

# Molekularno-biološki faktori razvoja tumora zametnih stanica testisa

---

Orešić, Sunčana

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

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

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:181410>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-03**



*Repository / Repozitorij:*

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



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

**Sunčana Orešić**

7310/BT

**MOLEKULARNO-BIOLOŠKI FAKTORI RAZVOJA TUMORA**  
**ZAMETNIH STANICA TESTISA**  
**ZAVRŠNI RAD**

**Predmet:** Biologija 1

**Mentor:** Doc. dr. sc. Tomislav Vladušić

**Zagreb, 2019.**

**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**

**Molekularno-biološki faktori razvoja tumora zametnih stanica testisa**

***Sunčana Orešić, 0058209356***

**Sažetak:** Tumori su i dan danas jedan od većih misterija medicine, posebice faktori i mehanizmi njihovog nastajanja i razvoja. Tumori testisa, specijalno zametnih stanica testisa, još uvijek su podosta nepoznat teritorij, unatoč visokoj razini proučenosti. Jedan su od vodećih uzroka smrtnosti muškaraca, a postaju i sve češći u populaciji. U radu ću se osvrnuti na dosad poznate molekularno-biološke faktore nastanka i razvoja tumora zametnih stanica testisa (genske promjene, epigenetske promjene, nasljednost i utjecaj vanjskih faktora) te na njihov značaj za sadašnjost i budućnost poznavanja, dijagnosticiranja i liječenja tumora.

**Ključne riječi:** ekspresija gena, epigenetika, neseminom, seminom, terapija, tumor zametnih stanica testisa

**Rad sadrži:** 23 stranice, 7 slika, 36 literarnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

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

**Mentor:** Doc. dr. sc. Tomislav Vladušić

**Datum obrane:** 15. srpnja 2019.

**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**

**Molecular-biological factors in development of testicular germ cells tumors**

***Sunčana Orešić, 0058209356***

**Abstract:** Up to this day, tumours remain one of the greatest medical misteries, especially their development factors and mechanisms. Testicual tumours, especially testicular germ cells tumours, are still quite an unknown territory, despite being highly studied. They are one of the leading causes of death amogst men, and their number is increasing. In this thesis, I will write about known molecular-biological factors of testicular germ cells tumor development (genetic alterations, epigenetic alterations, inheritance and enviromental factors) and their importance in the present and the future of knowing, diagnosing and treating tumours.

**Keywords:** epigenetics, gene expression, non-seminoma, seminoma, testicular germ cells tumor, therapy

**Thesis contains:** 23 pages, 7 figures, 36 references

**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:** Tomislav Vladušić, PhD, assistant professor

**Defence date:** July the 15th, 2019

## Sadržaj:

1. UVOD.....	1
1.1. SMJEŠTAJ I GRAĐA TESTISA .....	1
1.2. NEOPLAZME I TUMORI.....	2
2. TUMORI TESTISA.....	3
2.1. PODJELA I RAZLIKE U TIPOVIMA .....	3
2.2. SIMPTOMI I DIJAGNOSTICIRANJE .....	5
2.3. FAKTORI RAZVOJA TUMORA.....	6
2.3.1. VANJSKI FAKTORI.....	6
2.3.2. NASLJEDNOST .....	8
2.3.3. GENSKE PROMJENE.....	8
2.3.4. EPIGENETIKA.....	10
2.4. LIJEČENJE.....	14
2.4.1. OSJETLJIVOST NA TERAPIJU .....	14
2.4.2. SADAŠNJOST I BUDUĆNOST TERAPIJE .....	14
2.4.3. SPONTANA REGRESIJA TUMORA.....	19
2.5. POSLJEDICE TUMORA ZAMETNIH STANICA TESTISA.....	19
3. ZAKLJUČAK.....	20
4. LITERATURA:.....	21

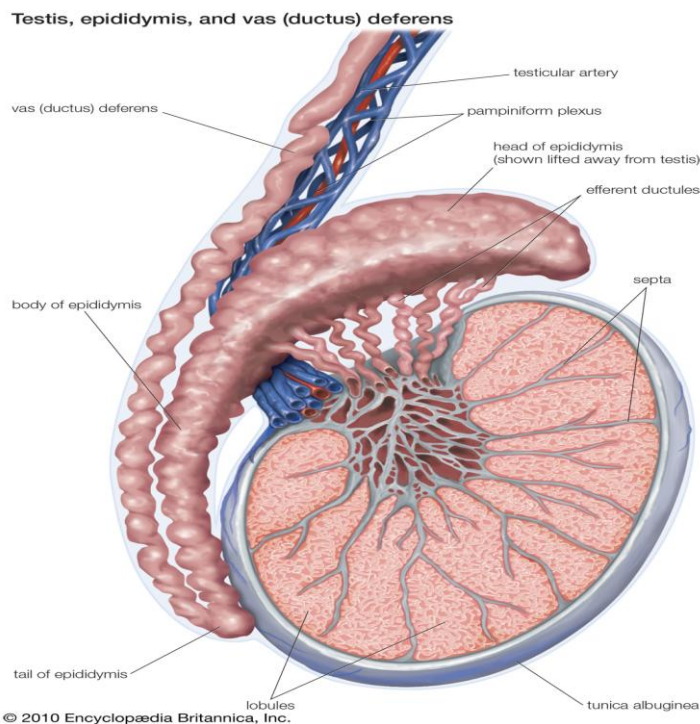
## 1. UVOD

### 1.1. SMJEŠTAJ I GRAĐA TESTISA

Testisi ili sjemenici su muške spolne žlijezde koje stvaraju sjemene stanice i izlučuju spolne hormone, a smješteni su u skrotumu. *In utero* se razvijaju u abdominalnoj šupljini te se prije rođenja ingvinalnim kanalima spuštaju u skrotum. Obavijeni su dvjema ovojnica: *tunica albuginea* obavija sam testis i prekrivena je *tunicom vaginalis*, a fibrozna *tunica albuginea* zalazi u unutrašnjost testisa tvoreći pregrade koje razdvajaju režnjeve testisa.<sup>[1]</sup>

Unutar testisa nalaze se sjemeni kanalići. U sjemenim kanalićima nalaze se zametne stanice koje se spermatogenezom razvijaju u spermije. Osim njih, u sjemenskim kanalićima nalaze se i Sertolijeve stanice, epitelne stanice ključne za održavanje stanica u spermatogenezi.<sup>[1]</sup>

Tkivo između sjemenih kanalića čini epitel koji sadrži Leydigove stanice te makrofage. Leydigove stanice koje luče testosteron i druge androgene hormone ključne su za razvoj testisa, spermatogenezu i karakteristična spolna obilježja organizma (libido, sekundarna spolna obilježja i dr.).<sup>[1]</sup>



Slika 1. Građa testisa

Izvor: <https://www.britannica.com/science/ductus-deferens>, pristupljeno 12.6.2019.

## 1.2. NEOPLAZME I TUMORI

Neoplazma je skup stanica nastala abnormalnom proliferacijom stanica krutih ili tekućih tkiva (npr. krv) koja se događa neovisno i nekoordinarno s okolnim tkivom. Sama neoplazma može biti benigna ili maligna. Malignu neoplazmu nazivamo kancerom (rakom). Neoplazme neprekidno rastu koristeći genske promjene i izbjegavaju apoptozu i imunološki odgovor organizma kao načine uništenja.<sup>[2, 3]</sup>

Tumori su skup različitih bolesti koje karakteriziraju nekontrolirana stanična dioba (proliferacija) i rast čvrstih tkiva. Rezultiraju abnormalnom promjenom ekspresije gena uključenih u stanični ciklus, rast, metabolizam i diferencijaciju stanica te nastaje masa nekontrolirano rastućeg tkiva. Zbog toga se smatra kako su molekularno-biološki faktori razvoja tumora usko vezani uz samu regulaciju ekspresije tih gena te je zasad široko prihvaćeno da su tumori posljedice promijenjene ekspresije gena i posljedično promijenjenih staničnih procesa, što dolazi kao rezultat izmijenjene DNA ili djelovanja drugih faktora poput virusa. Ono što dodatno karakterizira tumorske stanice je podložnost brojnim genskim i epigenetskim promjenama, puno veća nego u normalnih stanica. Takve promjene omogućavaju tumorskim stanicama razvoj obrambenih mehanizama, primjerice neovisnosti o drugim tkivima, ne dolazi do apoptoze te koriste imunski odgovor organizma kao izvor vlastitih faktora rasta. Također, konstantne promjene genoma čine i otkrivanje temeljnog uzroka razvoja samog tumora vrlo teškim. Bitno je naglasiti razliku u benignim i malignim tumorima. Benigni tumor je bilo kakva proliferirana masa stanica, dok maligne tumore definira invazija na druga tkiva u tijelu i metastaziranje na putem krvotoka ili limfnog sustava.<sup>[4]</sup>

TNM klasifikacija koristi se u opisivanju malignog fenotipa tumora, a govori o stupnju invazivnosti i uznapređivosti tumora. Troslovni kod opisuje veličinu i širenje primarnog tumora u okolna tkiva slovom T, postojanje lokalnih metastaza u limfnim čvorovima slovom N i postojanje udaljenih metastaza slovom M. U slučaju da se bilo koji od ta tri faktora ne mogu utvrditi, obilježavaju se slovom X (npr. NX – nije bilo moguće utvrditi postojanje lokalnih metastaza). Ako je za bilo koji od tri navedena faktora sa sigurnošću utvrđeno da ne postoje, obilježavaju se brojem 0 (npr. N0 – nema lokalnih metastaza), dok se za različite stadije napretka svaka od ta tri faktora koriste brojevi od 1 do najviše 5, pri čemu je 1 najmanje uznapređovali stadij, a 5 najviše uznapređovali stadij tumora.<sup>[5]</sup>

## 2. TUMORI TESTISA

Tumori testisa čine 60% tumora u muškaraca između 20 i 40 godina te su jedan od vodećih uzorka smrtnosti mlađih muškaraca.<sup>[6]</sup> Osim u razdoblju između 20 i 40 godina, moguća je pojava tumora zametnih stanica testisa u dječaka (infantilni tumori) i starijih muškaraca (pr. spermatocitični seminom). Tumori zametnih stanica testisa čine 95% tumora testisa, dok ostalih 5% otpada na tumore poput limfoma, kojima izvor nisu stanice testisa.<sup>[7, 8]</sup> Iako se generalno smatraju blagim tumorima zbog visoke stope izlječivosti, moguće je njihovo metastaziranje na urinarni trakt te cijeli abdomen, često i na udaljenije dijelove tijela poput pluća ili mozga. U slučaju metastaziranja prognoze se automatski pogoršavaju i pada vjerojatnost preživljenja pacijenta.<sup>[9]</sup>

Početak nastanka tumora zametnih stanica testisa smatra se razvoj neoplazme zametnih stanica *in situ*, mase proliferiranih zametnih stanica u sjemenim kanalčićima. One se razvijaju još *in utero*, kao posljedice neregularne ekspresije gena tijekom procesa diferencijacije stanica u spermatogonije. Ono što potakne neregularnu ekspresiju gena različiti su faktori, no najčešćima se smatraju hormonalni disbalans majke i fetusa te prisutnost toksina i mutagena u okolišu. Razvijena neoplazma zametnih stanica *in situ* može takva biti u stanju mirovanja sve dok njenu ponovnu proliferaciju ne potaknu vanjski faktori, najčešće u pubertetu, no moguće i prije.<sup>[8]</sup> Jedini tumor zametnih stanica testisa čiji se razvoj ne povezuje s prethodnim razvojem neoplazme zametnih stanica *in situ* je spermatocitični seminom, tumor koji se razvija kod starijih muškaraca (iznad 50 godina). Ono što je specifično kod ovog tipa tumora jest to da se razvija iz proliferiranih spermatogonija. Proliferacija spermatogonija je rijetka pojava te je i ovaj tumor isto tako rijedak i čini samo 1% tumora zametnih stanica testisa. Zbog rijetkosti, spermatocitični seminomi su dosta neistraženi, no sa sigurnošću se zna da nisu nastali iz primordijalnih zametnih stanica te da je vjerojatnost za metastaziranje puno manja kod spermatocitičnog seminoma nego kod drugih tumora zametnih stanica testisa.<sup>[8, 10]</sup>

### 2.1. PODJELA I RAZLIKE U TIPOVIMA

Iako su granice između podjela tumora zametnih stanica testisa mutne, generalno je priznata podjela tumora zametnih stanica testisa na dva histološka tipa: seminome i neseminome. Neseminomi se uglavnom pojavljuju kao miješani tumori, dakle sadrže komponente više podtipova. Također, postoje i kombinirani tumori zametnih stanica testisa



koji u svom sastavu imaju i seminomsku i neseminomske komponente. Osim što se razlikuju prema samoj građi stanica i tkivima koji ih tvore, razlikuju se prema otpornosti na kemoterapije te genskim i epigenetskim promjenama koje posjeduju.<sup>[2, 7, 8]</sup>

Zametne stanice testisa su stanice koje se razvijaju još *in utero* kod embrija starosti 4 do 6 tjedana iz matičnih stanica. Već tada, ukoliko su prisutne mutacije, može doći do pogrešaka u razvoju i diferencijacije stanica i tvorbe neoplazme. Opće je priznata pretpostavka kako se svi tumori testisa razvijaju iz neoplazme zametnih stanica *in situ* te dalje diferenciraju i proliferiraju u različite tipove ovisno o raznim faktorima. Ukoliko se te stanice ne diferenciraju tijekom daljnje proliferacije, razvija se seminom. Ukoliko se pak stanice neoplazme transformiraju u stanice nalik embrijskima te moguće diferenciraju, doći će do razvoja neseminomalnog tumora.<sup>[8]</sup>

Seminomi se najčešće razvijaju u kasnijim godinama života (40-e i 50-e) te se sastoje od homogene populacije gonocita. Seminomi su ono što bi se moglo nazvati „tipičnim tumorom“, maligna nakupina proliferiranih stanica te su svi, osim prije spomenutih spermatocitičnih seminoma, svojim sastavom morfološki jednaki neoplazmi zametnih stanica *in situ*.<sup>[8]</sup>

Neseminomi su pak češći među mlađim muškarcima i djecom, agresivniji te heterogenog sastava, uključujući diferencirane populacije stanica koje formiraju koriokarcinome, tumore žumanjčane vreće, teratome i embrijske karcinome<sup>[8, 11]</sup>. Koriokarciomi su iznimno rijetki karcinomi koji obično zahvate žene, najčešće trudnice, jako rijetko muškarce, a formiraju ga stanice slične trofoblastama, onima koje obično pomažu pri implantaciji fetusa u maternicu.<sup>[12]</sup> Tumori žumanjčane vreće također su rijetki te histološki neistraženi. Češći su u mlađoj populaciji, i muškoj i ženskoj, a formiraju ga tubularne i papilarne strukture te tumorske stanice nazvane Schiller-Duvalova tjelešca.<sup>[13]</sup> Teratomi su pak tvorbe nastale iz proliferiranih zametnih stanica koje su se diferencirale u različita tkiva poput koštanog i mišićnog. Također su rijetki u muškaraca i gotovo nikad se ne pojavljuju u čistom obliku, već kao komponenta miješanog tumora.<sup>[14]</sup> Tumori žumanjčane vreće i teratomi su poznati i među dječjim tumorima zametnih stanica testisa, s obzirom na to da većina oboljelih još nije prošla pubertet. U slučajevima dječjeg tumora zametnih stanica testisa, okidačem tako ranog razvoja tumora smatraju se hormonalni disbalans te izloženost endokrinim disruptorima, na koje su fetusi, dojenčad i djeca osjetljiviji nego odrasli.<sup>[15]</sup>



Slika 2. Testikularni teratom. Vidljiva diferencijacija u različita tkiva, poput hrskavice.

Izvor: <https://radiopaedia.org/articles/testicular-teratoma>, pristupljeno 2.7.2019.

## 2.2. SIMPTOMI I DIJAGNOSTICIRANJE

Simptoma nema puno, ali izazivaju pozornost. Problem je u tome što kad izazovu pozornost, često se radi o već uznapredovalome tumoru. Najčešći simptom je prisutnost kvržice na testisu, uobičajeno bez prisutnosti boli. U 20% slučajeva prvi simptom je bol u jednom ili oba testisa, od toga se u oko 27% slučajeva radi o lokaliziranoj boli. Kod 10% slučajeva prvi simptomi sličie orhidoepididimitisu, upali tkiva u testisima, dakle pojavljuju se otekline, crvenilo i bol. Kod takvih slučajeva obično se prvo i sumnja na upalu što dovodi do kasnijeg dijagnosticiranja samog tumora. Ukoliko je došlo do metastaziranja tumora, pojavljuju se i prateći simptomi poput bolnog uriniranja ako se radi o metastazi na urinarnom traktu. Ako muškarac ima čvrstu masu u testisu, pretpostavka je da se radi o tumoru, dok god se ne dokaže suprotno. Dakako, tumori se ne dijagnosticiraju samo na temelju fizičkih simptoma, moraju se provjeriti razine tumorskih markera u krvnom serumu. Za tumor zametnih stanica testisa prate se tri markera:  $\alpha$ -fetoprotein, enzim laktat-dehidrogenaza i hormon korionski gonadotropin. Ovisno o tipu tumora, razlikuju se tipične razine markera te se po njima može posumnjati u određeni tip tumora. Međutim, kod nekih pacijenata, razine markera su u normalni bez obzira na postojanje tumora. Zato je jedina sigurna metoda dokazivanja postojanja tumora vizualizacija. Ona se obavlja čim se

posumnja na postojanje tumora, putem ultrazvuka, CT skena ili magnetske rezonance, ovisno o smještaju tumora, iako je najčešći postupak jednostavni ultrazvuk. Ukoliko te pretrage potvrde postojanje tumora, obavlja se biopsija kako bi se utvrdilo o kojem se histološkom tipu tumora radi i u kojem je on stadiju razvoja. Nakon toga odlučuje se o primijenjenoj terapiji i mogućnosti operacije, iako je operacija, točnije uklanjanje testisa, od strane liječnika široko preporučena kao osiguranje od mogućnosti metastaza i sekundarnih malignih oboljenja.<sup>[9, 16]</sup>

Naravno, s obzirom na povećan rizik od oboljenja kod srodnika preživjelih pacijenata, muškima se potomcima i braći pacijenata preporučaju češći pregledi i testiranja razine tumorskih markera, s naglaskom na redoviti samopregled.<sup>[17]</sup>

### 2.3. FAKTORI RAZVOJA TUMORA

Iako nam mehanizmi razvoja nekih tumora pa tako ni tumora zametnih stanica testisa nisu u potpunosti poznati ni jasni, postoje faktori za koje sa sigurnošću možemo reći da utječu pozitivno na razvoj tumora, a to su vanjski i okolišni faktori, neke nasljedne promjene, te stečene genske i epigenetske promjene.

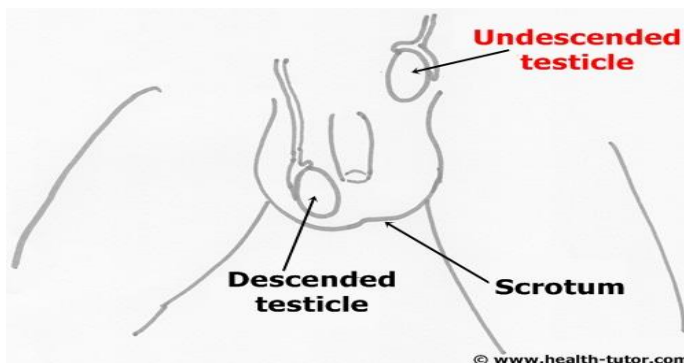
#### 2.3.1. VANJSKI FAKTORI

Vanjski, točnije okolišni faktori jako su značajni za vjerojatnost razvoja tumora. Postoje brojne varijable na koje čovjek ni ne može utjecati, a koje mogu povećati statističke šanse za razvoj bilo kojeg tumora pa tako i tumora testisa. Tumori testisa jedni su od onih tumora s izraženom specifičnom raspodjelom ovisnom o geografskom području života. Naime, statistički se tumor zametnih stanica testisa pojavljuje više u Europi i SAD-u nego u Africi, Aziji i Južnoj Americi, no nisu razjašnjeni razlozi tome.<sup>[2]</sup>

Postoji velik broj prenatalnih faktora za koje se smatra, no ne može se reći sa 100%-tnom sigurnošću, da mogu biti odgovorni za veće šanse za razvoj tumora zametnih stanica testisa. To su faktori poput majčinog pušenja u trudnoći, starosti majke, majčina težina tijekom trudnoće, prisutnost preeklampsije, majčine visoke razine estrogena u trudnoći i izloženosti fetusa istome te izloženosti majke drugim hormonima i mutagenim sredstvima.<sup>[2, 3]</sup> Naime, izloženost fetusa hormonima, pogotovo estrogenu, direktno utječe na razvoj zametnih stanica testisa, za čiji je normalni razvoj potrebna hormonalna ravnoteža.<sup>[18]</sup>

Majčino pušenje može dovesti do oštećenja DNA ploda te kao posljedicu izazvati razvoj tumora.<sup>[2]</sup>

Zdravstveno stanje osobe također ima značajan utjecaj. Bolesti i malformacije poput kriptorhidizma, testikularne mikrolitijaze, atrofije testisa, torzije testisa, hernija, ginekomastije, Downovog sindroma i Klineferterovog sindroma također utječu na mogućnost razvoja tumora testisa.<sup>[2, 11, 16, 17, 19]</sup> Uočena je značajno važna korelacija kriptorhidizma, zdravstvenog stanja kod kojega jedan ili oba testisa nisu spuštene u skrotum, s učestalosti razvoja tumora zametnih stanica testisa te su statistički izračunate 7 do 10 puta veće šanse za pojavu istoga kod muškaraca koji pate od kriptorhidizma.<sup>[4, 17]</sup> Mikrolitijaza, stanje u kojem dolazi do kalcifikacije sjemenih kanalića, najčešće sama ne može statistički značajno biti povezana s tumorom zametnih stanica testisa, međutim, ukoliko uz mikrolitijazu postoji još jedan od faktora poput kriptorhidizma, znatno je povećana šansa za njegov razvoj.<sup>[7]</sup> Klineferterov (dva ili više X kromosoma kod muškarca) i Downov sindrom (trisomija 21) su pak bolesti koje same po sebi već uključuju genske abnormalnosti te može doći do poremećaja u razvoju gonada.<sup>[16]</sup>



Slika 3. Prikaz stanja kriptorhidizma

Izvor: <https://www.health-tutor.com/cryptorchidism.html>, pristupljeno 12.6.2019.

Naravno, u današnjem svijetu, izloženost mutagenim sredstvima i endokrinim disruptorima je velika i sa sobom nosi povećan rizik za razvoj bilo kojih tumora.<sup>[17]</sup> Bilo da se radi o prenatalnoj izloženosti ili izloženosti tijekom života, ona će utjecati na ljudski organizam. Endogeni disruptori ometaju sintezu, transport, otpuštanje i vezanje endogenih hormona te time se mijenja njihova koncentracija, što za posljedice može imati morfološke i funkcionalne promjene u organizmu, jer su hormoni važni i jaki regulatori ekspresije gena.<sup>[2]</sup> Disruptor s najznačajnijom povezanošću s razvojem tumora zametnih stanica testisa je bisfenol A, supstanca korištena u proizvodnji različite robe, između ostalog i bočica za bebe.

Još jedan disruptor često se spominje kao riskantan, a to je dietilstilbestrol, sintetski estrogen, korišten u lijekovima za sprječavanje spontanog pobačaja i za čuvanje trudnoće. Izloženost dietilstilbestrolu povećava šanse za razvoj svih tipova tumora od 2.8 do 5.3%.<sup>[2, 7, 8]</sup> Još neki mutageni su UV-zrake koje potiču stvaranje pirimidinskih dimera u DNA i tako narušavaju njenu strukturu te ionizirajuća zračenja koja uvode lomove u DNA. Upravo se izloženost "modernim" mutagenima smatra, uz okolišne faktore, jednim od odgovornih faktora za češću pojavu tumora zametnih stanica testisa, pogotovo u razvijenim zapadnim zemljama poput skandinavskih zemalja, Švicarske i Njemačke.<sup>[2, 3, 7, 8, 18]</sup>

### 2.3.2. NASLJEDNOST

Tumori testisa treći su tumori po nasljednosti, s posebno visokom stopom nasljednosti u ljudi i miševa u odnosu na druge tumore.<sup>[19]</sup> Sinovi očeva koji su imali tumor testisa imaju četiri do šest puta veću šansu, a braća pogođenog osam do deset puta veću šansu za razvoj tumora testisa.<sup>[17]</sup> Naime, zametne stanice testisa su stanice koje nasljeđuju epigenetske informacije od roditelja, a one su bitne u razvoju tumora, kao što ćemo vidjeti u nastavku rada. Također, može doći do nasljeđivanja već mutiranih gena i specifičnih gena koji se nalaze na X i Y kromosomu, a koji su primijećeni kao često mutirani, "problematici" geni kod tumora zametnih stanica testisa.<sup>[19]</sup>

### 2.3.3. GENSKJE PROMJENE

Brojne genske promjene nešto su što prati svaku pojavu tumora. Od velikih kromosomskih mutacija sve do mutacija jednog nukleotida, genske promjene utječu na funkcioniranje stanice, često negativno. Mutacije povezane s karcinomima obično rezultiraju proliferacijom stanica te utječu na stanični ciklus i apoptozu. Također, vidljive su razlike u genskim promjenama između različitih tipova tumora zametnih stanica testisa te između tumora u različitim stadijima razvoja. Iako je među tumorima zametnih stanica testisa diverzitet genskih promjena čest i velik, neki uzorci postoje i znanstvenici svaki dan pokušavaju iz njih izvući zaključke te doći do novih saznanja.

Prvo ćemo spomenuti promjene jednog gena, za njih 5 najčešće izmjenjenih. Osim ovih koje ćemo spomenuti, česte su i mutacije gena *FGFR3*, *HRAS*, *PTEN*, *SIK1*, *SMAD4*, *STK10* i *STK11*.<sup>[3]</sup>

Najčešća mutacija jednog gena je mutacija *KIT* gena. KIT protein je tirozin kinazni receptor i važan u KITLG/KIT signalom putu. KITLG/KIT signalni put jedan je od važnijih u procesu sazrijevanja zametnih stanica i njihovog formiranja. Tijekom normalne

diferencijacije, ekspresija gena s ulogom u tom signalnom putu smanjuje s napretkom procesa. Normalni spermatogoniji ne pokazuju ekspresiju *KIT* gena, dok je ona primijećena u gotovo svim neoplazmama, većini seminoma i nekim neseminomima. Osim toga što dolazi do proliferacije stanica zbog mutacije *KIT* proteina, pojačanom ekspresijom gena tog puta dolazi i do supresije gena *BAK1*, tumor supresor gena koji regulira apoptozu. Dakle, mutacije u *KITLG/KIT* signalnom putu osiguravaju proliferaciju i „besmrtnost“ tumorskih stanica. Također, smatra se kako mutacije *KIT* gena iniciraju nastanak tumora te se spekulira o njihovim ulogama u kemorezistenciji na cisplatin. U istu skupinu gena spadaju i geni *NANOG*, *SOX17* i *POU5F1*, geni važni za embriogenezu. Sve su te mutacije česte u neoplazmama te ih se zato smatra pokretačima stvaranja tumora.<sup>[3, 6, 18, 20, 21]</sup>

Profil genskih promjena potpuno razvijenih tumora ima pak svoje specifičnosti. Uz mutacije već spomenutih gena, primijećene su, iako s relativno malom zastupljenošću, mutacije *KRAS* i *NRAS* gena, odgovornih za proliferaciju, migraciju i diferencijaciju stanica. Oni kodiraju za proteine koji su par tirozin kinaznih receptora. Oni se kao i neki drugi geni mutirani kod tumora testisa, nalaze na kromosomu 12. Mutacije gena *KRAS* pronađene su u oko 20% svih karcinoma. Dakle, *RAS* geni su općenito onkogeni i odgovorni za procese razvoja tumorskih stanica te mutacije u njihovim kodonima izazivaju promjene u signalnim putevima te je krajnja posljedica nekontrolirani rast.<sup>[2, 3, 21, 22]</sup>

Osim *RAS* gena, mutacija koja je bila rijetka u tumora zametnih stanica testisa, no sve je češća u zadnje vrijeme, više u neseminoma, je i mutacija gena *TP53*. *TP53* gen je tumor supresor gen koji se nalazi na kromosomu 17p13 i kodira za protein p53, protein s ulogom u regulaciji staničnog ciklusa. Mutacija *TP53* gena dovode do sinteze nefunkcionalnog proteina p53 i onemogućuju njegovo reguliranje staničnog ciklusa i popravljavanje DNA, koje bi rezultiralo apoptozom abnormalnih stanica.<sup>[2, 3]</sup> Osim mutacija, čest je gubitak heterozigotnosti za taj gen, dakle gubitak jedne njegove kopije. Ukoliko je gen *TP53* nemutiran i aktivan, postoji mogućnost za njegovu pojačanu aktivaciju ciljanom terapijom, čime se aktivira signalni put koji tumorske stanice vodi do apoptoze.<sup>[2]</sup>

Posljednji gen o kojem ćemo pričati u kontekstu mutacije jednog gena je *BRAF* gen. On je lociran na kromosomu 7q34 i kodira za protein BRAF. BRAF je protein iz RAF skupine serin/treonin kinaza i ima ulogu u regulaciji signalnog puta MAP kinaza/ERK, koji utječe na diferencijaciju i proliferaciju stanica. U nedavnim istraživanjima pokazana je i korelacija ekspresije *BRAF* gena i kemorezistencije na terapiju cisplatinom.<sup>[3]</sup>

Iako histološki tipovi tumora pokazuju visoku sličnost u aberacijama, postoje i mutacije koje su „potpisi“ određenih tipova tumora. Primjerice, mutaciju na genu *LZTS1* imaju samo seminomi, na genu *CGA* isključivo koriokarcinomi, dok embrionalni karcinom, karcinom žumanjčane vreće i teratom imaju više od jednog mutiranog gena specifičnog samo za te tipove tumora.<sup>[3, 17]</sup>

Jedna od linija obrane ljudskog organizma su MMR (eng. mismatch repair) geni. To su geni koji su odgovorni za ekspresiju proteina koji ispravljaju krivo sparane bazne parove u DNA, primarno tijekom replikacije. Ukoliko su ti geni mutirani ili ne dolazi do njihove ekspresije, smanjuje se vjerojatnost da će mutacije jednog nukleotida biti ispravljene te se povećava vjerojatnost za ekspresiju mutiranih gena i sintezu modificiranih proteina. Najčešće mutirani u karcinomima generalno su geni *MSH2* i *MLH1*, a njihova se mutacija i smanjena ekspresija pronašla i u tumorima zametnih stanica testisa. Također, nekoliko istraživanja našlo je statistički značajne poveznice mutacija tih gena i kemorezistencije tumora.<sup>[23]</sup>

Osim mutacija jednog ili više gena, važno je spomenuti kromosomske mutacije. Jedna od najpoznatijih te najčešćih (pojavljuje se u oko 80% tumora zametnih stanica testisa) je duplikacija dijela kraćeg kraka kromosoma 12 (12p) te amplifikacija nekih genskih regija na njemu. Važno je spomenuti kako ta mutacija dosad nije primijećena u neoplazmi zametnih stanica *in situ*, već samo u tumorima, što nam govori da ta mutacija nije neophodna za razvoj neoplazme zametnih stanica *in situ*. Spekulira se o ulozi gena na 12p u procesu diferencijacije i rasti tumorskih stanica. Od prije spomenutih gena, često mutiranih u tumorima testisa, na dupliciranom 12p području se nalaze onkogeni *KIT*, *KRAS*, *NRAS* i *NANOG*. Što točno pokreće proces duplikacije i amplifikacije kromosoma 12p još ostaje nerazjašnjeno.<sup>[2, 3, 7, 8, 18]</sup>

Uz mutaciju kromosoma 12p primijećeni su dobitci kromosoma 1, 2, 7, 8, 14, 15, 17, 21 i X te gubitci kromosoma 4, 5, 11, 13, 18 i Y. Neseminomi obično pokazuju gubitke kromosoma, dok su seminomi često hipertriploidni. Također, kao i kod mutacija gena, neke studije su pokazale mogućnost kromosomskih mutacija koje su specifične samo za određene histološke tipove tumora testisa, no one su provedene na malom broju ispitanika te njihovi rezultati moraju biti potvrđeni na širem broju pacijenata te prihvaćeni od strane znanstvene zajednice.<sup>[2, 3]</sup>

#### 2.3.4. EPIGENETIKA

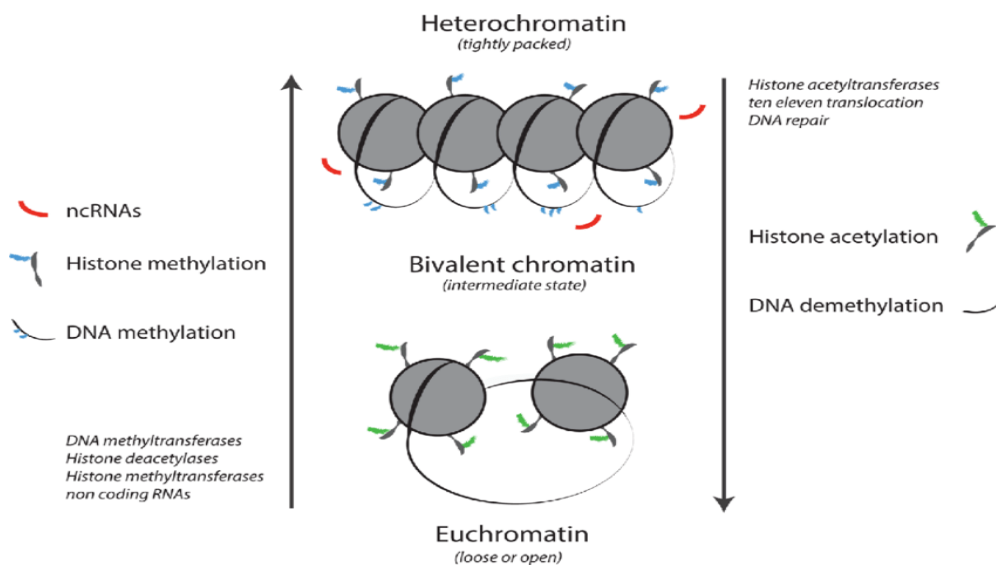
Pojam epigenetika odnosi se na nasljedne promjene fenotipa koje ne uključuju promjene u samom DNA slijedu. Kada se priča o epigenetskim faktorima razvoja tumora, priča se o metilaciji DNA, posttranslacijskim modifikacijama histona, pozicioniranju nukleosoma duž DNA uzvojnice i regulaciji nekodirajućim RNA molekulama, pogotovo s pomoću miRNA. Sve te promjene utječu na regulaciju ekspresije gena, pogotovo onih važnih za regulaciju staničnog ciklusa, proliferacije i diferencijacije.<sup>[3]</sup>

Metilacija DNA je proces adicije metilne skupine na nukleinske baze u DNA te se time regulira transkripcija DNA bez mijenjanja samog redoslijeda baza. Uobičajeno, metilirana DNA neće se transkribirati te je manje podložna oštećenjima i promjenama. Tumori zametnih stanica testisa imaju jedinstven profil metilacija, ovisno o tipu tumora. Dosad je primijećeno kako se u seminoma redovito vidi hipometilacija DNA, ponekad metilacije niti nema, posebno na onkogenima (*KITLG*, *RAS* geni), dok su kod neseminoma vidljive hipermetilacije, pogotovo na promotorima tumor supresor gena (*BAK1*). Međutim, mali broj seminoma pokazuje hipermetilaciju genoma, slično neseminomima. Osim što štiti DNA, metilacija utječe i na ekspresiju gena koji reguliraju mehanizme poput staničnog ciklusa, apoptoze i odgovora na hormone. Međutim, sve primordijalne zametne stanice tijekom gestacije prolaze proces demetilacije DNA te se spekulira o tome da je posljedična neuobičajena kombinacija aktiviranih i inaktiviranih gena jedan od faktora nastanka neoplazme. Normalne zametne stanice testisa naime ponovo imaju metiliranu DNA, dok se u neoplazmi zametnih stanica *in situ* primijećuje nedostatak te remetilacije. Sukladno tome, postoje hipoteze koje kažu da su seminomi razvijeni iz neoplazmi koje su izgubile metilaciju DNA u stanicama, a neseminomi razvijeni iz neoplazme nakon pretjerane *de novo* metilacije stanica. Status same metilacije stanica ovisi o genima *DNMT1*, *DNMT3A* i *DNMT3B* koji kodiraju za enzime skupine DNA-metiltransferaza, koji kataliziraju samu reakciju metilacije. Također, smatra se kako je hipermetilaciju moguće povezati s kemorezistencijom tumora, dok hipometilirani tumori, najčešće seminomi, pokazuju osjetljivost na kemoterapiju cisplatinom, jer kao što je spomenuto prije, metilacija štiti DNA od promjena koje se pokušavaju uvesti korištenjem cisplatina.<sup>[3, 7, 8, 21, 24]</sup>

Sljedeća skupina epigenetskih promjena koja se ističe u genskim profilima tumora zametnih stanica testisa su modifikacije histona, proteina oko kojih se omota dvostruka DNA uzvojnica te se tako formira nukleosom, osnovna jedinica kromatina u eukariota. Svaki nukleosom ima jezgru od 4 para histonskih oktamera (H2A, H2B, H3 i H4) i njihove poveznice H1. Modifikacije histona uključuju metilaciju, acetilaciju, fosforilaciju, ubikvitinaciju, sumoilaciju i ADP ribozilaciju. Te modifikacije utječu na regulaciju ekspresije



gena, jer eukromatin (manje sabijen) i heterokromatin (jače sabijen) nisu jednako podložni transkripciji. Eukromatin se transkribira, a heterokromatin ne. Hoće li kromatin biti sabijen i koliko jako, ovisi o histonima i modifikacijama istih. Tako je primijećeno da se neke histonske modifikacije mogu pratiti kao tumorski markeri u više vrsta tumora pa tako i u tumorima zametnih stanica testisa. Metilacija dva lizina histona H3 pronađena je u svim histološkim tipovima ne seminoma te su u ne seminomima općenito visoke razine metilacije histona. Također, primijećeno je kako kod neoplazmi nema histonskih modifikacija koje bi rezultirale represijom određenih gena. Predložena je i hipoteza da su dimetilacije arginina na histonima H2A i H4 mehanizmi kojima seminomi i neoplazme održavaju svoje stanice nediferenciranima te da njihov gubitak rezultira diferencijacijom stanica i mogućim razvojem ne seminoma.<sup>[2, 7, 8, 24]</sup>



Slika 4. Prikaz odnosa heterokromatina i eukromatina te ovisnost stupnja kondenzacije o posttranslacijskim modifikacijama

Izvor: [https://www.researchgate.net/figure/Chromatin-exists-as-euchromatin-or-heterochromatin-with-an-intermediate-bivalent-state\\_fig1\\_320116105](https://www.researchgate.net/figure/Chromatin-exists-as-euchromatin-or-heterochromatin-with-an-intermediate-bivalent-state_fig1_320116105), pristupljeno 15.6.2019.

Regulacija ekspresije gena pomoću malih nekodirajućih RNA relativno je novi predmet proučavanja znanosti, pogotovo kada je u pitanju njena uloga u karcinogenezi. RNA (ribonukleinska kiselina) je makromolekula sličnog sastava kao DNA (slijed nukleotida povezanih fosfodieterskim vezama) i različiti tipovi RNA imaju različite uloge u regulaciji staničnih procesa. Glasnička RNA (mRNA) nastaje prepisivanjem genske upute s DNA i preko

procesa translacije sudjeluje u ekspresiji gena. Transportna RNA (tRNA) također sudjeluje u procesu translacije. S druge strane, RNA molekule poput microRNA i siRNA provode regulaciju ekspresije gena preko vezanja na mRNA. Također, microRNA, siRNA i PIWI-interaktivne RNA sudjeluju u diferencijaciji muških gameta te se pretpostavlja da imaju ulogu i u samom procesu karcinogeneze tumora zametnih stanica testisa. Na aktivnost malih nekodirajućih RNA može utjecati i njihova metilacija, čime je vidljiva međusobna povezanost epigenetskih promjena. Tako je primijećeno kako u tumorima redovito dolazi do hipermetilacije malih RNA u neoplazmama, čime se smanjuje njihova aktivnost i utječe na diferencijaciju stanica.<sup>[7, 8]</sup>

PIWI/piRNA signalni put važan je za diferencijaciju stanica te je primijećeno kako je u neoplazmi zametnih stanica *in situ* i tumoru zametnih stanica testisa ekspresija gena tog puta niska. Taj put odgovoran je za supresiju ekspresije transpozona i posttranskripcijsku regulaciju gena. Manjak njegove ekspresije povezan je s metilacijom promotora gena tog puta, dakle jedna epigenetska promjena dovodi do druge te zajedno mogu rezultirati promjenama koje vode ka tumoru. Također, primijećeno je kako postoji razlika u ekspresiji gena PIWI/piRNA puta između seminoma i neseminoma. U seminomima je razina ekspresije niža, što je i logično s obzirom na razliku u diferenciranosti stanica između dva tipa tumora. Ono što je također zanimljivo je da su kod neplodnih muškaraca primijećene iste te promjene smanjenja ili potpunog manjka ekspresije gena PIWI/piRNA signalnog puta.<sup>[8, 24, 25]</sup>

MicroRNA (miRNA), je mala RNA koja se sintetizira transkripcijom s kodirajućeg ili nekodirajućeg lanca DNA i procesira u jezgri, a zatim odlazi u citoplazmu gdje interferira u proces translacije tako što se veže na komplementarne baze na mRNA te time ili inducira ili reprimira sintezu određenih proteina pa tako i onkogenih i tumor supresorskih. Indirektno dakle, miRNA također sudjeluju u regulaciji staničnog ciklusa, apoptoze i proliferacije stanica te poremećaji u njihovoj ekspresiji mogu voditi do razvijanja tumora. Četiri microRNA (miR-371a-3p, miR-372-3p, miR-373-3p and miR-367-3p) su predložene kao markeri za tumore testisa jer im je razina znatno povećana kod svih tumora u odnosu na normalne stanice testisa. Jedina iznimka u tome je teratom, kod kojeg nema povećane razine miRNA u serumu, već je ona u normalnim granicama.<sup>[7, 8, 24]</sup>

Male interferirajuće RNA koje potječu od tRNA (si-RNA) također imaju ulogu u regulaciji ekspresije gena. One nastaju iz tRNA djelovanjem specifičnih endonukleazi u stresnim uvjetima za stanicu. Način njihovog djelovanja još nije potpuno jasan, ali znamo da utječe na proliferaciju stanica, pretpostavlja se tako da zaustavlja translaciju. Također, smatra se kako njihovu aktivnost potiče protein PIWI vezanjem tih RNA na sebe. U

tumorskim stanicama smanjena je prisutnost kako malih interferirajućih RNA, tako i PIWI proteina, što dovodi do zaključka da proliferacija stanica neće biti spriječena.<sup>[26]</sup>

## 2.4. LIJEČENJE

Liječenje tumora zametnih stanica testisa je, baš kao i liječenje drugih tumora, još uvijek područje svakodnevnog istraživanja znanosti. „Lijek protiv raka“ još uvijek ne postoji, ali razvili smo terapije koje su katkad podosta uspješne, kemoterapiju, radioterapiju, hormonalnu terapiju te ciljanu terapiju. Sve terapijske tehnike razvijaju se iz dana u dan. Uz terapiju, operativni zahvati također su konstantno sve uspješniji.

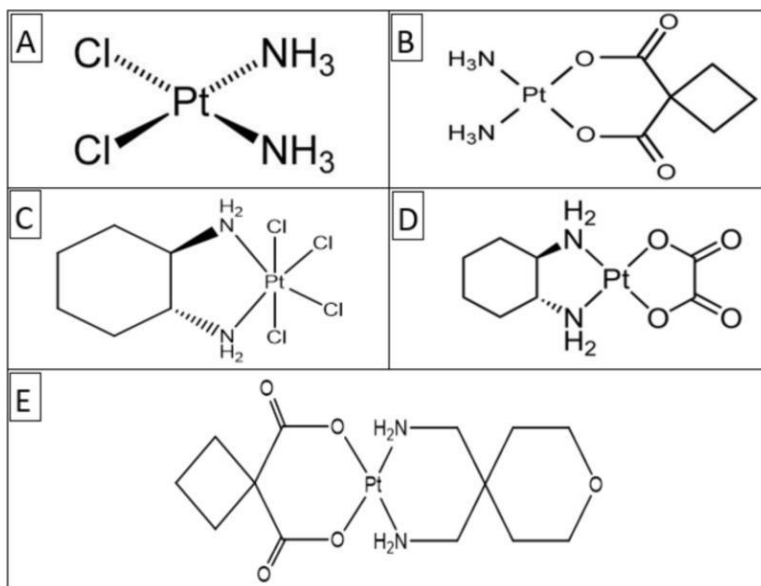
### 2.4.1. OSJETLJIVOST NA TERAPIJU

Iako tumori zametnih stanica testisa spadaju u one s najvišim stopama izlječivosti (95%), tisuće muškaraca, pogotvo mlađih, zbog njih umire svake godine. Najveću osjetljivost tumori testisa pokazuju na kemoterapiju cisplatinom (80% tumora), uz iznimku teratoma, koji su rijetko osjetljivi na kemoterapiju. Pretpostavka je da su razlike u osjetljivosti utemeljene na razini diferencijacije stanica unutar samog tumora te su shodno tome seminomi puno osjetljiviji od neseminoma te su prognoze bolje za pacijenata koji pate od seminoma. Sama kemorezistencija rijetka je pojava te nije pretjerano istražena. Pojava kemorezistencije regulirana je vjerojatno različitim mehanizmima: mutacijama jednog gena, ekspresijom gena i epigenetskim promjenama. Kemoterapija je tretiranje stanica kemijskim agensima, najčešće cisplatinom, koje se ugrađuje u DNA i mijenjaju njenu strukturu, što dovodi do odgovora stanice, najčešće u obliku zastoja staničnog ciklusa i apoptoze. Kod kemorezistentnih stanica ne dolazi do tih staničnih odgovora, što je povezano s mutacijama i regulacijom ekspresije tumor supresor gena i gena koje reguliraju stanični ciklus. Također, hipermetilirana DNA zaštićena je od djelovanja cisplatina te su tumorske stanice čija je DNA hipermetilirana često kemorezistentne. Kod stanica osjetljivih na terapiju su pak često pojačano ekspimirani geni poput *TP53* i *XRCC2* koji kodiraju za proteine s važnom ulogom u apoptozi te je ekspresija gena važnih za popravak DNA poput gena *CLPTM1L* manja u odnosu na normalu.<sup>[8, 27]</sup>

## 2.4.2. SADAŠNJOST I BUDUĆNOST TERAPIJE

Trenutno najčešće korištena terapija za tretiranje tumora zametnih stanica testisa jest kemoterapija cisplatinom. Cisplatin, točnije cis-diamindikloroplatina, je jedan od najpoznatijih kemoterapeutika i koristi se u liječenju tumora glave i vrata, pluća, mjehura te jajnika i testisa. Sintetski je spoj, nastao prvi put u 19-om stoljeću. Kroz eksperimente primijećeno je da inhibira diobu bakterije *Escherichia coli* te se došlo do zaključka da bi spoj mogao biti korišten u svrhu liječenja karcinoma, no široko se počeo koristiti u medicini tek 1960-ih. Djeluje tako što se kovalentno veže na purinske baze u DNA i tako mijenja njenu strukturu do nepopravljivosti te su stanice prisiljene na apoptozu. Također, dolazi i do njegovog vezanja na mnoge stanične proteine i utjecaja na stanični ciklus, metabolizam i ekspresiju gena (reaktivacija ekspresije tumor supresor gena). Međutim, kao i svaki lijek, ima nuspojave koje uključuju probleme s bubrezima, krvarenja, pad imuniteta, alergijske reakcije, gastrointestinalne probleme te gubitak sluha. Zbog toga se konstantno pokušava raditi na novim i boljim lijekovima na bazi platine (karboplatin, oksaliplatin) te se često koristi kombinacija kemoterapije s drugim terapijama kako bi toksičnost bila što manja te kako bi se prevladala mogućnost razvitka rezistencije na terapiju. Kod liječenja tumora testisa, cisplatin se kombinira s još dva lijeka: metotreksatom i bleomicinom.<sup>[3, 28]</sup>

Karboplatin djeluje sporije i nešto je manje reaktivan s DNA (8-45 puta manje), ali toksičnost mu je puno niža nego kod cisplatina, pogotovo nefrotoksičnost. Također, kisele tvari na bazi platine se istražuju kao lijekovi, a njihova velika prednost nad cisplatinom je ta da djeluju i na stanice u mirovanju, dok cisplatin može djelovati efektivno samo na mitotski aktivne stanice.<sup>[28]</sup>

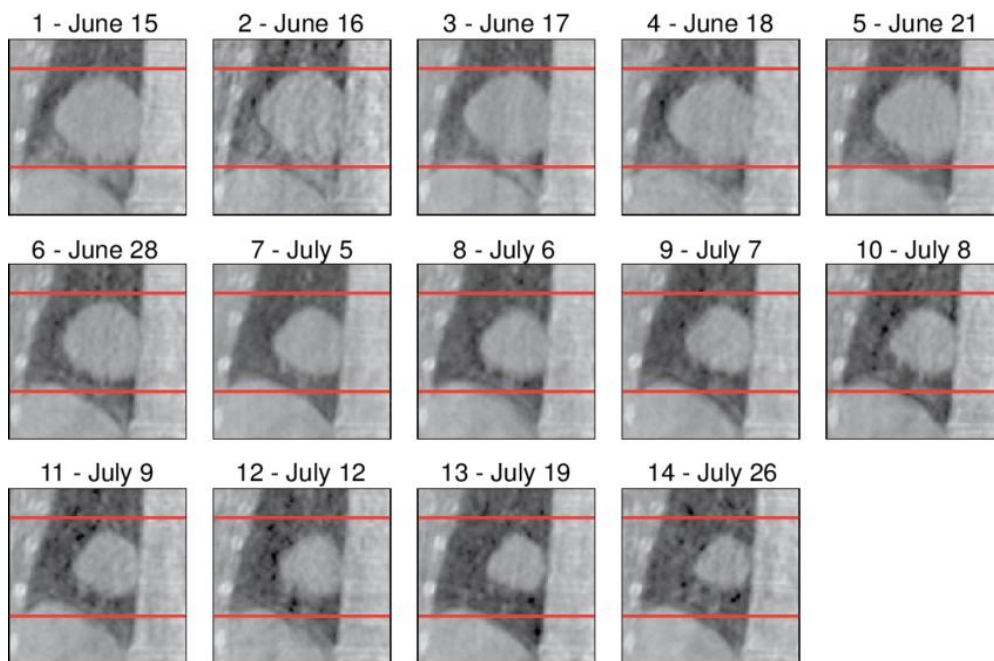


Slika 5. Kemijske strukture lijekova na bazi platine: A-cisplatin, B-karboplatin, C-oksaliplatin, D-ormaplatin, E-enloplatin

Izvor: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4146684/>, pristupljeno 17.6.2019.

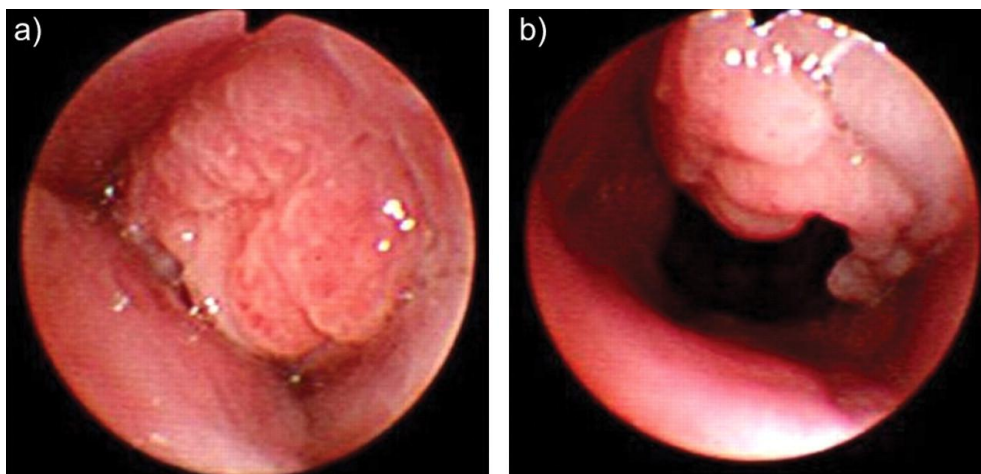
Radioterapija ili terapija zračenjem najčešća je terapija neoplazmi, 50-60% pacijenata ju zahtjeva u kombinaciji s još nekom vrstom terapije pa tako i pacijenti s tumorom testisa. Radioterapija uključuje zračenje dobro proračunatom dozom ionizirajućeg elektromagnetskog zračenja (X-zrake,  $\gamma$ -zrake) također proračunom određenog, što užeg anatomskog područja, sve s ciljem uništavanja malignih stanica bez oštećenja normalnog tkiva. X-zrake otkrivene su 1895. te se njihov potencijal za borbu protiv karcinoma počeo iskorištavati nedugo nakon toga. Zračenje djeluje tako što ioniziranjem baza i šećera izaziva pucanje kemijskih veza i tako oštećuje DNA toliko da stanica ne može sva oštećenja popraviti, što vodi u apoptozu. Ono što olakšava činjenicu da zračenje oštećuje i normalne stanice jest to da normalne stanice popravke DNA provode brže i efikasnije od tumorskih stanica. Terapija zračenjem se najčešće kombinira s operacijom, a ne preporuča se jedino pacijentima koji žele sigurno ostati plodni zbog mogućeg oštećenja zdravih stanica. Ukoliko se provodi prije operacije, cilj terapije je smanjiti tumor, a ukoliko se provodi poslije operacije, cilj je uništiti moguće zaostale mikroskopske tragove tumora. Novije metode zračenja uključuju zračenja česticama (elektroni, protoni, neutroni), koje imaju veću energiju nego elektromagnetske zrake, ali ne prodiru duboko u tkiva. Elektromagnetsko zračenje koristi zrake prosječne energije od 1,25 MeV, dok čestice mogu biti energije do 18 MeV. Nove

tehnologije imaju u cilju terapiju zračenjem što bolje fokusirati na tumore i minimizirati oštećenja normalnog tkiva. Tako, osim klasičnog zračenja, postoji i opcija ugrađivanja ili umetanja radioaktivnog izvora u tijelo (brahiterapija), direktno do samog tumora, što omogućava korištenje veće energije na manjem području te skraćeno trajanje same terapije.<sup>[29, 30]</sup>



Slika 6. Prikaz smanjenja tumora kroz ciklus zračenja

Izvor: [https://www.researchgate.net/figure/10-An-example-to-show-tumor-shrinkage-during-radiotherapy-treatment-14\\_fig6\\_254851601](https://www.researchgate.net/figure/10-An-example-to-show-tumor-shrinkage-during-radiotherapy-treatment-14_fig6_254851601), pristupljeno 17.6.2019.



Slika 7. Prikaz tumora u dušnici: a) prije prvog tretmana brahiterapije b) prije drugog tretmana brahiterapije (3 tjedna nakon prvog tretmana)

Izvor: <https://erj.ersjournals.com/content/28/1/200>, pristupljeno 24.6.2019.

Hormonalna terapija je novija terapija od radioterapije i kemoterapije, no to ju ne čini manje efikasnom ili sigurnom. Primjenjuje se na hormonalno responzivnim tkivima poput dojki, jajnika, prostate pa tako i testisa, iako primjena kod tumora testisa nije široka ni duboko istražena. Na tumor se djeluje utjecanjem na dozu hormona (pozitivnim ili negativnim, ovisno o slučaju) kojeg tkivo inače luči ili na koje reagira te se tako djeluje na ekspresiju gena, što dovodi do prestanka rasta stanica tumora ili čak stanične smrti. Testisi luče androgene hormone, primarno testosteron te malo estrogenih hormona. Oni spadaju u steroidne hormone, jake i efektivne regulatore ekspresije gena te bi se, ovisno o pacijentu i njegovom hormonalnom stanju, mijenjanjem hormonalnog balansa trebalo postići stanje stagnacije rasta tumora. Ono što je važno naglasiti je kako hormonalna terapija još nikako ne može biti terapija sama za sebe, već se mora koristiti u kombinaciji s drugim terapijama, no s obzirom na konstantno razvijanje znanosti, ima puno mjesta i vjerojatnosti za napredak.<sup>[31, 32]</sup>

Zadnja, ujedno i najnovija vrsta terapije tumora jest ciljana terapija. To je terapija u kojoj se ne djeluje na tumor ili stanice u cjelini, već na ciljane gene ili proteine te kao posljedica dolazi do uništenja stanica tumora. Njen napredak ubrzao se kroz zadnjih 20 godina otkrićem onkogenih i tumor supresorskih gena te sekvencioniranjem ljudskog genoma. Djeluje na principu usko specijaliziranih lijekova ili monoklonskih protutijela koji zaustavljaju proliferaciju, reguliraju stanični ciklus, induciraju apoptozu ili su pak toksični za same stanice, a njihova se aktivnost potiče tek vezanjem za metu, dakle gen ili protein. Rezultati bi trebali biti smanjenje veličine i aktivnosti tumora ili stanična smrt i uništenje istoga. Trenutni rezultati konstantnih kliničkih ispitivanja su miješane uspješnosti, no zbog toga se još uvijek ciljana terapija također kombinira s drugim terapijama. Trenutno odobrenih ciljanih terapija od strane FDA ima 25 te ih je još 15 u kasnoj fazi razvoja pred odobrenje, ali ni jedna od njih nije terapija za tumor zametnih stanica testisa, na njihov se razvoj još uvijek čeka.<sup>[27, 33, 34]</sup>

Operacija je često zadnja opcija uklanjanja tumora, specijalno tumora zametnih stanica testisa, zato što se ne uklanja samo tumor, već se mora ukloniti cijeli testis, što se želi izbjeći s obzirom na njegovu važnu ulogu kao gonade. Operacija uklanjanja testisa naziva se orhiektomija. Moguće su komplikacije poput krvarenja, infekcije, hipoestezije i neuralgije, a pacijentima mora biti i ponuđena opcija prostetskog testisa. Također, nakon operacije potrebna je provjera razine hormona u organizmu te uzimanje hormonskih suplementa ukoliko dođe do poremećaja hormonalnog balansa.<sup>[16]</sup>



### 2.4.3. SPONTANA REGRESIJA TUMORA

Spontana regresija tumora zametnih stanica testisa dobro je poznata, no nedovoljno istražena pojava. Češća je u neoplazmi zametnih stanica *in situ* i seminoma nego neseminoma i često potaknuta početkom kemoterapije cisplatinom. Histološki nije potpuno jasno kojim mehanizmima dolazi do regresije, ali pretpostavlja se da dolazi do indukcije ekspresije tumor supresor gena i apoptoze stanica, djelovanjem bilo vanjskih, bilo genskih faktora. Također, ukoliko je tumor metastazirao, šanse za spontanu regresiju su manje.<sup>[35]</sup>

### 2.5. POSLJEDICE TUMORA ZAMETNIH STANICA TESTISA

Nakon samog povlačenja tumora ostaju okom vidljivi i mikroskopski ožiljci na prethodno tumorom zahvaćenom tkivu. Ukoliko se radi o vidljivim ožiljcima, to su najčešće lezije na samim testisima, rijetko vidljive nakupine tkiva. Mikroskopski ožiljci su češći nego vidljivi ožiljci i mogu biti različitih oblika i struktura. Viđeni su fibrozni ožiljci, nakupine hijalina i kolagena i kalcificirani ožiljci, često popraćeni povećanim vaskularitetom u području na kojem se nalaze. Ukoliko je povlačenje tumora rezultat spontane regresije, vrlo je vjerojatno da će doći i do atrofije testisa, međutim do nje može doći i nakon terapije ili kirurškog uklanjanja tumora. Osim toga, moguć je razvoj kardiovaskularnih bolesti, smanjene plodnosti i razvoj sekundarnih malignih tvorevina kao posljedica kemoterapije ili radioterapije, no te su mogućnosti iz dana u dan sve manje razvijanjem novih i boljih terapija. Bez obzira na to, pacijentima se i dalje savjetuju redovitiji pregledi. Također, ukoliko pacijent ima braću ili sinove, njima se savjetuje češće obavljanje pregleda testisa kako bi se minimizirale šanse za pojavom tumora i kod njih.<sup>[16, 17, 35]</sup>

Osim fizičkih posljedica, ono što dolazi sa svakim preživljenjem tumora pa tako i sa preboljenim tumorom zametnih stanica testisa, jesu psihološke posljedice. Zbog toga mnogi zdravstveni sustavi širom svijeta pacijentima i njihovim obiteljima omogućavaju besplatna savjetovanja i psihoterapije.<sup>[17]</sup>

### **3. ZAKLJUČAK**

Genski i epigenetski faktori su, uz okolišne faktore, ključni za pojavu i razvoj tumora zametnih stanica testisa. Zbog nediferenciranosti svojih stanica, tumori testisa srećom spadaju u one uspješno liječene. Međutim, relaps i razvoj rezistencije na terapije su problemi za koje se također smatra kako su odgovorni genski i epigenetski faktori. Radi toga, baš kao i radi bržeg i jednostavnijeg dijagnosticiranja te mogućnosti preveniranja nastanka tumora potrebno je još mnogo istraživanja specifičnih genskih i epigenetskih promjena koje tumori zametnih stanica testisa nose sa sobom, pogotovo u današnje doba u kojem rapidno dolazi do porasta frekvencije pojave tumora testisa, pogotovo u Europi, s naglaskom na Finsku, Slovačku, Sloveniju i Hrvatsku.<sup>[2, 3, 36]</sup>

#### 4. LITERATURA:

1. Díez-Torre A, Silvan U, De Wever O, Bruyneel E, Mareel M, Arechaga J (2004). Germinal tumor invasion and the role of testicular stroma. *International Journal of Developmental Biology* 48(5-6): 545-557
2. Facchini G, Rossetti S, Cavaliere C, D'Aniello C, Di Franco R, Iovane G, Grimaldi G, Piscitelli R, Muto P, Botti G, Perdonà S, Veneziani BM, Berretta M, Montanari M (2017). Exploring the molecular aspects associated with testicular germ cell tumors: a review. *Oncotarget*, Vol. 9, (No. 1), pp: 1365-1379
3. Sheikine Y, Genega E, Melamed J, Lee P, Reuter VE, Ye H (2012). Molecular genetics of testicular germ cell tumors. *Am J Cancer Res* 2(2):153-167
4. Cooper GM. *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000. *The Development and Causes of Cancer*. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9963/>
5. National Cancer Institute, <<https://www.cancer.gov/about-cancer/diagnosis-staging/staging>>, Pristupljeno 11.4.2019.
6. Juric et al. (2005). Gene expression profiling differentiates germ cell tumors from other cancers and defines subtype-specific signatures. *PNAS* vol. 102, no. 49, 17763–17768
7. Landero-Huerta DA, Viguera-Villasenor RM, Yokoyama-Rebollar E, Arechaga-Ocampo E, Rojas-Castaneda JC, Jimenez-Trejo F, Chavez-Saldana M (2017). Epigenetic and risk factors of testicular germ cell tumors: a brief review. *Frontiers In Bioscience, Landmark*, 22, 1073-1098
8. Buljubašić R, Buljubašić M, Katušić Bojanac A, Ulamec M, Vlahović M, Ježek D, Bulić-Jakuš F, Sinčić N (2018).. Epigenetics and testicular germ cell tumors. *Elsevier, Gene* 661, 22–33
9. Shin YS, Kim HJ (2013). Current management of testicular cancer. *Korean journal of urology*, 54(1), 2–10
10. Raiss GG, Andaloussi MM, Raissouni SS, Mrabti HH, Errihani HH (2011). Spermatocytic seminoma at the National Institute of Oncology in Morocco. *BMC research notes*, 4, 218
11. Greene et al. (2014). Familial testicular germ cell tumors (FTGCT) – overview of a multidisciplinary etiologic study. *Andrology* 3, 47–58


12. Bishop BN, Edemekong PF. Choriocarcinoma. [Updated 2019 Apr 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535434/>
13. Rudaitis V, Mickys U, Katinaitė J, Dulko J (2016). Successful treatment of advanced stage yolk sac tumour of extragonadal origin: a case report and review of literature. *Acta medica Lituanica*, 23(2), 110–116
14. Chowdhury W, Lodhi MU, Syed IA, Rahim U, Rahim M (2018). Mature Testicular Teratoma with a Focus of Embryonal Carcinoma: A Case Report and Review of Literature. *Cureus*, 10(3), e2329
15. Morimoto LM, Zava D, McGlynn KA, Stanczyk FZ, Kang AY, Ma X, ... Metayer C (2018). Neonatal Hormone Concentrations and Risk of Testicular Germ Cell Tumors (TGCT). *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 27(4), 488–495
16. Khan O, Protheroe A (2007). Testis cancer. *Postgraduate medical journal*, 83(984), 624–632
17. Greene et al. (2010). Familial testicular germ cell tumors in adults: 2010 summary of genetic risk factors and clinical phenotype. *Endocr Relat Cancer* Endocr Relat Cancer . 2010 June ; 17(2): R109–R121
18. Huddart R (2015). New Insight into the aethiology of testicular germ cell tumors. *European Urology* 67, 702–70
19. Carouge et al. (2016). Parent-of-origin effects of A1CF and AGO2 on testicular germ-cell tumors, testicular abnormalities, and fertilization bias. *PNAS*, E5425–E5433
20. Chen KS, Amatruda JF (2013). A Big Catch for Germ Cell Tumour Research. *PLoS Genetics* Volume 9 | Issue 4 | e1003481
21. Shen et al. (2018). Integrated Molecular Characterisation of Testicular Germ Cell Tumors. *Cell Reports* 23, 3392–3406
22. Hacıoglu, et al. (2017). K-RAS and N-RAS mutations in testicular germ cell tumors. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(2):159-163
23. Velasco A, Riquelme E, Schultz M, Wistuba II, Villarroel L, Pizarro J, Berlin A, Ittmann M, Koh MS, Leach FS (2004). Mismatch Repair Gene Expression and Genetic Instability in Testicular Germ Cell Tumour. *Cancer Biology & Therapy* 3:10, 977-982
24. Harb-De la Rosa A, Manoharan M, Goolam AS (2017). Current Concepts of Epigenetics in Testicular Cancer. *Indian Association of Surgical Oncology* 8(2):169–174

25. Gainetdinov et al. (2018). Assessment of piRNA biogenesis and function in testicular germ cell tumors and their precursor germ cell neoplasia in situ. *BMC Cancer* 18:20
26. Rounge et al. (2015). Profiling of the small RNA populations in human testicular germ cell tumors shows global loss of piRNAs. *Molecular Cancer* 14:153
27. Abe T, Kohashi K, Takemoto J, Kinoshita F, Eto M, Oda Y (2018). Clinicopathological Significance and Antitumor Effect of MPHOSPH1 in Testicular Germ Cell Tumour. *Journal of Cancer* 9(23): 4440-4448
28. Dasari S, Tchounwou PB (2014). Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *European journal of pharmacology*, 740, 364–378
29. Baskar R, Lee KA, Yeo R, Yeoh KW (2012). Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *International journal of medical sciences*, 9(3), 193–199
30. Mehta SR, Suhag V, Semwal M, Sharma N (2010). Radiotherapy: Basic Concepts and Recent Advances. *Medical journal, Armed Forces India*, 66(2), 158–162.
31. Ferlin A, Foresta C (2014). Testis cancer: genes, environment, hormones. *Frontiers in endocrinology*, 5, 172
32. Namiki M, Ueno S, Kitagawa Y, Fukagai T, Akaza H (2012). Effectiveness and adverse effects of hormonal therapy for prostate cancer: Japanese experience and perspective. *Asian journal of andrology*, 14(3), 451–457
33. Yan L, Rosen N, Arteaga C (2011). Targeted cancer therapies. *Chinese journal of cancer*, 30(1), 1–4
34. Padma VV (2015). An overview of targeted cancer therapy. *BioMedicine*, 5(4), 19
35. Balzer BL, Ulbright TM (2006). Spontaneous Regression of Testicular Germ Cell Tumors. *Am J Surg Pathol* 30:858–865
36. Rajpert-De Meyts E, Skakkebaek NE, Toppari J. Testicular Cancer Pathogenesis, Diagnosis and Endocrine Aspects. [Updated 2018 Jan 7]. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278992/>



## 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.*

  
Sunčana Orešić