sumnjalo da bi ozljeda glave te uporaba telefona mogla utjecati na povećani rizik od nastanka meningeoma, nisu pronađeni značajni dokazi koji bi na to upućivali. Uloga spolnih hormona u nastanku meningeoma još nije razjašnjena, ali sve je više dokaza da progesteron može doprinijeti rastu PR pozitivnih (progesterone-receptor-positive) meningeoma (Marosi i sur., 2008).

## **2.4. WNT SIGNALNI PUT**

Wingless (Wnt) proteini su velika obitelj izlučenih glikoproteina koje reguliraju interakcije između stanica tijekom embriogeneze. Do danas je u ljudskom genomu identificirano 19 WNT gena i više od 15 receptora povezanih s Wnt putem. (Coluccia i sur., 2017). Naziv Wnt je rezultat spajanja imena gena eng."wingless", koji je odgovoran za polarno segmentiranje kod Drosophile i homolognog gena Int-1 (od eng. integrated), mišjeg protoonkogena (Giles i sur., 2003). Wnt proteine karakterizira veliki broj konzerviranih cisteinskih ostataka. Ti proteini su također podvrgnuti modifikaciji, odnosno palmitoilaciji cisteina. Upravo je taj lipid palmitinske kiseline potreban za učinkovitu Wnt signalizaciju, kao i za sekreciju Wnt proteina (Clevers i Nusse, 2012). Ti sekretorni proteini djeluju kao ligandi ili okidači specifične kaskade signalnog puta. Signalizacija pomoću Wnt signalne obitelji izlučenih glikoproteina jedan je od temeljnih mehanizama koji usmjeravaju staničnu proliferaciju, staničnu polarnost i determinaciju stanične sudbine tijekom embrionalnog razvoja i homeostaze tkiva (Logan i Nusse, 2004.). Kanonski Wnt put je također važan regulator svojstava matičnih stanica, a njegova aktivacija je povezana s različitim vrstama karcinoma (Coluccia i sur., 2017). Wnt signalni put grana se na kanonski i nekanonski, a određeni Wnt ligand može aktivirati kanonski i/ili nekanonski put ovisno o odgovarajućem receptoru (MacDonald i sur., 2009).

Wnt signalni put reguliran je većim brojem agonista i antagonista što omogućuje preciznu modulaciju puta. Secreted Frizzled-related proteins (sFRPs) i Wnt inhibitory factor (WIF) mogu vezati Wnt ligande čime se inhibiraju interakcije između Wnt liganda i Wnt receptora. Drugi Wnt inhibitori uključuju Dickkopf (Dkk) proteine i proteine WISE/SOST obitelji, koji antagoniziraju signalizaciju vezanjem LRP5/6 (Clevers i Nusse, 2012; Komiya i Habas, 2008). Iako sFRP i WIF djeluju kao izvanstanični Wnt inhibitori, ovisno o razinama ekspresije ili staničnom kontekstu mogu poticati Wnt signalizaciju stabilizacijom Wnt proteina ili olakšavanjem Wnt sekrecije ili transporta (Clevers, 2006; Logan i Nusse, 2004).

#### **2.4.1. Nekanonski oblik ( $\beta$ -katenin neovisan)**

Nekanonski put se često naziva  $\beta$ -katenin neovisni put, a može se podijeliti na dvije različite grane, PCP (planar cell polarity) put i Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$  put. U nekanonskom Wnt putu ligandi stupaju u interakciju s Fz receptorima i koreceptorima ROR2 i RYK (Komiya i Habas, 2008). PCP put prenosi Wnt signal preko *c-Jun* N-terminalne kinaze (JNK) kako bi upravljao polarnošću planarne stanice u gastrulaciji (ima ključnu ulogu u morfogenezi). U ovom signalnom putu sudjeluju i mali G-proteini kao što su RhoA, RhoU, Rac, i Cdc42 koji su efektorske molekule ovisne o Dvl-u. Ti mali G-proteini sudjeluju u reorganizaciji citoskeleta tijekom tumorigeneze, točnije tijekom invazije i metastaziranja (Harada i sur., 2007; Komiya i Habas, 2008). Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$  put dodatno modulira kanonsku signalizaciju za formiranje dorzoventralne osi, kao i PCP put za morfogenetsko gibanje stanica. Kinaze slične proteinu Nemo (od eng. *Nemo-like kinase*, NLK) i transkripcijski čimbenik aktivnih T-stanica (od eng. *nuclear factor of activated T cells*, NFAT) su efektorske molekule ovisne o  $\text{Ca}^{2+}$  ionima. U Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$  putu neki Wnt proteini i Fz receptori mogu stimulirati intracelularno oslobađanje  $\text{Ca}^{2+}$  iz endoplazmatskog retikuluma i taj put ovisi o G-proteinima (Komiya i Habas, 2008; Katoh i Katoh, 2007).

#### **2.4.2. Kanonski oblik ( $\beta$ -katenin ovisan)**

Ključni i najčešće proučavani Wnt put je kanonski Wnt signalni put, a odnosi na Wnt signalizaciju koja u konačnici dovodi do translokacije  $\beta$ -katenina u jezgru (Kupfer i Ellis, 2017). Wnt proteini se vežu izravno na cistein bogatu domenu sedmerostrukog transmembranskog receptora Frizzled. Aktivacija Frizzled-a tijekom kanonske signalizacije ovisna je o Wnt ligandu, a uz Wnt/Fz interakcije, Wnt signalizacija također zahtijeva prisutnost jednopropusne transmembranske molekule LRP obitelji identificirane kao gen Arrow u Drosophili i kao LRP5 ili

6 u kralježnjaka (Giles i sur., 2003; Logan i Nusse, 2004). Vežanje Wnt liganada na te receptorske komplekse regulirano je s brojnim proteinima koji se vežu na receptorsku komponentu (kao što su Dkk, SOST ili Wise/SOSTDC1) ili samim Wnt ligandom (na primjer, SFRP) (Valkenburg i sur., 2011).

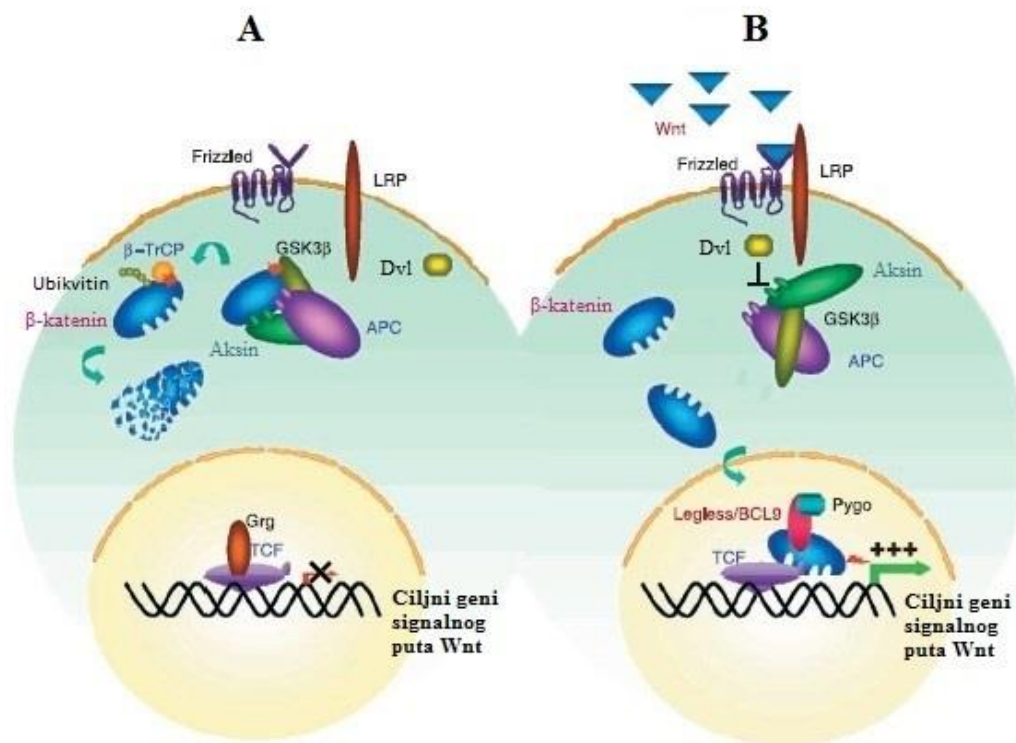
### **2.4.3. Wnt neaktivno stanje**

Kada je Wnt signalni put neaktivan, razine  $\beta$ -katenina su smanjene i zadržane na niskoj razini. Citoplazmatske razine  $\beta$ -katenina se obično održavaju nisko kroz kontinuiranu degradaciju posredovanu proteasomom koja je kontrolirana degradacijskim kompleksom. Ovaj kompleks se sastoji od adenomatous polyposis coli proteina (APC), aksina, kinaze glikogen sintaze  $3\beta$  (GSK3 $\beta$ ) i kazein kinaze 1 (CK1). Aksin i APC tvore strukturnu jezgru kompleksa te omogućuju GSK3 $\beta$  da specifično fosforilira  $\beta$ -katenin. Osim  $\beta$ -katenina, GSK3 $\beta$  i CK1 također fosforiliraju aksin i APC što dovodi do bolje povezanosti aksina i APC-a s  $\beta$ -kateninom, a time i do poboljšane fosforilacije/degradacije  $\beta$ -katenina (MacDonald i sur., 2009). GSK3 $\beta$  i CK1 spadaju u skupinu serin/treonin kinaza te ove dvije kinaze u odsutnosti Wnt signala fosforiliraju  $\beta$ -katenin na 4 amino terminalna ostatka. CK1 fosforilira serin na položaju 45 i treonin na položaju 41, a GSK3 $\beta$  serine na položajima 33 i 37. Upravo su mutacije ovih serinskih i treoninskih ostataka često pronađene u karcinomima (MacDonald i sur., 2009; Šlaus i sur., 2016a). Fosforilacija  $\beta$ -katenina rezultira njegovim prepoznavanjem pomoću E3 podjedinice ubikvitin ligaze –  $\beta$ -Trcp ( $\beta$ -transducin repeat containing protein) te kasnije i ubikvitinacijom  $\beta$ -katenina i proteasomalnom degradacijom (Giles i sur., 2003). Ovo kontinuirano uklanjanje  $\beta$ -katenina sprječava da  $\beta$ -katenin dopre do jezgre, a time su Wnt ciljni geni potisnuti DNA veznim proteinima TCF/LEF (*T-cell factor/lymphoid enhancer binding factor*) obitelji. TCF potiskuje ekspresiju gena međudjelovanjem s represorom Groucho (TLE1 u čovjeka) koji potiče deacetiliranje histona i kompaktiranje kromatina (MacDonald i sur., 2009) (Slika 2.).

### **2.4.4. Wnt aktivno stanje**

Wnt/ $\beta$ -kateninski put se aktivira kad se Wnt ligand veže na sedmerostruki transmembranski receptor Frizzled (Fz) i njegov koreceptor low-density lipoprotein receptor related protein (LRP6 ili srodni protein LRP5). Stvaranje kompleksa Wnt-Fz-LRP6, zajedno sa regrutiranjem proteina Dishevelled (Dvl), dovodi do fosforilacije i aktivacije LRP-a i regrutiranja aksina (MacDonald i sur., 2009). Wnt signalizacija kontrolira fosforilaciju Dvl. Wnt ligandi induciraju

fosforilaciju LRP-a pomoću GSK3 $\beta$  i CK1 čime se regulira vezanje aksina (Clevers, 2006). S jedne strane Dvl uklanja aksin iz degradacijskog kompleksa kako bi se potaknula stabilizacija  $\beta$ -katenina (Logan i Nusse, 2004), a s druge strane inhibira GSK3 $\beta$  što dovodi do citoplazmatskog nakupljanja  $\beta$ -katenina koji nije degradiran i koji se translocira u jezgru (Gatalica i sur., 2017).  $\beta$ -katenin u jezgri zamjenjuje Groucho (Grg), odnosno stvara kompleks s TCF/LEF obitelji transkripcijskih faktora koji aktiviraju transkripciju ciljnih gena kao što su c-myc i ciklin-D1. Nuklearni proteini Legless/BCL9 (Lgs) i Pygopus (Pygo) također sudjeluju u aktivaciji ciljnih gena (Clevers, 2006; Ordóñez i sur., 2017) (Slika 2.).



**Slika 2.** Wnt signalni put. A) U odsutnosti Wnt liganda, signalni put je neaktivan: degradacijski kompleks sačinjen od aksina, APC, GSK3 $\beta$  i CK1 modificira i razgrađuje  $\beta$ -katenin; nema transkripcije ciljnih gena. B) Wnt put je aktivan: stabilni  $\beta$ -katenin ulazi u jezgru, veže transkripcijski faktor i počinje transkripcija ciljnih gena (Giles i sur., 2003).



#### 2.4.5. Poveznica Wnt signalnog puta s karcinomom

S obzirom na ključne uloge Wnt/ $\beta$ -katenin signalizacije u razvoju i homeostazi, nije iznenađenje da su mutacije komponenti Wnt puta povezane s mnogim nasljednim poremećajima, karcinomom i drugim bolestima (MacDonald i sur., 2009). *Wnt1* je jedan od prvih otkrivenih protoonkogeni, poznat još od 1982. godine (pod izvornim nazivom Int-1), čiji je gen bio aktiviran viralnom integracijom DNA i kao takav uzrokovao karcinom mliječnih žlijezda kod miševa. Istraživanja na miševima otkrila su da aberantni Wnt signal inducira karcinom mliječnih žlijezda s različitim patološkim fenotipovima (Clevers i Nusse, 2012; Valkenburg i sur., 2011).

Normalna stanica mora biti u skladu s dva bitna zahtjeva da se razvije u karcinom: mora imati selektivnu prednost kako bi se omogućila početna klonska ekspanzija te genetsku nestabilnost koja bi omogućila višestruke udarce ("hits") na druge gene, pomažući tako napredovanju tumora i malignoj transformaciji. Većina tumora koji proizlaze iz aktivirane Wnt signalizacije ispunjava prvi zahtjev transaktivacijom TCF ciljnih gena kao što je c-myc. Genetska nestabilnost, poput one koja je nastala u prisutnosti APC mutacija, destabilizira diobeno vreteno i potiče gubitak tumor supresorskih gena. Promjene u staničnoj adheziji i migraciji uzrokovane mutacijama gena APC ili CTNNB1 doprinose invazivnosti određenog tumora (Giles i sur., 2003).

Sami Wnt ligandi su rijetko uključeni u aktivaciju puta tijekom karcinogeneze. Najčešće su mutacije koje inaktiviraju APC ili aktiviraju  $\beta$ -katenin, a obje mutacije dovode do akumulacije  $\beta$ -katenina u jezgri koji kasnije ulazi u kompleks s TCF/LEF transkripcijskim faktorima da bi se aktivirala transkripcija gena (Giles i sur., 2003). Dakle, nuklearni  $\beta$ -katenin vrši transaktivaciju TCF/LEF ciljnih gena, istovremeno potičući stanični rast i represiju programa diferencijacije (MacDonald i sur., 2009). Ovakve mutacije u Wnt signalnoj kaskadi potenciraju razvoj različitih tipova tumora (Tablica 2.). Većina mutacija pronađenih u različitim vrstama tumora nalaze se u egzonu 3, tzv. mutacijskom "hot spotu". Egzon 3 kodira za dio  $\beta$ -katenina gdje se nalaze ostaci serina/treonina koji su važni za fosforilaciju. Stoga, ako je ova regija mutirana,  $\beta$ -katenin se više ne može razgraditi što u konačnici dovodi do transkripcije gena (Šlaus i sur., 2016a).

Povezanost dereguliranog Wnt/ $\beta$ -katenin signalnog puta s karcinomom je dobro dokumentirana, posebno u karcinomu debelog crijeva (MacDonald i sur., 2009). Mutacije dobitka funkcije u Wnt signalnom putu uzrok su oko 90% karcinoma debelog crijeva (Giles i sur., 2003). Iako su manje učestale, mutacije gubitka funkcije u aksinu su nađene u

hepatocelularnim karcinomima, dok se mutacije onkogenog  $\beta$ -katenina, prvo opisane u karcinomu debelog crijeva i melanomu, pojavljuju u velikom broju solidnih tumora. Mutacije gubitka funkcije u LEF1, članu TCF obitelji, pojavljuju se kod sebacealnih tumora kože (Clevers i Nusse, 2012).

U razvoju embrija kralježnjaka, stvaranje dorzoventralne osi ovisi o aktivnosti Wnt signalnog puta tako da će nedovoljna regulacija Wnt signalizacije uzrokovati razvojne nedostatke (Giles i sur., 2003). U odraslih pogrešna regulacija Wnt puta dovodi do različitih abnormalnosti i degenerativnih bolesti. Identificirana je LRP mutacija koja uzrokuje povećanu gustoću kostiju na mjestima kao što su čeljust i nepce. Mutacija je jedna aminokiselinska supstitucija koja čini LRP5 neosjetljivim na inhibiciju Wnt puta posredovanu s Dkk, što ukazuje na to da fenotip proizlazi iz prekomjerne Wnt signalizacije u kosti. LRP5 mutacija povezana je i sa osteoporoza-psudoglioma sindromom (OPPG), nasljednim poremećajem koji je karakteriziran niskom koštanom masom i abnormalnom vaskularizacijom oka. U tom slučaju mutacije pomaka okvira čitanja (frame shift) i pogrešne (missense) mutacije stvaraju mutacije gubitka funkcije LRP5. Ovi podaci ukazuju da je Wnt signalizacija posredovana s LRP5 potrebna za održavanje normalne gustoće kostiju (Nusse, 2005; Clevers i Nusse, 2012).

**Tablica 2.** Pregled mutacija Wnt signalnog puta u odabranim karcinomima kod ljudi (Giles i sur., 2003)

<b>TIP KARCINOMA</b>	<b>MUTIRANI GEN</b>	<b>FREKVENCIJA MUTACIJE</b>
<b>Kolorektalni karcinom</b>	APC	80%
	CTNNB1	10%
<b>Karcinom želuca</b>	CTNNB1	8%
<b>Adenom želuca</b>	APC	76%
<b>Melanom</b>	CTNNB1	2%
<b>Adenokarcinom pluća</b>	CTNNB1	3%
<b>Karcinom jajnika</b>	CTNNB1	16%
	APC	2%
	AXIN1	4%
<b>Karcinom endometrija maternice</b>	CTNNB1	13%
<b>Fibromatoza dojke</b>	CTNNB1	45%
	APC	33%
<b>Karcinom prostate</b>	CTNNB1	5%
	APC	14%
<b>Karcinom tiroidne žlijezde</b>	CTNNB1	46%
<b>Hepatoblastom</b>	CTNNB1	65%
	AXIN1	7%
<b>Hepatocelularni karcinom</b>	CTNNB1	18%
	AXIN1	8%
<b>Meduloblastom</b>	CTNNB1	5%
	APC	2%
	AXIN1	12%
<b>Dezmoidni tumor</b>	CTNNB1	52%
	APC	21%
<b>Wilmsov tumor (bubreg)</b>	CTNNB1	14%
<b>Karcinom jetre</b>	CTNNB1	83%
<b>Sinovijalni sarkom</b>	CTNNB1	8%
	APC	8%

Postoji sve više dokaza da aberantna aktivacija Wnt signalizacije, koja rezultira nakupljanjem ili povećanom aktivnošću  $\beta$ -katenina, dovodi do razvoja sporadičnih tumora mozga. Dokazi za sudjelovanje Wnt signalnog puta u tumorima mozga proizlaze iz istraživanja Turcotovog sindroma koji je karakteriziran razvojem meduloblastoma i astrocitoma koji su rezultat germinativnih mutacija u APC genu. Ustanovljeno je i da WNT signalizacija utječe na proliferaciju i obnovu neuronskih matičnih stanica i progenitora (Coluccia i sur., 2017).

Konstitutivno aktivirana Wnt/ $\beta$ -kateninska signalizacija, zbog nedostatka APC-a ili mutacija  $\beta$ -katenina koje sprječavaju njegovu razgradnju, dovodi do prekomjernog obnavljanja/proliferacije matičnih stanica što predisponira stanice na tumorigenezu (MacDonald i sur., 2009). Aberantna aktivacija Wnt signalnog puta ne doprinosi samo umnažanju stanica raka, nego pojačava njihovu otpornost na radijaciju i kemoterapiju te može utjecati na represiju diferencijacije i mogućnost stanice da migrira. Postoje brojni tipovi karcinoma koji nose konstitutivnu aktivaciju Wnt signalnog puta kao posljedicu mutacije neke od komponenti kaskade. To stanje je posebice uočljivo u tkivima koja i u odrasloj dobi nužno održavaju Wnt signalni put aktivnim zbog potrebe za samoobnavljanjem ili popravkom (Clevers i Nusse, 2012). Putevi prijenosa signala koji reguliraju normalnu aktivnost matičnih stanica često su deregulirani tijekom procesa transformacije (Valkenburg i sur., 2011). Postoje jasne naznake povezanosti između Wnt puta i matičnih stanica, uključujući upotrebu Wnt proteina ili agonista Wnt puta za održavanje matičnih stanica u kulturi. Matične stanice sadrže intrinzičnu uputu za diferencijaciju, stoga je pretpostavka da Wnt signali mogu blokirati diferencijaciju stanica represijom za to specifičnog seta gena (Clevers i Nusse, 2012).

## 2.5. WNT SIGNALNI PUT U MENINGEOMIMA

Wnt/ $\beta$ -kateninski signalni put također je uključen u napredovanje meningeoma kroz promijenjenu ekspresiju nekoliko njegovih gena (Domingues i sur., 2015). Neke od glavnih komponenti koje sudjeluju u Wnt signalnom putu su APC, E-kaderin,  $\beta$ -katenin te aksin. APC djeluje kao negativni regulator Wnt signalnog puta tako što utječe na ekspresiju i lokalizaciju  $\beta$ -katenina. U slučaju aktivacije Wnt puta ili mutacije u APC-u dolazi do stabilizacije  $\beta$ -katenina i posljedično do transkripcije gena uključenih u nastanak meningeoma (Pećina-Šlaus i sur., 2008). E-kaderin također djeluje kao negativni, ali indirektni modulator Wnt signalnog puta tako što kontrolira kaderin-posredovanu staničnu adheziju vezanjem  $\beta$ -katenina na staničnoj površini, čime ga odvaja od jezgre (Brunner i sur., 2006; Nelson i Nusse, 2004). U ovom radu naglasak je na preostale dvije komponente Wnt puta, aksinu i  $\beta$ -kateninu, čija je uloga detaljnije opisana u nastavku.

### 2.5.1. $\beta$ -katenin

$\beta$ -katenin je protein kodiran genom CTNNB1 koji se nalazi na 3. kromosomu (3p21).  $\beta$ -katenin je multifunkcionalni protein koji ima važnu ulogu u izgradnji međustaničnih veza, a predstavlja i ključnu signalnu molekulu u Wnt signalnom putu. U međustaničnim spojevima ulazi u interakciju s citoplazmatskom domenom kaderina te povezuje kaderine preko  $\alpha$ -katenina na aktinski citoskelet. Osim što stvara kompleks s kaderinima,  $\beta$ -katenin se u stanici veže na brojne druge molekule tvoreći komplekse neovisne o kaderinima (Xu i Kimelman, 2007; Nelson i Nusse, 2004). U citoplazmi se veže s aksinom i APC-om, a u jezgri s TCF/LEF obitelji transkripcijskih faktora (Kikuchi, 2003).

U središnjem dijelu  $\beta$ -katenina nalazi se domena zvana središnja ponavljajuća domena armadillo (od eng. *central armadillo repeat domain*, ARM). Jedna od glavnih uloga središnje domene je da olakšava interakcije  $\beta$ -katenina s drugim veznim proteinima, uključujući TCF/LEF, APC, E-kaderin i  $\alpha$ -katenin (Michaelson i Leder, 2001). Terminalne domene  $\beta$ -katenina posreduju u protein-protein interakcijama i zajedno s armadillo ponavljajućom domenom omogućavaju  $\beta$ -kateninu da djeluje kao potpora u multiproteinskim kompleksima (Xing i sur., 2008). Amino terminalna regija sadrži mjesta za fosforilaciju pomoću GSK3 $\beta$  i

tirozin-kinaza i važna je za regulaciju staničnih razina  $\beta$ -katenina. Osim toga, amino terminalnu regiju prepoznaje  $\beta$ -TrCP ubikvitin ligaza prilikom ubikvitinacije  $\beta$ -katenina. Karboksi terminalna regija  $\beta$ -katenina sadrži transaktivacijsku domenu koja je potrebna za aktivaciju gena pomoću kompleksa  $\beta$ -katenin-TCF (Huber i sur., 1997).  $\beta$ -katenin kao ključna signalna molekula u kanonskom Wnt putu ima važnu ulogu u embrionalnom razvoju, ali i u odrasloj dobi (Moon i sur., 2002). Deregulacija aktivnosti  $\beta$ -katenina povezana je s rakom i drugim oboljenjima kod ljudi.

Korelacija između  $\beta$ -katenina i tumorigeneze je utvrđena kroz brojna istraživanja. Mutacije i delecije mjesta za fosforilaciju u amino terminalnoj domeni dovode do stabilizacije  $\beta$ -katenina u različitim tipovima tumora (Michaelson i Leder, 2001). Naime, zbog smanjene sposobnosti GSK3 $\beta$  da fosforilira  $\beta$ -katenin, dolazi do smanjenja sposobnosti degradacije pomoću proteasoma. Kao što je već spomenuto, ako ne dođe do proteasomske razgradnje  $\beta$ -katenina, on se nakuplja u citoplazmi te se zatim translocira u jezgru. U jezgri ulazi u interakcije s TCF/LEF transkripcijskim faktorima i dolazi do transkripcije ciljnih gena mahom s funkcijom protoonkogeno. Do nakupljanja  $\beta$ -katenina može doći zbog mutacije u samom genu CTNNB1, inaktivacijske mutacije gena APC ili zbog mutacije aksina (Giles i sur., 2003). Dakle, mutirani oblici  $\beta$ -katenina koji nemaju mjesta za fosforilaciju, koja su potrebna za njegovu razgradnju, ne reagiraju na Wnt signal i mogu konstitutivno aktivirati Wnt ciljne gene. Mutacije  $\beta$ -katenina, APC-a i aksina koje potiču stabilizaciju  $\beta$ -katenina nalaze se u mnogim različitim vrstama karcinoma, što ukazuje na to da je konstitutivna Wnt signalizacija zajedničko obilježje mnogih novotvorina (Nusse, 2005).

### **2.5.2. Uloga $\beta$ -katenina u meningeomima**

Kao što je spomenuto,  $\beta$ -katenin je važna komponenta međustaničnih spojeva u kojima se nalazi u interakciji s E-kaderinom. E-kaderin se smatra tumor supresorskim proteinom, a gubitak njegove ekspresije je glavna karakteristika epitelno-mezenhimske tranzicije (EMT). Proces EMT je neophodan za embriogenezu gdje EMT omogućuje kontrolirano i precizno kretanje stanica u gastrulaciji te sudjeluje u formiranju neuralnog grebena. EMT se odvija i tijekom progresije tumora i metastaza. Tu će gubitak integriteta tkiva dovesti do lokalne invazije gdje prethodno neinvazivne tumorske stanice stječu pokretljivost, napuštaju parenhimsko tkivo, ulaze u sistemska cirkulaciju i u konačnici se šire do udaljenih organa. Obrnuti proces mezenhimsko-epitelne tranzicije (MET) omogućuje migratornim stanicama da

steknu epitelni fenotip nakon što stignu na svoje odredište kako bi stvorili metastazu (Pećina-Šlaus i sur., 2016a).

Wnt signalizacija je snažno uključena u epitelno-mezenhimsku tranziciju i pokazano je da nuklearna translokacija  $\beta$ -katenina može izazvati EMT i tako dovesti do metastaziranja meningeoma. Fenomen koji se događa u EMT tijekom normalnog razvoja, tzv. kaderin sklopka ("cadherin switch"), također se događa i kod meningeoma. U tom fenomenu, E-kaderin je zamijenjen N-kaderinom i kod tumora se smatra znakom invazivnog ponašanja. Drugi važan molekularni događaj uključen u EMT je translokacija  $\beta$ -katenina u jezgru. Stabilizacija i nakupljanje  $\beta$ -katenina u jezgri može potaknuti EMT jer može pojačati ekspresiju dva transkripcijska represora SNAIL1 i SNAIL2 (poznat i kao SLUG). Pokazano je da se SNAIL1 i SNAIL2 mogu vezati na promotorsku regiju E-kaderina i potisnuti njegovu ekspresiju, time oslabljujući međustanične spojeve i inducirajući EMT (Pećina-Šlaus i sur., 2016a).

Nastanak i progresija meningeoma su posljedica narušavanja međustanične adhezije posredovane E-kaderinom i  $\beta$ -kateninom (Ahmed i sur., 2017). E-kaderin negativno regulira transkripcijsku aktivnost  $\beta$ -katenina tako što ga regrutira iz transkripcijskog kompleksa. E-kaderin može dodatno mijenjati razine  $\beta$ -katenina, budući da promotor E-kaderina sadrži TCF-vezna mjesta te tako može biti meta Wnt signalizacije (Howng i sur., 2002). Gubitak E-kaderina oslobađa  $\beta$ -katenin iz njegovog citoplazmatskog repa, nakon čega se  $\beta$ -katenin premješta u staničnu jezgru i aktivira prometastatske gene (Šlaus i sur., 2012).

Postoji značajna povezanost između genetskih promjena CDH1 (gen koji kodira za E-kaderin) i lokalizacije  $\beta$ -katenina u jezgri. To su potvrdili Pećina-Šlaus i sur. istraživanjem u kojem su otkrili je 75% uzoraka meningeoma s genetskim promjenama CDH1 imalo  $\beta$ -katenin lokaliziran u jezgri. U slučajevima kada promjene CDH1 nisu bile otkrivene, lokalizacija  $\beta$ -katenina bila je primarno u membrani ili se nije mogao detektirati (Pećina-Šlaus i sur., 2010).

Brunner i sur. su proveli istraživanje na 38 uzoraka meningeoma kako bi utvrdili potencijalnu ulogu  $\beta$ -katenina i E-kaderina u meningeomima. Imunohistokemijska analiza pokazala je nedostatak ekspresije E-kaderina na staničnoj membrani u 34% meningeoma neovisno o njihovom WHO gradusu, dok je do gubitka membranskog  $\beta$ -katenina došlo u 79% meningeoma.  $\beta$ -katenin je u stanicama s netaknutim međustaničnim spojevima lokaliziran u membrani. Međutim, nuklearna imunoreaktivnost ukazivala je na stanice s translokacijom  $\beta$ -katenina u jezgri. Imunohistokemijska analiza meningeoma pokazala je ekspresiju  $\beta$ -katenina u svim uzorcima meningeoma (38/38) (Brunner i sur., 2006).

Membranski  $\beta$ -katenin pronađen je u samo 21% meningeoma s neznatno smanjenom učestalošću u meningeomima gradusa I u usporedbi s gradusom II (Tablica 3.). U preostalim meningeomima je pronađen granulirani citoplazmatski  $\beta$ -katenin s intezivnom perinuklearnom granularnom imunoreaktivnošću u većini slučajeva. Te perinuklearne nakupine možda predstavljaju akumulirane proteine u citoplazmatskim odjeljcima. Ovakvi rezultati upućuju na to da je gubitak membranskog  $\beta$ -katenina čest u meningeomima (Brunner i sur., 2006). Do smanjenja membranski vezanih i povećanja citoplazmatskih ili nuklearnih  $\beta$ -katenina dolazi kod meningeoma višeg stupnja (Ludwig i sur., 2015).

**Tablica 3.** Imunohistokemijska analiza ekspresije  $\beta$ -katenina i E-kaderina u različitim gradusima meningeoma (Brunner i sur., 2006)

	Ekspresija $\beta$ -katenina		Ekspresija E-kaderina		Negativna
	Pozitivna na citoplazmatskoj membrani	Pozitivna u citoplazmi	Pozitivna na citoplazmatskoj membrani	Pozitivna u citoplazmi	
Postotak od broja					
ukupno	21%	79%	66%	16%	18%
analiziranih meningeoma	(8/38)	(30/38)	(25/38)	(6/38)	(7/18)
Postotak meningeoma gradusa I	11%	89%	56%	16%	28%
	(10/18)	(3/18)	(2/18)	(16/18)	(5/18)
Postotak meningeoma gradusa II	31%	69%	75%	12%	13%
	(5/16)	(11/16)	(12/16)	(2/16)	(2/16)
Postotak meningeoma gradusa III	25%	75%	75%	25%	0%
	(1/4)	(3/4)	(3/4)	(1/4)	(0/4)



Ekspresija  $\beta$ -katenina povezana je i s histopatološkim stupnjem meningeoma. Kako se histopatološki stupanj meningeoma povećava, pozitivne stope  $\beta$ -katenina u meningeomu se smanjuju. Visoka razina ekspresije  $\beta$ -katenina povezana je s tranzicijskim i meningotelijskim meningeomima, dok je razina ekspresije niska u visokorazvijenim i agresivnim tumorima te u slučajevima invazije mozga i recidiva tumora. Dakle, smanjen broj molekula stanične adhezije ( $\beta$ -katenina, ali i E-kaderina) povezan je s povećanom proliferacijom tumorskih stanica i može doprinijeti invazivnoj sposobnosti meningeoma (Zhou i sur., 2010; Ahmed i sur., 2017).

Aktivirani Wnt signalni put dovodi do stabilizacije  $\beta$ -katenina i njegove translokacije u jezgru. Analiza meningeoma koju su proveli Brunner i sur. nije pokazala lokalizaciju  $\beta$ -katenina u jezgri. Međutim, nedostatak membranskog  $\beta$ -katenina i E-kaderina u približno 80% svih meningeoma daje dokaze o promijenjenoj raspodjeli tih proteina u meningeomima. Manjak membranskog  $\beta$ -katenina i/ili membranskog E-kaderina u meningeomima može ukazivati na izmijenjenu interakciju između stanica meningeoma (Brunner i sur., 2006).

### 2.5.3. Aksin

AXIN1 gen smješten na kromosomu 16 (16p13.3) sastoji se od 10 egzona te kodira za protein veličine 96 kDa (Pećina-Šlaus i sur., 2011). Kralježnjaci imaju dvije izoforme aksina: Axin1 (također nazvan Axin) koji je konstitutivno eksprimiran te Axin2 (također nazvan Conductin), koji pokazuje sve vezne i regulatorne funkcije aksina. Iako su njihovi obrasci ekspresije različiti, oni su funkcionalno ekvivalentni kao inhibitori prijenosa Wnt/ $\beta$ -kateninskog signala (Chen i sur., 2009; Song i sur., 2014; Polakis, 2000). Prvi put je identificiran kao inhibitor Wnt signalizacije kada su promatrane mutacije u mišjim aksinima uzrokovale duplikaciju osi kod homozigotnih mišjih embrija (Chen i sur., 2009; Giles i sur., 2003). Postoje dokazi koji upućuju na to da aksin ima ključnu ulogu u regulaciji sinaptičkih funkcija, formiranju sinaptičkih proteinskih kompleksa i usidranju postsinaptičkih proteina u središnjem živčanom sustavu (Šlaus i sur., 2016a).

Aksin sadrži DIX (dishevelled, axin) domenu od oko 80 aminokiselina smještenih na C-terminalnom kraju koja mu služi za posredovanje oligomerizacije, što je važno za njegovu funkciju. Sadrži i N-terminalnu RGS (regulator of G protein signaling) domenu odgovornu za vezanje APC-a. Osim aksina, proteini Dvl i Ccd1 (Coiled-coil-DIX1) također sadrže DIX domenu koja je odgovorna za njihovu homo- i heteropolimerizaciju. DIX-posredovana heterotipna

interakcija između aksina i Dvl-a može poremetiti povezanost aksina s degradacijskim kompleksom i olakšati njegovo regrutiranje na LRP (Song i sur., 2014; Peifer i Polakis, 2000).

Aksin je ključna komponenta kanonskog Wnt puta koja djeluje kao tumor supresor u karcinomu. On ima dvostruku ulogu u moduliranju Wnt signalizacije. S jedne strane, aksin sastavlja  $\beta$ -kateninski degradacijski kompleks kako bi potaknuo razgradnju  $\beta$ -katenina i stoga inhibira prienos Wnt signala. S druge strane, on ulazi u interakciju s LRP5/6 i olakšava regrutiranje GSK3 $\beta$  na plazmatsku membranu da bi potaknuo fosforilaciju LRP5/6 i Wnt signalizaciju (Song i sur., 2014). On se veže izravno na APC,  $\beta$ -katenin, GSK3 $\beta$  i Dishevelled. Broj molekula aksina u stanicama je mnogo manji od ostalih proteina koji tvore kompleks, što ukazuje na to da aksin ograničava brzinu slaganja kompleksa. Aksin, dakle, može biti ograničavajuća komponenta Wnt signalne kaskade te kao ključna potporna molekula može promicati brzo sastavljanje i rastavljanje komponenti Wnt puta radi reguliranja stabilnosti  $\beta$ -katenina u stanici. Također, s obzirom na to da APC,  $\beta$ -katenin, GSK3 $\beta$  i Dvl sudjeluju u drugim signalnim događajima, ova značajka može osigurati da promjene u razini proteina aksina neće mijenjati dostupnost GSK3 $\beta$  (ili drugih komponenti) za druge signalne kaskade, čime se dodatno izolira Wnt od ostalih signalnih događaja (Logan i Nusse, 2004; MacDonald i sur., 2009).

Aksin se često nalazi mutiran u karcinomu, doprinoseći prekomjernom aktiviranju Wnt signalizacije u tumorima. Kao negativni regulator Wnt signalizacije, tumor-specifična metilacija promotora ili deacetilacija histona uzrokovat će smanjenu ekspresiju aksina, što može potaknuti pretjeranu aktivaciju Wnt signalizacije u karcinomu. Aktivnost aksina mora biti čvrsto kontrolirana kako bi se omogućio odgovarajući prienos "on" ili "off" Wnt signala. Do sada je otkriveno više mehanizama u regulaciji aktivnosti aksina, kao što su posttranslacijska modifikacija, homo/heteropolimerizacija i autoinhibicija. Ovi mehanizmi mogu zajedno djelovati na tome da moduliraju funkciju aksina, a imaju i važnu ulogu u kontroli kanonske Wnt signalizacije. Aksin je također pod regulacijom fosforilacije/defosforilacije. Bez Wnt stimulacije aksin je fosforiliran, što povećava njegov afinitet vezanja s  $\beta$ -kateninom, a to dovodi do stabilizacije aksina. Nakon Wnt stimulacije, aksin je defosforiliran, što dovodi do manje učinkovite veze s  $\beta$ -kateninom i posljedično do razgradnje aksina (Song i sur., 2014). GSK3 $\beta$  je ključna kinaza koja fosforilira aksin i olakšava njegovu ulogu u degradacijskom kompleksu. Osim GSK3 $\beta$ , aksin fosforilira i CK1, ali i dvije serinske/treoninske fosfataze PP1 i PP2A također sudjeluju u fosforilaciji/defosforilaciji aksina tako da se odupiru djelovanju GSK3 $\beta$  i/ili CK1. Tako PP1 defosforilira aksin i potiče rastavljanje degradacijskog kompleksa, dok PP2A

defosforilira  $\beta$ -katenin te time svaka dovodi do smanjene razgradnje  $\beta$ -katenina, odnosno pridonosi aktivaciji Wnt signalizacije. Međutim, potrebno je napomenuti da PP2A može imati višestruke i suprotne uloge u Wnt putu ovisno o određenim pridruženim regulatornim podjedinicama i supstratima (MacDonald i sur., 2009; Song i sur., 2014).

#### **2.5.4. Uloga aksina u meningeomima**

Uloga aksina u meningeomima je još uvijek nedovoljno istražena. Poznato je da aksin ima ulogu kao potporni protein u  $\beta$ -kateninskom degradacijskom kompleksu te da je negativni regulator Wnt signalnog puta. Kada se nalazi u kompleksu Wnt-Fz-LRP5/6-Dvl-aksin (LRP signalosom), lokaliziran je na plazmatskoj membrani te potiče aktivaciju signala. Međutim, aksin se može nalaziti i u jezgri gdje njegova uloga još nije dobro razjašnjena. Poznavajući funkciju koju vrši aksin, očekuje se da će se kod normalnih stanica nalaziti u citoplazmi gdje potiče fosforilaciju i razgradnju  $\beta$ -katenina. Međutim, poznato je i da se aksin može transportirati ("shuttle") od citoplazme do jezgre. Jedna teorija predlaže da su APC i aksin važni za prijenos  $\beta$ -katenina od jezgre do citoplazme pomoću mehanizma "salvage pathway", koji se aktivira translokacijom aksina u jezgru, da bi se smanjila onkogeno aktivnost  $\beta$ -katenina izvozom  $\beta$ -katenina iz jezgre i njegovom razgradnjom u citoplazmi. Otkrivene visoke razine ekspresije aksina u citoplazmi, praćene s visokim razinama ekspresije u jezgri u skladu su s ovom teorijom (Pećina-Šlaus i sur., 2011; Pećina-Šlaus i sur., 2016b).

Pećina-Šlaus i sur. su proveli istraživanje na 32 uzorka meningeoma, koristeći se metodama gubitka heterozigotnosti (LOH) i mikrosatelitne nestabilnosti (MSI), kako bi ispitali ulogu aksina u meningeomima. Mikrosatelitna nestabilnost (MSI) je vrsta genomske nestabilnosti karakteristična za tumorske stanice. Analizom razina ekspresije aksina, ekspresija je pronađena u većini analiziranih uzoraka te je heterogeno raspodjeljena kroz tumor s pretežnom lokalizacijom u citoplazmi i jezgri. Aksin je pronađen isključivo u jezgri u 25% uzoraka, dok se u preostalih 75% uzoraka nalazio u citoplazmi i jezgri. Većina ispitivanih meningeoma je pokazala umjerenu ili snažnu ekspresiju aksina. Pronađena je i korelacija između citoplazmatske lokalizacije aksina i njegove slabe ekspresije. S druge strane, položaj aksina u citoplazmi i jezgri je povezan s umjerenim i jakim razinama njegove ekspresije. Ovi rezultati ukazuju na to da se aktivnost aksina u stanicama menigeoma odvija i u citoplazmi i jezgri što je u skladu s obje njegove uloge (Pećina-Šlaus i sur., 2016b).

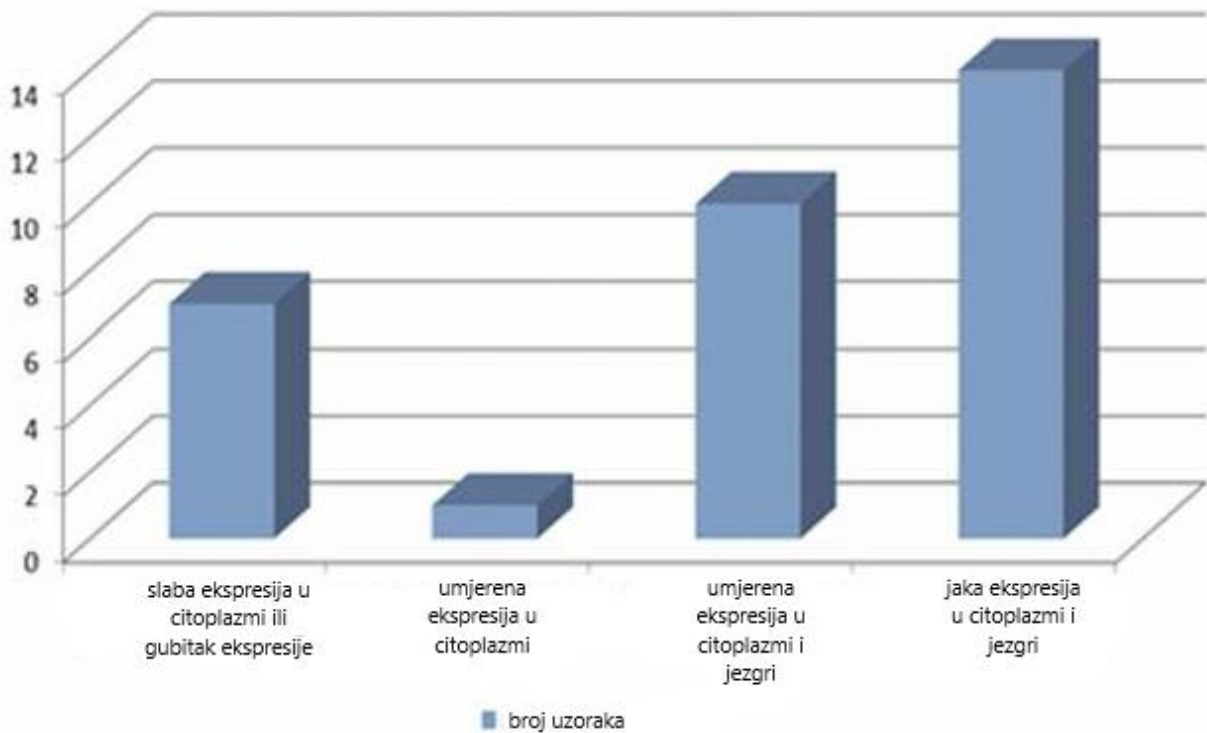
Imunohistokemijsko bojanje pokazalo je negativne ili jako slabe razine ekspresije aksina u 7 od 32 uzoraka (21,9%). Takve razine ekspresije pronađene su isključivo u citoplazmi, a samo je jedan uzorak s citoplazmatskim obojenjem imao umjerenu razinu ekspresije. Ovo ukazuje na smanjenje ekspresije tumor supresorskog gena AXIN1 u usporedbi s razinama aksina kod zdravih moždanih tkiva. Svi ostali uzorci su imali aksin lokaliziran u citoplazmi i jezgri s umjerenom (34,4%) i/ili jakom ekspresijom (43,8%) (Slika 3.). Ove razine ekspresije odgovaraju razinama ekspresije aksina promatranim u normalnim tkivima (Pećina-Šlaus i sur., 2016b).

Povezanost ekspresije aksina i histopatološkog stupnja meningeoma nije dobro utvrđena, ali je poznato da su razine ekspresije različite u različitim histološkim varijantama meningeoma. Smanjena ekspresija aksina je različita među histopatološkim podtipovima meningeoma pri čemu fibrozni meningeom ima najveću učestalost smanjene ekspresije aksina, dok preostali podtipovi općenito pokazuju veću učestalost normalne jake ekspresije (Pećina-Šlaus i sur., 2016b).

Nadalje, Pećina-Šlaus i sur. su istražili i povezanost aksina s  $\beta$ -kateninom, APC-om i E-kaderinom. Ustvrdili su da razina i lokalizacija ekspresije aksina nije povezana s razinama APC proteina niti s njegovim genetskim promjenama. Suprotno tome, pronađena je značajna korelacija između genetskih promjena aksina i ekspresije APC-a. LOH aksina je povezan s nedostatkom ekspresije APC-a ili s prisutnosti mutiranih APC proteina. To može upućivati na to da je u slučajevima kad je LOH mehanizam za inaktivaciju gena, barem jedna komponenta Wnt puta pogođena. APC ima ulogu u destabilizaciji aksina i negativnoj regulaciji bazalnih razina aksina neovisno o Wnt stimulaciji. Također je pronađena pozitivna korelacija između inteziteta ekspresije aksina i E-kaderina pri čemu je umjerena i jaka lokalizacija aksina u citoplazmi i jezgri pozitivno korelirana s jakom ekspresijom E-kaderina. To se može objasniti normalnom morfologijom i staničnom arhitekturom gdje je E-kaderin povezan s  $\beta$ -kateninom u međustaničnim spojevima, dok aksin ispravno sudjeluje u uništavanju  $\beta$ -katenina. Nije utvrđena značajna korelacija između razine  $\beta$ -katenina i aksina, ali je primjećeno da je u uzorcima s jakom ili umjerenom ekspresijom aksina razina  $\beta$ -katenina bila na niskim razinama u 41% slučajeva. Ovaj nalaz je u skladu s normalnim radom degradacijskog kompleksa  $\beta$ -katenina (Pećina-Šlaus i sur., 2016b).

Delecije AXIN1 gena pronađene su u 21,1% tumora. To može upućivati na već poznato djelovanje AXIN1 gena kao tumor supresora i na posljedično smanjenje razine proteina aksina. Međutim kod 75% uzoraka koji su imali LOH AXIN1 gena, pronađena je umjerena razina

ekspresije proteina aksina što upućuje na to da delecije alela nisu dovoljne da bi došlo do većeg smanjenja razine ekspresije aksina. Što se tiče utvrđivanja mikrosatelitne nestabilnosti, otkriveno je 5,3% meningeoma sa MSI. MSI-pozitivni uzorci mogu ukazivati na neispravnost gena za replikaciju/popravak i mehanizma mismatch popravka (MMR, od eng. mismatch repair) DNA, što bi omogućilo povećanu frekvenciju mutacija i nakupljanje velikog broja mutacija (Pećina-Šlaus i sur., 2016b).



**Slika 3.** Lokalizacija i razine ekspresije aksina u meningeomima (Pećina-Šlaus i sur., 2016b).

### 3. ZAKLJUČAK

Aktivni Wnt signalni put obilježje je mnogih karcinoma, uključujući i meningeome. U Wnt signalnom putu u meningeomima važnu ulogu imaju dva proteina –  $\beta$ -katenin i aksin. Uloga  $\beta$ -katenina u nastanku i progresiji tumora usko je povezana s E-kaderinom. Upravo će narušavanje kateninsko-kaderinskog kompleksa dovesti do nastanka meningeoma. Pokazano je da se  $\beta$ -katenin u meningeomima nalazi pretežno u citoplazmi čime se potvrđuje činjenica da je gubitak membranskog  $\beta$ -katenina čest u meningeomima. Ekspresija  $\beta$ -katenina je niska kod agresivnih tumora, recidiva te u slučajevima invazije mozga što ukazuje na to smanjen broj molekula stanične adhezije doprinosi invazivnoj sposobnosti meningeoma. Manjak membranskog  $\beta$ -katenina i/ili E-kaderina upućuje na izmijenjenu interakciju između stanica meningeoma koja opet u konačnici može dovesti do metastaziranja menigeoma.

Poznata uloga aksina je ta da je sastavni dio degradacijskog kompleksa za razgradnju  $\beta$ -katenina. U tom slučaju se nalazi u citoplazmi. Međutim, istraživanja su otkrila da se on može nalaziti i u jezgri. Visoke razine ekspresije aksina u jezgri su pronađene kod meningeoma i otkrivaju moguću ulogu aksina u prijenosu  $\beta$ -katenina iz jezgre u citoplazmu gdje se  $\beta$ -katenin razgrađuje te posljedično dolazi do smanjenja njegove onkogene aktivnosti. LOH gena AXIN1 pronađen je u meningeomima što može upućivati na već poznato djelovanje AXIN1 gena kao tumor supresora i na posljedično smanjenje razine proteina aksina.

Nova saznanja o Wnt signalizaciji pokazuju da Wnt proteini i druge komponente Wnt signalne kaskade, odnosno  $\beta$ -katenin i aksin, reguliraju ključne razvojne procese normalnog razvoja središnjeg živčanog sustava. Molekularne mehanizme i kandidate koji sudjeluju u razvoju i napredovanju tumora mozga još uvijek treba istražiti i bolje razjasniti. Također, uloga proteina  $\beta$ -katenina, a posebice aksina u meningeomima je manje poznata i svakako ih je potrebno bolje istražiti za bolje i potpunije razumijevanje mehanizama koji dovode do stvaranja meningeoma.

## 4. POPIS LITERATURE

1. AANS (2017). AANS – American Association of Neurological Surgeons, <http://www.aans.org/>. Pristupljeno 23. srpnja 2017.
2. Abbritti R.V., Polito F., Cucinotta M., Lo Giudice C., Caffo M., Tomasello C., Germanò A., Aguenouz M. (2016) Meningiomas and Proteomics: Focus on New Potential Biomarkers and Molecular Pathways. *Cancer Genomics and Proteomics* **13**: 369-379.
3. ABTA (2014). ABTA – American Brain Tumor Association, <http://www.abta.org/>. Pristupljeno 21. srpnja 2017.
4. Ahmed R.A., Shebl A.M., Habashy H.O. (2017) Expression levels of  $\beta$ -catenin and galectin-3 in meningioma and their effect on brain invasion and recurrence: a tissue microarray study. *Cancer Biology and Medicine* **14**: 319-326.
5. Bertram J.S. (2001) The molecular biology of cancer. *Molecular Aspects of Medicine* **21**: 167-223.
6. Brunner E.C., Romeike B.F., Jung M., Comtesse N., Meese E. (2006) Altered expression of  $\beta$ -catenin/E-cadherin in meningiomas. *Histopathology* **49**: 178-187.
7. Chen T., Li M., Ding Y., Zhang L.-S., Xi Y., Pan W.-J., Tao D.-L., Wang J.-Y., Li L. (2009) Identification of Zinc-finger BED Domain-containing 3 (Zbed3) as a Novel Axin-interacting Protein That Activates Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling. *The Journal of Biological Chemistry* **284**: 6683-6689.
8. Clevers H. (2006) Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling in Development and Disease. *Cell* **127**: 469-480.
9. Clevers H., Nusse R. (2012) Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling and Disease. *Cell* **149**: 1192-1205.
10. Coluccia D., Weeks A., Fandino J., Schneider C., Smith C., Rutka J.T. (2017) Molecular Biology of Human Brain Tumors. U: The Molecular Basis of Human Cancer, 2.izd., Coleman W.B., Tsongalis G.J., ur., Humana Press. str. 657-695.
11. Cooper G.M. (2000) The Cell: A Molecular Approach, 2. izd, Sinauer Associates Inc.
12. Domingues P., González-Tablas M., Otero Á., Pascual D., Ruiz L., Miranda D., Sousa P., Gonçalves J.M., Lopes M.C., Orfao A., Tabernero M.D. (2015) Genetic/molecular alterations of meningiomas and the signaling pathways targeted. *Oncotarget* **6**: 10671-10688.

13. Gatalica Z., Ghalzalpour A., Lilleberg S.L., Swensen J., Lynch H.T. (2017) Hereditary Cancer. U: The Molecular Basis of Human Cancer, 2.izd., Coleman W.B., Tsongalis G.J., ur., Humana Press. str. 335-355.
14. Giles R.H., van Es J.H., Clevers H. (2003) Caught in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer. *Biochimica and Biophysica Acta* **1653**: 1-24.
15. Harada Y., Yokota C., Habas R., Slusarski D.C., He X. (2007) Retinoic Acid-Inducible G Protein-Coupled Receptors Bind to Frizzled Receptors and May Activate Non-canonical Wnt Signaling. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **358**: 968-975.
16. Howng S.-L., Wu C.-H., Cheng T.-S., Sy W.-D., Lin P.-C.K., Wang C., Hong Y.-R. (2002) Differential expression of Wnt genes,  $\beta$ -catenin and E-cadherin in human brain tumors. *Cancer Letters* **183**: 95-101.
17. Huber A.H., Nelson W.J., Weis W. (1997) Three-Dimensional Structure of the Armadillo Repeat Region of  $\beta$ -Catenin. *Cell* **90**: 871-882.
18. Katoh M., Katoh M. (2007) Wnt Signaling Pathway and Stem Cell Signaling Network. *Clinical Cancer Research* **13**: 4042-4045.
19. Kikuchi A. (2003) Tumor formation by genetic mutations in the components of the Wnt signaling pathway. *Cancer Science* **94**: 225-229.
20. Komiya Y., Habas R. (2008) Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis* **4**: 68-75.
21. Krmpotić-Nemanić J., Marušić A. (2007) Anatomija čovjeka, 2.izd, Medicinska naklada.
22. Kupfer S.S., Ellis N.A. (2017) Hereditary Colorectal Cancer. . U: The Molecular Basis of Human Cancer, 2.izd., Coleman W.B., Tsongalis G.J., ur., Humana Press. str. 381-401.
23. Logan C.Y., Nusse R. (2004) The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* **20**: 781-810.
24. Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K., Burger P.C., Jouvet A., Scheithauer B.W., Kleihues P. (2007) The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathologica* **114**: 97-109.
25. Ludwig N, Kim Y.-J., Mueller S.C., Backes C., Werner T.V., Galata V., Sartorius E., Bohle R.M, Keller A., Meese E. (2015) Posttranscriptional deregulation of signaling pathways in meningioma subtypes by differential expression of miRNAs. *Neuro-Oncology* **17**: 1250-1260.
26. MacDonald B.T., Tamai K., He X. (2009) Wnt/ $\beta$ -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Developmental Cell* **17**:9-26.
27. Markulin-Grgić L., Šantek F. (2001) Tumori središnjega živčanoga sustava. *Medicus* **10**: 215-224.



28. Marosi C., Hassler M., Roessler K., Reni M., Sant M., Mazza E., Vecht C. (2008) Meningioma. *Critical Reviews in Oncology / Hematology* **67**: 153-171.
29. Meacham C.E., Morrison S.J. (2013) Tumor heterogeneity and cancer cell plasticity. *Nature* **501**: 328-337.
30. Michaelson J.S., Leder P. (2001)  $\beta$ -catenin is a downstream effector of Wnt-mediated tumorigenesis in the mammary gland. *Oncogene* **20**: 5093-5099.
31. Moon R.T., Bowerman B., Boutros M., Perrimon N. (2002) The Promise and Perils of Wnt Signaling Through  $\beta$ -catenin. *Science* **296**: 1644-1646.
32. Nelson W.J., Nusse R. (2004) Convergence of Wnt,  $\beta$ -Catenin, and Cadherin Pathways. *Science* **303**: 1483-1487.
33. Nusse R. (2005) Wnt signaling in disease and in development. *Cell Research* **15**: 28-32.
34. Ordóñez J.L., Osuna D., Madoz-Gúrpide J., de Álava E. (2017) Molecular Pathology of Bone and Soft Tissue Tumors. U: *The Molecular Basis of Human Cancer*, 2.izd., Coleman W.B., Tsongalis G.J., ur., Humana Press. str. 623-657.
35. Patriotis C., Maruvada P., Srivastava S. (2017) Molecular Detection and Diagnosis of Cancer. U: *The Molecular Basis of Human Cancer*, 2.izd., Coleman W.B., Tsongalis G.J., ur., Humana Press. str. 797-811.
36. Pećina-Šlaus N. (1998) Tumor supresorski geni s posebnim osvrtom na tumor supresorski gen APC. *Liječnički vjesnik* **120**: 219-227.
37. Pećina-Šlaus N., Cicvara-Pećina T., Kafka A. (2012) Epithelial-to-mesenchymal transition: Possible role in meningiomas. *Frontiers in bioscience (Elite Edition)* **4**: 889-896.
38. Pećina-Šlaus N., Kafka A., Lechpammer M. (2016a) Molecular Genetics of Intracranial Meningiomas with Emphasis on Canonical Wnt Signalling. *Cancers* **8**: 1-22
39. Pećina-Šlaus N., Kafka A., Vladušić T., Pećina I.H., Hrašćan R. (2016b) AXIN1 Expression and Localization in Meningiomas and Association to Changes of APC and E-cadherin. *Anticancer Research* **36**: 4583-4594.
40. Pećina-Šlaus N., Nikuševa Martić T., Deak A.J., Zeljko M., Hrašćan R., Tomas D., Musani V. (2010) Genetic and protein changes of E-cadherin in meningiomas. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **136**: 695-702.
41. Pećina-Šlaus N., Nikuševa Martić T., Tomas D., Beroš V., Zeljko M., Čupić H. (2008) Meningiomas exhibit loss of heterozygosity of the APC gene. *Journal of Neuro-Oncology* **87**: 63-70.

42. Pećina-Šlaus N., Nikuševa Martić T.N., Kokotović T., Kušec V., Tomas D., Hrašćan R. (2011) AXIN-1 protein expression and localization in glioblastoma. *Collegium antropologicum* **35**: 101-106.
43. Peifer M., Polakis P. (2000) Wnt signaling in oncogenesis and embryogenesis - A look outside the nucleus. *Science* **287**: 1606-1609.
44. Pèrez-Magán E., Campos-Martín Y., Mur P., Fiaño C., Ribalta T., García J.F., Rey J.A., Rodríguez de Lope A., Mollejo M., Meléndez B. (2012) Genetic Alterations Associated With Progression and Recurrence in Meningiomas. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* **71**: 882-893.
45. Polakis P. (2000) Wnt signaling and cancer. *Genes & Development* **14**: 1837-1851.
46. Riemenschneider M.J., Perry A., Reifenberger G. (2006) Histological classification and molecular genetics of meningiomas. *The Lancet Neurology* **5**: 1045-1054.
47. Rivenbark G.A. (2017) An Overview of Cancer Genes. U: The Molecular Basis of Human Cancer, 2.izd., Coleman W.B., Tsongalis G.J., ur., Humana Press. str. 121-143.
48. Song X., Wang S., Li L. (2014) New insights into the regulation of Axin function in canonical Wnt signaling pathway. *Protein Cell* **5**: 186-193.
49. Valkenburg K.C., Graveel C.R., Zylstra-Diegel C., Zhong Z., Williams B.O. (2011) Wnt/ $\beta$ -catenin Signaling in Normal and Cancer Stem Cells. *Cancers (Basel)* **3**: 2050-2079.
50. Xing Y., Takemaru K.-I., Liu J., Berndt J.D., Zheng J.J., Moon R.T., Xu W. (2008) Crystal Structure of a Full-Length  $\beta$ -Catenin. *Cell* **16**: 478-487.
51. Xu W., Kimelman D. (2007) Mechanistic insights from structural studies of  $\beta$ -catenin and its binding partners. *Journal of Cell Science* **120**: 3337-3344.
52. Zhou K., Wang G., Wang Y., Jin H., Yang S., Liu C. (2010) The Potential Involvement of E-cadherin and  $\beta$ -catenins in Meningioma. *PLoS One* **5**: 1-6.

## 5. PRILOZI

### 5.1. POPIS KRATICA

APC – *Adenomatous polyposis coli*

Cdc42 – *Cell Division Cycle 42*

CDH1 – *Cadherin 1*

CK1 – Kazein kinaza 1 (*Casein kinase 1*)

CNS – središnji živčani sustav (*central nervous system*)

CTNNB1 – *Catenin Beta 1*

Dkk – *Dickkopf*

DNA – deoksiribonukleinska kiselina (*deoxyribonucleic acid*)

Dvl – *Dishevelled*

EMT – epitelno-mezenhimska tranzicija (*epithelial–mesenchymal transition*)

Fz receptor – *Frizzled receptor*

G-protein – *guanine nucleotide-binding protein*

GSK3 $\beta$  – glikogen sintaza kinaza 3 $\beta$  (*glycogen synthase kinase 3 $\beta$* )

JNK – *c-Jun N-terminal kinase*

LEF – *Lymphoid Enhancer Binding Factor*

LOH – gubitak heterozigotnosti (*loss of heterozygosity*)

LRP5/6 – *Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 or 6*

MET – mezenhimsko-epitelna tranzicija (*mesenchymal–epithelial transition*)

MMR – mismatch popravak (*mismatch repair*)

MRI – magnetska rezonanca (*magnetic resonance imaging*)

MSI – mikrosatelitna nestabilnost (*microsatellite instability*)

NF2 – Neurofibromatoza tip 2 (*Neurofibromatosis type II*)

PCP – *planar cell polarity*

PP1 – Protein fosfataza 1 (*Protein phosphatase 1*)

PP2A – Protein fosfataza 2A (*Protein phosphatase-2A*)

PR – *progesterone receptor*

Rac – *Rac family small GTPase 1*

RhoA – *Ras Homolog Family Member A*

RhoU – *Ras Homolog Family Member U*

ROR2 – *Receptor Tyrosine Kinase Like Orphan Receptor 2*

RYK – *Receptor-Like Tyrosine Kinase*

SFRP – *Secreted Frizzled-related protein*

TCF – *T-cell factor*

TLE1 – *Transducin Like Enhancer Of Split 1*

WHO – Svjetska zdravstvena organizacija (*World Health Organization*)

WIF – *Wnt inhibitory factor*

## Izjava o izvornosti

*Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.*

Ana Grubišić

---

ime i prezime studenta