

Uloga Ras proteina u razvoju feokromocitoma

Kobeščak, Maja

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:159:677266>

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 Nutricionizam

Maja Kobeščak

7058/N

ULOGA RAS PROTEINA U RAZVOJU FEOKROMOCITOMA

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Biologija

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

Zagreb, 2019.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski sveučilišni studij Nutricionizam

Zavod za biokemijsko inženjerstvo
Laboratorij za biologiju i genetiku mikroorganizama

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Nutricionizam

ULOGA RAS PROTEINA U RAZVOJU FEOKROMOCITOMA

Maja Kobeščak, 0058206557

Sažetak:

Feokromocitom je uglavnom benigni tumor kromafinih stanica nadbubrežne žlijezde. Klinička svojstva feokromocitoma pretežno su posljedica prekomjernog lučenja katekolamina, a povišeni krvni tlak najčešća je manifestacija. Razvoj feokromocitoma povezuje se s mutacijama na više od desetak gena. Najčešće se javlja kao posljedica somatskih genskih mutacija, a može biti nasljedan u slučaju embrionalnih mutacija. *Ras* geni su najčešći onkogeni u ljudskim tumorima. Točkaste mutacije dovode do sinteze Ras proteina bez mogućnosti inaktivacije što uzrokuje neprestanu aktivnost kaskada protein-kinaza aktiviranih mitogenom (MAPK) i signalnog puta fosfatidilinozitol-3-kinaze (PI3-K), zaduženih sa rast, proliferaciju, diferencijaciju i preživljavanje stanica. Mutacije H-Ras proteina otkrivene su u otprilike 7% sporadičnih oblika feokromocitoma. Onkogeno aktivacija gena *RET* i *NF1* također može uzrokovati amplifikaciju Ras posredovanih signalnih puteva i rezultirati promijenjenom ekspresijom gena.

Ključne riječi: feokromocitom, gen *NF1*, mutacije, onkogen, Ras protein

Rad sadrži: 24 stranice, 4 slike, 1 tablicu, 52 literaturna navoda, 1 prilog

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: dr. sc. Reno Hrašćan, izv. prof.

Datum obrane: 18. rujna 2019.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

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

Department of Biochemical Engineering
Laboratory of Biology and Microbial Genetics

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Nutrition

THE ROLE OF RAS PROTEINS IN PHEOCHROMOCYTOMA GROWTH

Maja Kobeščak, 0058206557

Abstract:

Pheochromocytoma is mostly benign tumor of adrenal chromaffin cells. Clinical characteristics are mostly the consequence of excessive catecholamine secretion, mainly manifesting as high blood pressure. Pheochromocytoma tumorigenesis is connected with mutation in more than 10 genes. Mostly it is sporadic as result of somatic mutations of some genes, but it can be hereditary in case of germline mutations. *Ras* genes are the most common human oncogenes. Point mutations are causing synthesis of Ras protein unable to inactivate, leading to constant activation of mitogen-activated protein kinases cascade and phosphatidylinositol-3-kinase signal pathway which are in charge of cell growth, proliferation, differentiation and survival. Mutations of H-Ras protein are found in about 7% of all pheochromocytomas. Oncogenic activation of *RET* and *NF1* genes can also cause amplification of signal pathways mediated by Ras protein and result in changed gene expression.

Keywords: mutations, *NF1* gene, oncogene, pheochromocytoma, Ras protein

Thesis contains: 24 pages, 4 figures, 1 table, 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: *PhD Reno Hrašćan, Associate professor*

Defence date: September 18, 2019

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 Protoonkogeni i onkogeni	2
2. FEOKROMOCITOM	3
2.1 Nadbubrežne žlijezde	3
2.1.1 Katekolamini	4
2.2 Simptomi feokromocitoma	4
2.3 Dijagnoza feokromocitoma	5
2.4 Geni povezani s razvojem feokromocitoma	5
2.5 Poremećaji povezani s razvojem feokromocitoma	7
2.6 Operativno uklanjanje feokromocitoma	7
3. RAS PROTEINI	9
3.1 Struktura <i>Ras</i> gena	9
3.2 Mehanizam aktivacije Ras proteina	9
3.3 Regulacija aktivnosti Ras proteina	10
3.4 Signalni putevi posredovani Ras proteinom	11
3.4.1 Kaskada protein-kinaza aktiviranih mitogenom (MAP)	11
3.4.1.1 Aktivacija neposredno ranih gena	13
3.4.2 Signalni put fosfatidilinozitol-3-kinaze (PI3-K)	13
3.4.3 Ostali efektori Ras proteina	14
3.5 Mutacije Ras proteina	14
3.6 Uzroci abnormalne signalizacije Ras proteina u tumorima	15
3.6.1 Mutacije na Ras proteinu	16

3.6.2 Delecija proteina koji aktiviraju GTPaze (GAP)	16
3.6.2.1 Neurofibromin 1 – utjecaj na Ras protein	16
3.6.3 Prekomjerna ekspresija receptora faktora rasta.....	17
3.6.4 Mutacija i amplifikacija Ras efektora	17
3.7 Uloga Ras gena u razvoju feokromocitoma	18
4. ZAKLJUČAK	19
5. LITERATURA	20
POPIS KRATICA	25

1. UVOD

Nadbubrežne žlijezde imaju ulogu sinteze hormona potrebnih za regulaciju odgovora organizma na stres. Tumore kromafinih stanica nadbubrežnih žlijezda nazivamo feokromocitomima, a takve tumore izvan nadbubrežnih žlijezda paragangliomima. Feokromocitomi su uglavnom benigni tumori. Najčešći simptom je hipertenzija, uz koju se zbog abnormalnog lučenja katekolamina može javiti i čitav niz drugih simptoma poput prekomjernog znojenja, glavobolje, anksioznosti i drugih. Dijagnoza se postavlja na temelju biokemijske analize uz koju se radi lokalizacije koristi i slikovna dijagnostika. Feokromocitomi se uklanjaju operativnim zahvatom, nakon kojega bi se simptomi trebali povući.

Povezujemo ih s mutacijama na više od 10 gena, zbog čega se nasljedni oblici feokromocitoma često javljaju u kombinaciji s još nekim sindromom.

Najzastupljeniji onkogeni u ljudi su članovi porodice *Ras* proteina, *K-Ras*, *H-Ras* i *N-Ras*. U inaktivnom obliku vežu GDP, aktiviraju se vezanjem GTP-a, a uloga im je prijenos signala s površine do jezgre stanice aktivacijom raznih signalnih puteva. Najznačajniji su kaskada protein-kinaza aktiviranih mitogenom, tzv. *Ras/Raf/ERK* signalni put i signalni put fosfatidilinozitol-3-kinaza. Abnormalna signalizacija *Ras* proteina može biti uzrokovana mutacijama na 12., 13. ili 61. kodonu *Ras* proteina, delecijom proteina koji aktiviraju GTPaze, prekomjernom ekspresijom receptora faktora rasta ili mutacijom i amplifikacijom *Ras* efektor. Svi procesi uzrokuju prekomjernu aktivnost signalnih puteva što dovodi do abnormalnog staničnog rasta i proliferacije, inhibicije apoptoze, reorganizacije citoskeleta i tvorbe tumora.

S razvojem feokromocitoma povezane su točkaste mutacije na *H-Ras* proteinu i mutacije *RET* i *NF1* gena koje rezultiraju neprestanom aktivnošću signalnih puteva posredovanih *Ras* proteinima.

1.1 Protoonkogeni i onkogeni

Proliferacija stanica je tijekom normalnog rasta i diferencijacije stanica regulirana čimbenicima rasta koji vezanjem na receptore smještene na membranama potiču niz reakcija koje vode do promjena u ekspresiji gena. Protoonkogeni proizvode proteine koji sudjeluju u tim biokemijskim putevima.

Izmijenjenom aktivacijom protoonkogeni nastaju onkogeni, geni uključeni u tumorogenezu. Amplifikacijom i translokacijom gena aktiviraju se kvantitativni oblici onkogeni, tj. oni onkogeni koji će povećati proizvodnju svojih produkata, a kvalitativni oblici onkogeni, tj. oni onkogeni čiji će produkti biti modificirani, aktiviraju se točkastom mutacijom ili kromosomskom translokacijom koja rezultira proizvodnjom kimernih gena.

Takve aktivacije uglavnom su posljedica dominantnih mutacija pa se ne gube daljnjim razmnožavanjem stanica.

Produkti onkogeni imaju ulogu u signalnim putevima koji reguliraju proliferaciju stanica potaknutu čimbenicima rasta. Onkogeni produkti uključuju čimbenike rasta, receptore za čimbenike rasta, prevodnike signala, čimbenike transkripcije i inhibitore apoptoze.

Dakle dolazi do abnormalne regulacije proliferacije stanica viđene u tumorskim stanicama kao i abnormalne diferencijacije stanica i neuspješne apoptoze (Haiteš, 2001).

U ljudi onkogeni imaju sposobnost transformacije normalnih u maligne stanice. Takvi geni, urođeni ili nastali mutacijom tijekom života, čine osobu podložnom razvoju karcinoma promjenom ili oštećenjem narednih procesa u organizmu:

- proizvodnja staničnih transkripcijskih čimbenika koji kontroliraju rast stanice (npr. *MYC*)
- međustanična transdukcija signala (npr. *Ras*)
- interakcija čimbenika rasta i njihovih receptora (npr. *HER/NEU*).

Postoji više od 100 identificiranih onkogeni od kojih se samo nekolicina povezuje isključivo s ljudskim karcinomom, a pripadnici porodice *Ras* onkogeni nalaze se među najčešće pristupnim onkogenima u ljudskim karcinomima (Milburn i sur., 1990).

Protoonkogeni se u onkogene pretvaraju amplifikacijom, translokacijom ili točkastim mutacijama (Hayes, 2012).

2. FEOKROMOCITOM

Feokromocitom je naziv za neuroendokrini karcinom kromafinih stanica nadbubrežne žlijezde. Ukoliko se pojavi na kromafinim stanicama izvan nadbubrežne žlijezde, nazivamo ga ekstraadrenalni feokromocitom ili paragangliom. Feokromocitomi koji se nalaze izvan nadbubrežne žlijezde mogu se pojaviti u bilo kojem dijelu paraganglijskog sustava, a najčešće se javljaju u području između dijafragme i donjih bubrežnih polova. Karcinomi kromafinih stanica nadbubrežne žlijezde čine 80-85% ukupnih karcinoma kromafinih stanica, a preostalih 15-20% pripada ekstraadrenalnim feokromocitoma. Glavna karakteristika feokromocitoma je lučenje katekolamina (Lenders i sur., 2005, Whalen i sur., 1992).

Rijetka je to bolest čija se prevalencija procjenjuje na od 1:6500 do 1:2500 u Zapadnim zemljama. Otkriva se uglavnom slučajno tijekom računalne tomografije ili magnetske rezonancije abdomena, a velik broj oboljelih se identificira tek tijekom obdukcije (Ajallé i sur, 2009). Uglavnom je benigni karcinom, a procjenjuje se da otprilike 10% feokromocitoma pokazuje maligna obilježja (Strong i sur., 2008).

Može se pojaviti u bilo kojoj dobi, ali uglavnom se javlja u dobi 40-50 godina, podjednako u oba spola. Feokromocitom u najvećoj količini luči noradrenalin, zatim adrenalin, dok je lučenje dopamina rijetko zabilježeno. Uz katekolamine zabilježena je i pojava vazoaktivnih intestinalnih peptida, adrenokortikotropnog hormona, neuropeptida Y, somatostatina, kalcitonina i drugih peptida i hormona (Manager, 2006).

2.1 Nadbubrežne žlijezde

Na gornjem polu oba bubrega nalaze se retroperitonealno smještene nadbubrežne žlijezde (lat. glandula suprarenalis) teške oko 5 g. Nadbubrežna žlijezda građena je od kore i srži. Oba dijela funkcioniraju kao zasebni organi, a razlikuju se i u građi i ulozi u organizmu.

Kora nadbubrežne žlijezde podijeljena je u tri regije, vanjski, srednji i unutarnji korteks. Vanjski korteks (zona glomerulosa) izgrađen je od stanica poredanih u polukružne ili okrugle nakupine i zadužen za sintezu mineralokortikoida, većinom aldosterona.

U srednjem korteksu (zona fasciculata) stanice su poredane uspravno poput stupova, a uloga im je sinteza glukokortikoida, uglavnom kortizola.

Stanice unutarnjeg korteksa (zona reticularis) nepravilno su raspoređene, ali međusobno umrežene i zadužene su za sintezu glukokortikoida i adrenalnih androgena, uglavnom DHEA i androstendiona.

Srž nadbubrežne žlijezde (adrenalna medula) čini rahla mreža kromafinih stanica koje sintetiziraju katekolamine, adrenalin i noradrenalin (Božikov, 2003).

2.1.1 Katekolamini

Srž nadbubrežne žlijezde sintetizira katekolamine adrenalin i noradrenalin u omjeru 4:1. Nakon sinteze se pohranjuju u vezikule iz kojih će se po potrebi izlučiti egzocitozom. S obzirom da se iz nadbubrežne žlijezde izlučuju ravno u krvotok, djeluju na području čitavog organizma i u plazmi se mogu naći u slobodnom i vezanom obliku. Ubrajamo ih u hormone topive u vodi stoga do ciljnih stanica dolaze difuzijom iz kapilara u međustaničnu tekućinu. Razgrađuju ih enzimi, a izlučuju se bubrezima i jetrom (Guyton i Hall, 2017).

Većina paraganglioma predominantno luči noradrenalin, feokromocitomi uglavnom luče i noradrenalin i adrenalin, a u bolesnika s feokromocitomom povezanim s MEN2 i NF1 predominantno je lučenje adrenalina. Feokromocitom proizvodi ogromne količine katekolamina, a tako visoke koncentracije mogu dovesti do iznenadnog napadaja, tj. katekolaminske krize (Pacak, 2011).

2.2 Simptomi feokromocitoma

Iako je učestalost oboljenja od feokromocitoma mala, treba se uzeti u obzir prilikom dijagnostike bolesnika oboljelih od hipertenzije, napadaja panike, incidentaloma nadbubrežne žlijezde, poremećaja u autonomnom živčanom sustavu i u bolesnika oboljelih od nasljednih bolesti s predispozicijom za razvoj feokromocitoma.

Glavni klinički znak je hipertenzija, zbog čije je nespecificnosti postavljanje dijagnoze otežano, a kao najčešći simptomi oboljenja javljaju se prekomjerno znojenje, glavobolja i palpitacije. Uz navedene simptome moguća je pojava bljedila, epizoda anksioznosti, uzrujanosti i napadaja panike (Pacak i sur., 2001).

Kod oboljelih od feokromocitoma uz hipertenziju se uglavnom javljaju i neki od navedenih simptoma, a može doći i do neželjenog gubitka na tjelesnoj masi (Lip i Beevers, 2007).

2.3 Dijagnoza feokromocitoma

Zbog sposobnosti lučenja katekolamina, za biokemijsku dijagnozu feokromocitoma preporuča se korištenje više različitih metoda.

U 24-satnom urinu se određuje razina katekolamina (adrenalin i noradrenalin) ili njihovih metabolita, tj. metanefrina (normetanefrin i metanefrin) i vanilmandelične kiseline. Njihove se koncentracije mogu određivati i u plazmi. Dijagnozu potvrđuju povišene razine katekolamina i metabolita u urinu i plazmi. Zbog povećane osjetljivosti i specifičnosti prednost se daje određivanju metabolita u plazmi naspram ostalih metoda, ali se zbog mogućih lažno-pozitivnih rezultata i interakcija u organizmu i dalje preporuča kombinacija testova (Ajallé i sur., 2009, Karagiannis i sur., 2007).

Kao alternativan test u bolesnika bez oštećenja bubrežne funkcije može se koristiti određivanje kromogranina-A u serumu, test koji je pokazao visoku osjetljivost, a čija se specifičnost povećava kombinacijom s određivanjem katekolamina u plazmi (d'Herbomez i sur., 2007).

Ukoliko biokemijski testovi budu pozitivni potrebno je lokalizirati feokromocitom. Preporuča se kombinacija računalne tomografije ili magnetske rezonancije abdomena s nekim od dijagnostičkih postupaka nuklearne medicine (Ilias i Pacak, 2004).

2.4 Geni povezani s razvojem feokromocitoma

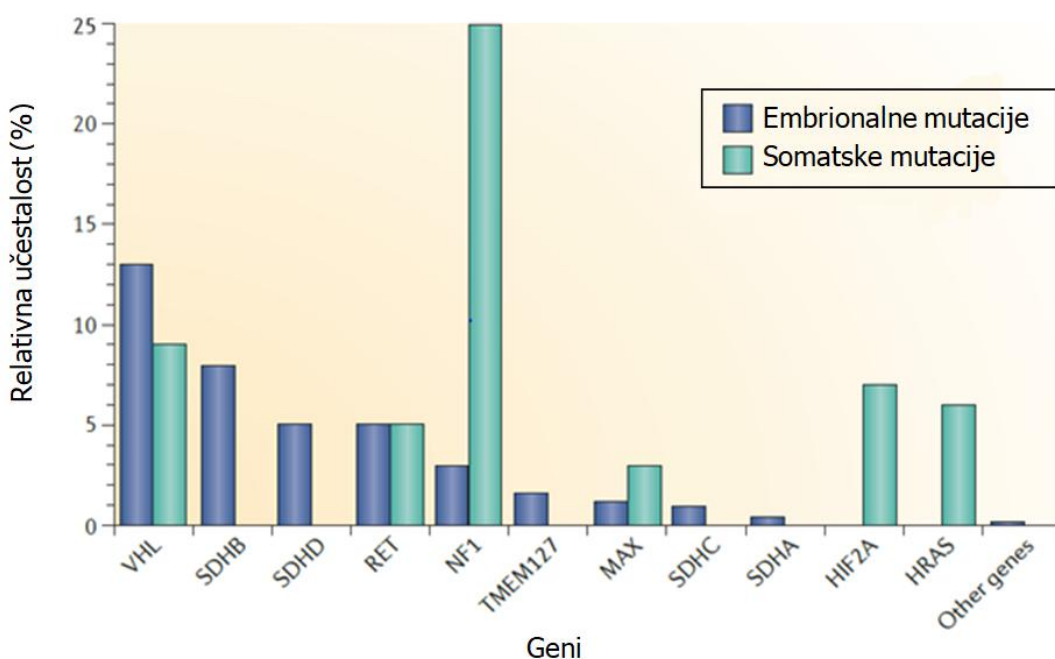
Feokromocitome i paragangliome dijelimo u dvije grupe ovisno o njihovom načinu transkripcije. U prvu grupu spadaju geni koje povezujemo sa stanjem hipoksije, mutacije *VHL* gena, gena koji kodiraju SDH i *HIF2A*, dok su u drugoj grupi geni čije mutacije aktiviraju kinazne kaskade i translaciju proteina, mutacije *RET*, *NF1*, *TMEM127* i *MAX* gena. (Dahia, 2014)

Geni iz prve grupe u normalnom stanju sudjeluju u odgovoru na hipoksiju, a mutacije na tim genima uzrokuju takav odgovor onda kada nije prisutno stanje hipoksije. Takav odgovor uzrokuje ubrzanje angiogenze i povećanje ekspresije vaskularnog endotelnog faktora rasta

VEGF i njegovih receptora, stanja koja su zabilježena u feokromocitomima (Favier i Gimenez-Roqueplo, 2010).

Karakteristike tumora povezanih s drugom grupom vezani su uz nepravilnu regulaciju PI3K/Akt i Ras/Raf/ERK signalnih puteva, inicijaciju translacije i sinteze proteina, kao i neuroendokrinu diferencijaciju (Nölting i Grossman, 2012).

Geni *RET* i *NF1* pripadaju drugoj grupi, a zajednička im je povezanost s onkogenim kinaznim signalnim putevima. Onkogeno aktivacija *RET* gena aktivira Ras/Raf/MAPK signalni put, a povezuje se i s aktivacijom PI3K/Akt signalnog puta. Mutacije na *NF1* genu, čiji je produkt neurofibromin u normalnim uvjetima zadužen za inaktivaciju Ras proteina, također vode do kontinuirane aktivnosti Ras/Raf/MAPK signalnog puta (Welander i sur., 2011).



Slika 1. Relativna učestalost određenih genskih mutacija u feokromocitomu/paragangliomu (preuzeto iz i prilagođeno prema Dahia, 2014)

2.5 Poremećaji povezani s razvojem feokromocitoma

Feokromocitom i paragangliom uglavnom su sporadični karcinomi, a otprilike 10% ih se povezuje s nasljednim poremećajima, dok ih je 30% povezano s nasljednim genskim mutacijama (Welander i sur., 2011).

Opisana su četiri poremećaja koja mogu voditi do razvoja feokromocitoma: multipla endokrina neoplazija tipa 2 (MEN-2), von Hippel-Lindau sindrom (VHL), neurofibromatoza tipa 1 (NF1) i obiteljski feokromocitom/paragangliom (Amar i sur., 2005, Karagiannis i sur., 2007).

Izrazito rijetko se mogu povezati s nekim drugim poremećajima poput Carneyeve trijade, Carney-Stratakis sindroma ili multiple endokrine neoplazije tipa 1 (MEN-1) (Welander i sur., 2011).

Poremećaji su uzrokovani mutacijama na *RET*, *VHL* i *NF1* genima te genima koji kodiraju za sukcinil dehidrogenazu (SDH) (Amar i sur., 2005, Karagiannis i sur., 2007).

2.6 Operativno uklanjanje feokromocitoma

Feokromocitom se mora ukloniti operacijski, klasičnim ili laparoskopskim operativnim zahvatom. Zbog povećanog rizika od kardiovaskularne smrtnosti uzrokovane učincima katekolamina, poput aritmije srca, ishemije srca, moždanog udara, hipertenzivne krize i plućnog edema, nužna je dobra predoperativna priprema uz koju se kardiovaskularna smrtnost smanjuje na 3% (Rončević i sur., 2007).

Farmakološka predoperativna priprema uključuje blokiranje učinaka katekolamina kako bi se normalizirao krvni tlak, broj otkucaja srca i rad drugih organa, a preporuča se započeti s pripremom ne više od 10 do 14 dana prije same operacije.

Kao predoperativni lijekovi uspješno su korišteni antagonisti alfa-adrenergičnih receptora, blokatori kalcijevih kanala i inhibitori angiotenzin konvertirajućeg enzima (ACE inhibitori). U SAD-u je najčešće korišten fenoksibenzamin, blokator alfa-adrenergičnih receptora dugog djelovanja. U bolesnika s intolerancijom na fenoksibenzoamin mogu se koristiti kratkodjelujući alfa-blokatori poput prazosina, terazosina i doksazosina te u EU dostupnog urapadila.

Kako bi se liječile tahiaritmije povezane s korištenjem alfa-blokatora, uz njihovu primjenu preporučuje se i primjena blokatora beta-adrenergičnih receptora kao što su

metoprolol, atenolol i propranolol. Blokatori beta-adrenergičkih receptora ne smiju se koristiti prije blokatora alfa-receptora jer mogu uzrokovati hipertenzivnu krizu.

Amlodipin, nifedipin, verapamil i nikardipin su blokatori kalcijских kanala uspješno korišteni u normotenzivnih bolesnika i onih osjetljivih na fenoksibenzamin. Hipotenzija koja se javlja prilikom korištenja blokatora alfa-adrenergičkih receptora nije zabilježena prilikom korištenja blokatora kalcijских kanala.

Kao alternativna priprema može se koristiti metirozin, inhibitor sinteze katekolamina (Woodrum i Kheterpal, 2010).

Postoperativni rizici su hipotenzija i/ili hipoglikemija koje se liječe nadoknadom tjelesnih tekućina i glukoze, a u rijetkim slučajevima su primijenjeni katekolamini (Rončević i sur., 2007).

3. RAS PROTEINI

Porodicu Ras-proteina nazivamo i malim proteinima koji vežu GTP. To su mali monomerni G-proteini molekularne mase 20-40 kDa. Strukturno su klasificirani u pet potporodica, Ras, Rho, Rab, Arf i Ran, od kojih svaka ima drukčiju ulogu u organizmu. Ras proteini reguliraju ekspresiju gena i razvoj stanice putem serin/treonin protein kinaza, a Rho proteini putem serin/treonin protein kinaza reorganiziraju citoskelet. Rab i Arf proteini su zaduženi za regulaciju unutarstaničnog prometa vezikula dok Ran proteini imaju ulogu u transportu RNA tijekom staničnog ciklusa (Takai i sur., 2001, Rojas i sur, 2012).

3.1 Struktura *Ras* gena

Ras geni prvi su puta pronađeni u tumoru štakora kao dio retrovirusnog genoma, odakle potječe i ime (Ras od engl. rat sarcoma). Za ljude su bitna tri gena porodice *Ras* onkogene: *H-Ras* izoliran iz virusa Harvey-evog mišjeg sarkoma, *K-Ras* izoliran iz virusa Kirsten-ovog mišjeg sarkoma i *N-Ras* izoliran iz stanične linije ljudskog neuroblastoma. U ljudi se *H-Ras* nalazi na kromosomu 11p15, *K-Ras* na 12p12, a *N-Ras* na 1p22. Kodiraju za izrazito slične proteine građene od 189 aminokiselina s 4 kodirajuća eksona, a veličina im ovisi o duljini introna. Zastupljeni su u čitavom organizmu, ali u različitim omjerima ovisno o tkivu. Glavna karakteristika proteina je GTP vezujuća domena, specifična za čitavu porodicu (Pellicer, 2011).

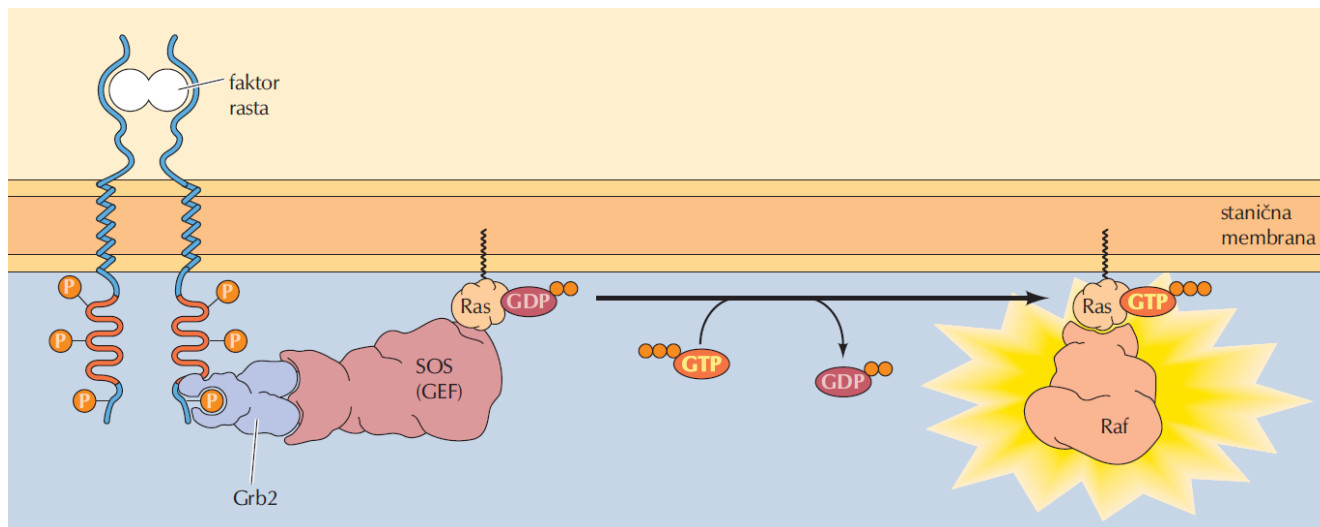
3.2 Mehanizam aktivacije Ras proteina

Vežanjem dva epidermalna faktora rasta (EGF) na dva EGF receptora dolazi do njihove dimerizacije i tirozinske fosforilacije C-terminalnog dijela receptora čime se stvara vezno mjesto za SH2 domenu drugih proteina.

Unutarstanično signaliziranje započinje vežanjem Grb-2 proteina, sastavljenog od jedne SH2 i dvije SH3 domene, za vezno mjesto EGF receptora. Zatim Grb-2 putem svoje dvije SH3 domene veže Sos protein.

Sos djeluje na vezno mjesto za gvanin-nukleotide u Ras proteinu, omogućavajući izmjenu GDP-a i GTP-a, i na taj način aktivira Ras protein. Zbog načina djelovanja na Ras protein, Sos protein smatramo faktorom izmjene gvanin-nukleotida (GEF).

Dakle vezanjem epidermalnih faktora rasta za receptore pokreće se kaskada reakcija koja vodi do aktivacije Ras proteina, a posredovana je djelovanjem Grb-2 i Sos proteina (Waskiewicz i sur., 1997, Berg i sur., 2012).

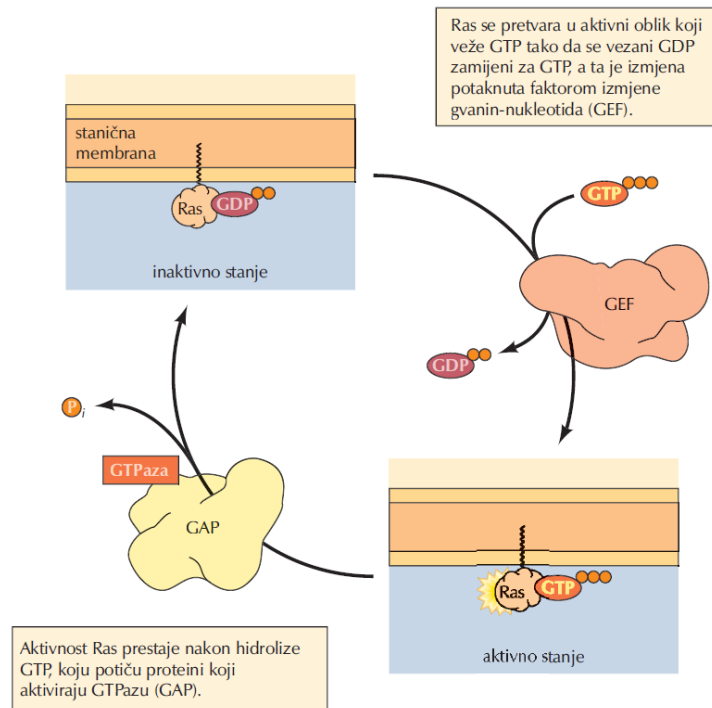


Slika 2. Mehanizam aktivacije Ras proteina (preuzeto iz Cooper i Hausman, 2004)

3.3 Regulacija aktivnosti Ras proteina

Ras protein čvrsto veže gvanin nukleotide te ga u stanicama nalazimo u dva oblika, inaktivnom Ras-GDP i aktivnom Ras-GTP obliku. Aktivira se otpuštanjem vezanog GDP-a i vezanjem slobodnog GTP-a, koji prevladava u stanici, na njegovo mjesto. U svom aktiviranom obliku ulazi u interakcije s efektorima koji zatim aktiviraju kaskadu reakcija (Hoppe-Seyler, 1998).

Disocijacija GDP molekule s veznog mjesta Ras proteina potaknuta je aktivnošću faktora izmjene gvanin nukleotida, čime je omogućeno vezanje GTP molekule. Aktivni Ras protein spontano prelazi u inaktivan oblik djelovanjem intrinzične GTPaze, a proces hidrolize može biti ubrzan interakcijom sa specifičnim proteinima koji aktiviraju GTPaze (GTPase-activating proteins – GAPs) (Schffzek i sur., 1998).



Slika 3. Regulacija aktivnosti Ras proteina (preuzeto iz Cooper i Hausman, 2004)

3.4 Signalni putevi posredovani Ras proteinom

Ras proteini aktiviraju nekoliko signalnih puteva, od kojih je najviše proučavana kaskada protein kinaza aktiviranih mitogenom (Lodish i sur., 2000). Na taj se način aktivira kaskada protein kinaze koja vodi do fosforilacije čimbenika transkripcije, a zatim i izmijenjene ekspresije gena (Haiteš, 2001).

3.4.1 Kaskada protein-kinaza aktiviranih mitogenom (MAP)

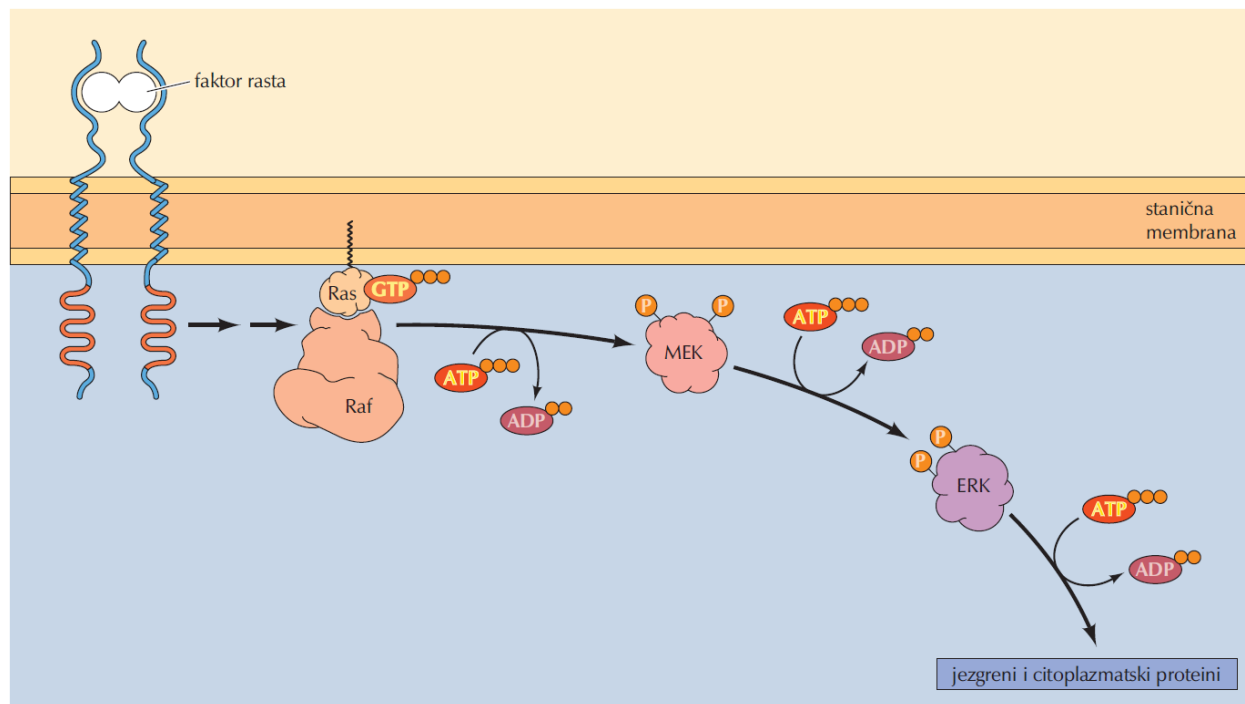
MAP-kinaze ili protein-kinaze aktivirane mitogenom (MAPK) pripadaju obitelji protein-serin/treonin-kinaza i imaju ključnu ulogu u prijenosu signala u svim eukariotskim stanicama. Središnji su dio kaskada MAP-kinaza, aktiviraju ih faktori rasta i razne signalne molekule te predstavljaju regulatore diferencijacije i staničnog rasta u viših eukariota.

Također, pripadaju i porodici kinaza reguliranih s pomoću izvanstaničnih signala, tj. ERK porodici (ERK).

Aktivacija kinaza reguliranih s pomoću izvanstaničnih signala bitna je zbog prijenosa proliferacijskog signala. ERK se mogu aktivirati pomoću faktora rasta koji djeluje preko receptora povezanih s G-proteinima ili preko protein-tirozin-kinaze i protein-kinaze C. Aktivacija ERK protein-kinazom C odgovara na forbol-esterske promotore tumora na način da potiče staničnu proliferaciju.

Signalni putevi Ca^{2+} i cAMP, ovisno o stanici, mogu aktivirati ili inhibirati aktivnost ERK. Aktivaciji ERK prethodi aktivacija dvaju uzvodnih protein-kinaza koje su povezane s receptorima faktora rasta preko aktivnog Ras-GTP proteina. (Cooper i Hausman, 2004)

Aktivacija Ras proteina aktivira protein-serin/treonin-kinazu Raf, čija se konformacija mijenja i kinazna domena se aktivira nakon vezanja na aktivni Ras protein. Raf protein zatim fosforilira i aktivira drugu protein kinazu koju nazivamo MEK (prema MAP kinaza/ERK kinaza). To je protein-kinaza koja zbog svoje dvostruke specifičnosti aktivira ERK na način da fosforilira i tirozinske i treoninske ostatke koje odvaja jedna aminokiselina. Tako aktivirane ERK fosforiliraju i aktiviraju mnoštvo ciljnih jezgrenih i citoplazmatskih proteina, uključujući druge protein-kinaze i transkripcijske faktore.



Slika 4. Aktivacija kaskade protein-kinaza aktiviranih mitogenom (MAP) (preuzeto iz Cooper i Hausman, 2004)

3.4.1.1 Aktivacija neposredno ranih gena

Dio aktivnih ERK premješta se u jezgru gdje fosforilacijom regulira transkripcijske gene. Primarni odgovor na signalizaciju faktora rasta je pobuđivanje transkripcije neposredno ranih gena, porodice od otprilike 100 gena. Njihovo pobuđivanje posredovano je regulacijskim sljedovima koje nazivamo elementi odgovora na serum (SRE), a sljedovi su prepoznati od strane kompleksa transkripcijskih faktora poput faktora odgovora na serum (SRF) i Elk-1. Potonjeg fosforilira i aktivira ERK te time omogućava izravnu komunikaciju MAP-kinaza i neposredno ranih gena.

Upute za sintezu transkripcijskih faktora nalaze se i na mnogim neposredno ranim genima pa njihovo pobuđivanje vodi do promjene ekspresije cijelog niza gena.

Aktivacijom ove kaskade signal se prenosi od površine do jezgre stanice. (Cooper i Hausman, 2004, Waskiewicz i sur., 1997)

3.4.2 Signalni put fosfatidilinozitol-3-kinaze (PI3-K)

Ras proteini aktiviraju i signalni put fosfatidilinozitol-3 kinaze čiji je krajnji rezultat supresija apoptoze stanica (Beaupre i Kurzrock, 1999).

Aktivna fosfatidilinozitol-3-kinaza (PI3-K) fosforilira fosfatidilinozitol-4,5-difosfat (PIP₂), fosfolipid koji se u malim koncentracijama nalazi s unutrašnje strane stanične membrane. Fosforilacijom PIP₂ dobivamo fosfatidilinozitol-3,4,5-trifosfat (PIP₃) koji ima ulogu drugog glasnika. PIP₃ se veže za protein-serin/treonin-kinazu Akt čime aktivira njenu kinaznu domenu.

Aktivna Akt kinaza fosforilira mnoge druge proteine čime pridonosi staničnom rastu i preživljavanju stanica. Čini to na način da inhibira proapoptotičko djelovanje BAD i BAX proteina, potiče povećanu proizvodnju antiapoptotičkih proteina i gena za preživljavanje stanica utjecajem na transkripcijski faktor NF-κB. Također fosforilacijom Mdm2 antagonistički djeluje na apoptozu potaknutu tumor supresijskim genom *p53*.

Dakle, aktivacijom PI3-K kaskadnog signalnog puta potiče se rast, proliferacija i stanično preživljavanje (Castellano i Downward, 2011).

3.4.3 Ostali efektori Ras proteina

Ras protein aktivira čimbenik nukleotidne izmjene RalGDS čime utječe na reorganizaciju citoskeleta, proliferaciju stanica te endocitozu i egzocitozu, a aktivacijom fosfolipaze C ϵ potiče proizvodnju InsP3 receptora koji su uključeni u kalcijско signaliziranje (Badžek i sur, 2012).

3.5 Mutacije Ras proteina

Točkaste mutacije uočene su u obitelji Ras protoonkogeni (*H-Ras*, *K-Ras*, *N-Ras*). Procjenjuje se da 15-20% svih tumora sadrži mutirane Ras proteine. Studije pokazuju da najveću pojavnost Ras izooblika u humanim karcinomima ima mutirani K-Ras protein (85%), u otprilike 33% adenokarcinoma pluća, 42% karcinoma debelog crijeva i 91% karcinoma gušterače.

Pojavnost mutiranih N-Ras proteina je 12%, a veže se uz hematološka maligna oboljenja uz incidenciju u do 25% slučajeva akutne mijeloične leukemije i mijelodisplastičnog sindroma te 27% melanoma.

Najmanju učestalost ima H-Ras, svega 3%, a javlja se u 8% karcinoma štitnjače i 10% karcinoma nadbubrežnih žlijezda.

U većini karcinoma gušterače pojavnost mutiranih gena raspoređena je između sva tri člana Ras obitelji onkogeni (Pierotti i sur., 2003, Shimansu i sur., 2017).

Tablica 1. Učestalost mutacija izoformi Ras proteina u ljudskim tumorima (preuzeto i prilagođeno prema Shimansu i sur., 2017)

Tkivo	<i>K-Ras</i> (%)	<i>N-Ras</i> (%)	<i>H-Ras</i> (%)
Gušterača	91	0	<1
Debelo crijevo	42	9	0
Pluća	33	<1	<1
Koža (melanom)	2	27	1
Endometrij maternice	21	4	<1
Testisi	13	5	<1
Koštana srž	4	8	0
Štitnjača	1	8	3
Timus	<1	2	8
Želudac	9	1	<1
Nadbubrežne žlijezde	0	0	10
Mjehur	0	1	5
Mozak	1	1	0
Vrat maternice	6	<1	<1
Žučni kanal	6	0	0

3.6 Uzroci abnormalne signalizacije Ras proteina u tumorima

Brojna ispitivanja provedena na sisavcima ukazala su na značaj Ras proteina u odgovoru normalnih stanica na podražaje faktora rasta, kao i njegovu ulogu u poticanju abnormalnog rasta stanica specifičnih u tumorima. Mikroinjiciranjem aktivnog Ras proteina izravno je potaknuta proliferacija normalnih stanica, dok mikroinjiciranje anti-Ras protutijela koči proliferaciju stanica u odgovoru na podraživanje faktorima rasta (Cooper i Hausman, 2004).

Ras proteini su uključeni u signalne puteve zadužene za regulaciju mnogo staničnih funkcija poput diferencijacije, proliferacije i rasta stanica, staničnog ciklusa i pokretljivosti stanica. Ukoliko njihova aktivnost nije ispravno regulirana, induciraju abnormalan stanični rast i proliferaciju, reorganizaciju citoskeleta i diferencijaciju koja rezultira tvorbom tumora. (Murugan i sur., 2019)

3.6.1 Mutacije na Ras proteinu

Proteini koji pripadaju obitelji Ras onkogeni aktiviraju se točkastom mutacijom, a u velikom broju humanih karcinoma utvrđene su mutacije na kodonu 12, 13 i 61 (Haiteš, 2001). Mutacije na tim pozicijama onemogućavaju hidrolizu GTP-a djelovanjem intrinzične GTPaze i proteina koji aktiviraju GTPaze te tako Ras protein ostaje u aktivnom obliku.

Blizu mjesta djelovanja proteina koji aktiviraju GTPaze (GAP) nalazi se aminokiselina glicin, na dvanaestom i trinaestom kodonu. Mutacije na ovom kodonu uzrokuju promjene u strukturi Ras proteina koje sterički ometaju aktivnost GAP i hidrolizu GTP-a.

Mutacije na šezdeset i prvom kodonu također onemogućavaju hidrolizu GTP-a na način da ne dolazi do stvaranja vodikovih veza između glutamina u Ras proteinu i arginina u GAP-u koje u normalnim genima omogućavaju nukleofilni napad vode nužan za hidrolizu GTP-a (Malumbres i Barbacid, 2003, Rajalingam i sur., 2007).

Na taj način dolazi do akumulacije aktivnog Ras proteina i neprestane signalizacije stanicama.

3.6.2 Delecija proteina koji aktiviraju GTPaze (GAP)

Mutacije na proteinima koji aktiviraju GTPaze također imaju ulogu u pretjeranoj aktivnosti Ras gena. Zbog toga što ne dolazi do ubrzane hidrolize GTP-a, Ras protein ostaje u aktivnom obliku. Primjer su mutacije na *neurofibromin 1* genu (Cichowski i sur., 2003).

3.6.2.1 Neurofibromin 1 – utjecaj na Ras protein

Neurofibromin 1 (NF1) je gen koji se nalazi na sedamnaestom kromosomu (Gutmann i sur, 1991) i kodira za tumor supresorski protein neurofibromin. Gen *NF1* čini više od 280 komplementarnih baza s 57 temeljnih eksona i najmanje tri alternativno spojena eksona. Protein neurofibromin kojega kodira s 2818 aminokiselina (Gutmann i sur, 1991) ima veličinu od 320 kDa.

Uloga neurofibromina je regulacija stanične proliferacije, diferencijacije i staničnog preživljavanja pomoću interakcije sa staničnim proteinima poput Ras proteina, a aktivnost

samog neurofibromina je regulirana na više načina, uključujući transport mRNA, kontrolu transkripcije proteina itd.

S obzirom da je neurofibromin protein koji aktivira GTPaze, zaustavlja signalne puteve u kojima sudjeluje Ras protein (Peltonen i sur., 2017) na način da ubrzava hidrolizu GTP-a vezanog za Ras protein čime ga inaktivira. U slučajevima mutacije na *neurofibromin 1* genu dolazi do promijenjene ekspresije ili smanjenja količine neurofibromina što posljedično dovodi do povećane aktivnosti Ras proteina i nekontroliranog staničnog rasta (Abramowicz i Gos, 2014).

3.6.3 Prekomjerna ekspresija receptora faktora rasta

Tumorske stanice u kojima je došlo do prekomjerne ekspresije receptora tirozin kinaza, tj. receptora za faktor rasta, pokazale su i pojačanu aktivnost Ras proteina. Takve mutacije su pronađene u mnogim vrstama karcinoma, uključujući karcinom dojke, jajnika i želuca, a većinom se radi o prekomjernoj ekspresiji receptora za epidermalni faktor rasta (EGF) i tirozin protein kinazu ERBB2 (Gurung i Bhattacharjee, 2015).

3.6.4 Mutacija i amplifikacija Ras efektor

Stanice međusobno komuniciraju pomoću signalnih proteina - hormona, faktori rasta, kemokina i drugih - o potrebi stanice za rastom, diferencijacijom ili apoptozom. S obzirom da su ti signalni proteini preveliki za prolazak kroz membranu stanice, u prijenosu signala s površine do jezgre stanice pomažu im proteini unutar stanice, poput Ras proteina (Goodsell, 1999).

3.7 Uloga Ras gena u razvoju feokromocitoma

Najranija istraživanja hiperaktivacije Ras signalnih puteva u razvoju feokromocitoma pokazala su kontradiktorne rezultate. Istraživanje provedeno 1992. na 169 uzoraka endokrinih tumora po prvi puta otkriva mutacije na *H-Ras* genu povezane s feokromocitomom. Kasnija istraživanja su povezala mutacije na *H-Ras* i *K-Ras* genima s feokromocitomom (Kantorovich i Pacak, 2018).

Embrionalne mutacije na *H-Ras* genu uzrokuju razvoj Costello sindroma. Karakteristike sindroma su neravnoteža u prenatalnom i postnatalnom razvoju, mentalne retardacije, abnormalnosti prilikom razvoja kože, koštano-mišićnog i kardiovaskularnog sustava te povećan rizik od onkogeneze.

Embrionalne mutacije *K-Ras* gena vežemo uz druge sindrome, poput Noonan sindroma. Istraživanja su ga povezala i s feokromocitomom, a mutirani *K-Ras* gen nije pronađen u paragangliomima (Zhikrivetskaya i sur., 2017).

2013. je provedeno istraživanje na ukupno 58 tumora od kojih je 6,9% povezano s mutacijama na *H-Ras* genu. Sekvenciranjem *H-Ras* eksona na kojima se nalaze 12., 13. i 61. kodon pronađene su mutacije na poziciji G13R, Q61K i Q61R, a tumori su bili rezultat hiperaktivacije Ras/Raf/ERK signalnog puta. Mutacije nisu pronađene u krvi nego samo u tkivu tumora što je potvrdilo sporadičnost mutacija.

Dakle, somatske mutacije na H-Ras genu povezujemo s razvojem sporadičnih tumora, dok one embrionalne dovode do nastanka Costello sindroma. (Crona i sur., 2013.)

4. ZAKLJUČAK

Feokromocitom je tumor kromafinih stanica nadbubrežne žlijezde povezan s embrionalnim i somatskim mutacijama više od desetak gena. Embrionalne mutacije gena uzrok su nasljednog oblika feokromocitoma, a somatske genske mutacije uzrokuju češći, sporadičan oblik feokromocitoma.

Onkogeni aktiviraju gena *RET* i *NF1* vodi do kontinuirane aktivnosti signalnih puteva posredovanih aktivnošću Ras proteina. Posljedica je nekontroliran rast stanica, diferencijacija stanica i inhibicija apoptoze stanica što vodi do tumorske aktivnosti mnogih stanica, uključujući razvoj feokromocitoma.

Točkaste mutacije Ras gena onemogućavaju hidrolizu GTP-a zbog čega protein ostaje u aktivnom obliku. Amplifikacijom gena dolazi do kontinuiranog prijenosa signala i aktivacije signalnih puteva koji dovode do izmijenjene ekspresije gena.

Somatske mutacije na H-Ras proteinu i hiperaktivacija signalnih puteva povezani su s otprilike 7% sporadičnih oblika feokromocitoma.

5. LITERATURA

1. Abramowicz A., Gos M. (2014) Neurofibromin in neurofibromatosis type 1 - mutations in NF1 gene as a cause of disease. *Developmental period medicine/Medycyna Wieku Rozwojowego* **18**(3): 297-306.
2. Adjallé R, Plouin PF, Pacak K, Lehnert H. (2009) Treatment of malignant pheochromocytoma. *Hormone and metabolic research* **41**(9): 687–696.
3. Akai Y., Sasaki T., Matozaki T. (2001) Small GTP-Binding Proteins. *Physiological reviews* **81**(1): 153-208.
4. Alrezk R., Suarez A., Tena I., Pacak K. (2018) Update of Pheochromocytoma Syndromes: Genetics, Biochemical Evaluation, and Imaging. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)* **9**: 515.
5. Amar L., Bertherat J., Baudin E., Ajzenberg C, Bressac-de Paillerets B., Chabre O., Chamontin B., Delemer B., Giraud S., Murat A., Niccoli-Sire P., Richard S., Rohmer V, Sadoul J., Strompf L., Schlumberger M., Bertagna X., Plouin P., Jeunemaitre X, Gimenez-Roqueplo A. (2005) Genetic Testing in Pheochromocytoma or Functional Paraganglioma. *Journal of Clinical Oncology* **23**(34): 8812-8818.
6. Andrew Jan Waskiewicz A. J., Flynn A., Cooper J. A. (1997) Mitogen-activated protein kinases activate the serine/threonine inases Mnk1 and Mnk2. *The EMBO Journal* **16**(8): 1909–1920.
7. Badžek S., Kelović V. L., Pleština S., Prejac J., Majerović M., Augustin G. (2012) Unutarstanični signalni putevi u karcinogenezi kolorektalnog tumora. *Acta Chirurgica Croatica* **9**(1): 25-34.
8. Bausch B., Koschker A., Fassnacht M., Stoevesandt J., Hoffmann M. M., Eng C., Allolio B., Neumann H. P. H. (2006) Comprehensive Mutation Scanning of NF1 in Apparently Sporadic Cases of Pheochromocytoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **91**(9): 3478-3481.
9. Beaupre D. M., Kurzrock D. (1999) RAS and Leukemia: From Basic Mechanisms to Gene-Directed Therapy. *Journal of Clinical Oncology* **17**(3): 1071-1079.
10. Berg J. M., Tymoczko J. L., Stryer L. (2012) *Biochemistry*, 7. izd., W.H. Freeman and Company. str. 431.

11. Božikov V. (2003) Patofiziologija žlijezda s unutarnjim izlučivanje U: Klinička patofiziologija za studente Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta, Kujundžić M., ur., Farmaceutsko-biokemijski fakultet Zagreb, str. 245.
12. Castellano E., Downward J. (2011) RAS Interaction with PI3K: More Than Just Another Effector Pathway. *Genes & Cancer* **2**(3): 261-274.
13. Cichowski K., Santiago S., Jardim M., Johnson B. W., Jacks T. (2003) Dynamic regulation of the Ras pathway via proteolysis of the NF1 tumor suppressor. *Genes & development* **17**:449–454.
14. Cooper G. M., Hauser R. E. (2004) Stanica, Molekularni pristup, 3. izd., Medicinska naklada. str. 565-569.
15. Crona J., Verdugo A. D., Maharjan R., Stålborg P., Granberg D., Hellman P., Björklund P. (2013) Somatic Mutations in H-RAS in Sporadic Pheochromocytoma and Paraganglioma Identified by Exome Sequencing. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **98**(7): 1266–1271.
16. Dahia P. L. M. (2014) Pheochromocytoma and paraganglioma pathogenesis: learning from genetic heterogeneity. *Nature Reviews Cancer* **14**(2): 108-119.
17. d'Herbomez M, Forzy G., Bauters C., Tierny C., Pigny P., Carnaille B., Pattou F., Wémeau J., Rouaix N., (2007) An analysis of the biochemical diagnosis of 66 pheochromocytomas. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies* **156**(5): 569-575.
18. Favier J., Gimenez-Roqueplo A. P. (2010) Pheochromocytomas: the (pseudo)-hypoxia hypothesis. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology and Metabolism* **24**(6): 957-968.
19. Goodsell D. S. (1999) The Molecular Perspective: The ras Oncogene. *The Oncologist* **4**(3):263-264.
20. Gurung A. B., Bhattacharjee A. (2015) Significance of Ras Signaling in Cancer and Strategies for its Control. *Oncology & Hematology Review* **11**(2):147–152.
21. Gutmann D. H., Wood D. L., Collins F. S. (1991) Identification of the neurofibromatosis type 1 gene product (protein/antibodies/GTPase-activating protein). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **88**(21): 9658-9662.
22. Guyton A. C., Hall J. E. (2017) Medicinska fiziologija, 13. izd., Medicinska naklada. str. 929-930.

23. Haites N. (2001) Oncogenes U: Encyclopedia of Genetics, Brenner S., Miller J. H., ur., Academic Press. str. 1370-1372.
24. Hayes T. G. (2012) Oncology U: Medical Secrets, 5. izd., Harward M. P., ur., *Mosby*, str. 449-485.
25. Hoppe-Seyler F. (1998) Signal transduction via Ras. *Biological Chemistry* **379**(8-9): 933 – 937.
26. Ilias I., Pacak K. (2004) Current Approaches and Recommended Algorithm for the Diagnostic Localization of Pheochromocytoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* **89**(2): 479-491.
27. Kantorovich V., Pacak K. (2018) New insights on the pathogenesis of paraganglioma and pheochromocytoma [version 1; peer review: 2 approved]. *F1000Research*, **7**(F1000 Faculty Rev): 1500 (<https://doi.org/10.12688/f1000research.14568.1>)
28. Karagiannis A., Mikhailidis D., Athyros V., Harsoulis F. (2007) Pheochromocytoma: an update on genetics and management. *Endocrine-Related Cancer* **14**(4): 935-956.
29. Lenders J. W. M., Eisenhofer G., Mannelli M., Pacak K. (2005) Phaeochromocytoma. *Lancet* **366**(9486): 665-675.
30. Lip G. Y. H., Beevers D. G. (2007) Clinical assessment of patients with hypertension U: ABC OF HYPERTENSION, 5. izd., Beevers D. G., Lip G. Y. H., O'Brien E., ur., Blackwell Publishing Ltd, str. 39.
31. Lodish H., Berk A., Zipursky S.L., Matsudaira P., Baltimore D., Darnell J. (2000) Chapter 23, Cancer. *Molecular cell biology*, 5. izd., W. H. Freeman. str. 953.
32. Malumbres M., Barbacid M. (2003) RAS oncogenes: the first 30 years. *Nature reviews cancer* **3**: 459-465.
33. Manger W. M. (2006) An Overview of Pheochromocytoma: History, Current Concepts, Vagaries, and Diagnostic Challenges. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1073**: 1–20.
34. Milburn M. V., Tong L., Devos A. M., Brunger A., Yamaizumi Z., Nishimura S., Kim S. H. (1990) Molecular Switch for Signal Transduction: Structural Differences Between Active and Inactive Forms of Protooncogenic ras Proteins. *Science* **247**(4945): 939-945.
35. Murugan A. K., Grieco M., Tsuchida N. (2019) RAS Mutations in Human Cancers: Roles in Precision Medicine. *Seminars in Cancer Biology, In Press, Corrected Proof*. <<https://doi.org/10.1016/j.semcan.2019.06.007>> Pristupljeno 1. kolovoza 2019.

36. Nölting S, Grossman A. B. (2012) Signaling pathways in pheochromocytomas and paragangliomas: prospects for future therapies. *Endocrine Pathology* **23**(1): 21-33.
37. Pacak K. (2011) Pheochromocytoma: a catecholamine and oxidative stress disorder. *Endocrine Regulations* **45**(2): 65–90.
38. Pacak K., Linehan W. M., Eisenhofer G., Walther M. M., Goldstein D. S. (2001) Recent Advances in Genetics, Diagnosis, Localization, and Treatment of Pheochromocytoma. *Annals of internal medicine* **134**(4): 315-329.
39. Pellicer A. (2011) RAS Genes U: Encyclopedia of Cancer, Schwab M., ur., Springer, Berlin, Heidelberg. str. 3181-3184.
40. Peltonen S., Kallionpää R. A., Peltonen J. (2017) Neurofibromatosis type 1 (NF1) gene: Beyond café au lait spots and dermal neurofibromas. *Experimental dermatology* **26**(7):645-648.
41. Pierotti M. A., Sozzi G., Croce C. M. (2003) Mechanisms of oncogene activation U: Holland-Frei Cancer Medicine, 6. izd., Kufe D. W., Pollock R. E., Weichselbaum R. R., Bast R. C. Jr., Gansler T. S., Holland J. F., Frei E., ur., Hamilton (ON): BC Decker, <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK12538/>> Pristupljeno 23. kolovoza 2019.
42. Rajalingam K., Schreck R., Rapp U. R., Albert Š. (2007) Ras oncogenes and their downstream targets. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research* **1773**(8): 1177–1195.
43. Rojas A. M., Fuentes G., Rausell A., Valencia A. (2012) The Ras protein superfamily: Evolutionary tree and role of conserved amino acids. *The Journal of Cell Biology* **196**(2): 189-201.
44. Rončević T., Željковиć-Vrkić T., Kos J., Fištrek M. (2007) Feokromocitom – dijagnostički i terapijski izazov koji traje. *MEDICUS* **16**(2): 205-210.
45. Scheffzek K., Ahmadian M. R., Wittinghofer A. (1998) GTPase-activating proteins: helping hands to complement an active site. *Trends in biochemical sciences* **23**(7): 257-262.
46. Simanshu D. K., Nissley D. V., McCormick F. (2017) RAS Proteins and Their Regulators in Human Disease. *Cell* **170**(1): 17–33.
47. Strong V. E., Kennedy T., Al-Ahmadie H., Tang L., Coleman J., Fong Y., Brennan M., Ghossein R. A. (2008) Prognostic indicators of malignancy in adrenal pheochromocytomas: clinical, histopathologic, and cell cycle/apoptosis gene expression analysis. *Surgery* **143**(6): 759-768.

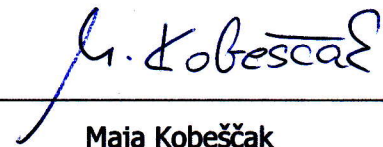
48. Šmalcelj A., Mohaček I. (2011) Poremećaji arterijskog tlaka U: PATOFIZIOLOGIJA, 7. izd., Gamulin S., Marušić M., Kovač Z. i sur., ur., Medicinska naklada, str. 935.
49. Welander J. , Söderkvist P., Gimm O.(2011) Genetics and clinical characteristics of hereditary pheochromocytomas and paragangliomas. *Endocrine-Related Cancer* **18**: 253–276.
50. Whalen R. K., Althausen A. F., Daniels G. H. (1992) Extra-adrenal pheochromocytoma. *The Journal of urology* **147**(1): 1-10.
51. Woodrum D. T.; Kheterpal S. (2010) Anesthetic Management of Phaeochromocytoma. *World Journal of Endocrine Surgery* **2**(3): 111-117.
52. Zhikrivetskaya S. O., Snezhkina A. V., Zaretsky A. R., Alekseev B. Y., Pokrovsky A. V., Golovyuk A. L., Melnikova N. V., Stepanov O. A., Kalinin D. V., Moskalev A. A., Krasnov G. S., Dmitriev A. A., Kudryavtseva A. V. (2017) Molecular markers of paragangliomas/pheochromocytomas. *Oncotarget* **8**(15): 25756-25782.

POPIS KRATICA

DHEA	dihidroepiandrosteron
EGF	epidermalni faktor rasta (engl. epidermal growth factor)
ERK	kinaze regulirane s pomoću izvanstaničnih signala (engl. extracellular signal-regulated kinase)
GAP	proteini koji aktiviraju GTPaze (engl. GTPase-activating proteins)
GDP	gvanozin-difosfat
GEF	faktor izmjene gvanin-nukleotida (engl. guanine-nucleotide-exchange factor)
GTP	gvanozin-trifosfat
kDa	kilodalton, jedinica za izražavanje molekularne mase
MAPK	protein-kinaze aktivirane mitogenom (engl. mitogen-activated protein kinases)
MEN-1	multipla endokrina neoplazija tipa 1
MEN-2	multipla endokrina neoplazija tipa 2
NF1	neurofibromatoza tip 1
PI3-K	fosfatidilinozitol-3-kinaza
PIP ₂	fosfatidilinozitol-4,5-difosfat
PIP ₃	fosfatidilinozitol-3,4,5-trifosfat
SDH	sukcinil dehidrogenaza
SRE	elementi odgovora na serum (engl. serum response elements)
SRF	faktori odgovora na serum (engl. serum response factor)
VEGF	vaskularni endotelni faktor rasta (engl. vascular endothelial growth factor)
VHL	von Hippel-Lindau sindrom

Izjava o izvornosti

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



Maja Kobeščak