Usporedba pentadekapeptida BPC 157 i Rac 1 inhibitora

Vidović, Tinka

Master's thesis / Diplomski rad

2016

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

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:415950

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository

zir.nsk.hr

DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Tinka Vidović

Usporedba pentadekapeptida BPC 157 i Rac1 inhibitora

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2016 .

Ovaj diplomski rad izrađen je na Katedri za farmakologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom prof. dr.sc. Predraga Sikirića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2015/2016.

Mentor: prof.dr.sc. Predrag Sikirić

Popis kratica

Rac1 - Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1

GEF - guanine nucleotide exchange factor

GDP - guanosine diphosphte

GTP - guanosine triphosphate

GAP - GTPase activating proteins

GDI - guanosine nucleotide dissociation inhibitors

NADPH - nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

Net1 - neuropethelial cell-transforming 1

Net1A - Net1 isoform A

L-NAME - NG-nitro-L-arginine-methyl ester

VEGF - vascular endothelial growth factor

VEGFR - vascular endothelial growth factor receptor

NO - nitric oxide

FAK - focal adhesion

Egr1 - early growth response protein 1

NaB2 - NGFI-A binding protein 2

bFGF - basic fibroblast growth factor

EGF - epidermal growth factor

PDGF-B - platelet-derived growth factor subunit B

ERK - extracellular signal-regulated kinases

MAPK - mitogen-activated protein kinase

MEK - MAPK/ERK kinase

NF-KB - nuclear factor kappa-light chain-enhancer of activated B cells

Vcam-1 - Vascular cell adhesion protein 1

Icam-1 - intacellular adhesion molecule 1

RNS - reactive nitrogen species

ROS - reactive oxygen species

TNFα - tumor necrosis factor alpha

eNOS - endothelial nitric oxide synthase

IL-1β - interleukin-1 beta

XIAP - X-linked inhibitor of apoptosis protein

N-Ras - neuroblastoma Ras viral oncogene homolog

K-Ras - Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog

H-ras - Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog

Bcl-2 - B-cell lymphoma 2

cdc42 - cell division control protein 42 homolog

p120ctn - p120 catenin

HER2 - human epidermal growth factor receptor 2

ER - estrogen receptor

PTEN - phosphatase and tensin homolog

IGF-IR - type 1 insulin like growth factor receptor

P-Rex1~Rac1 - Phosphatidylinositol(3,4,5)-dependent Rac exchanger 1~Rac1

SDF - stromal cell-derived factor

JAK - Janus kinase

STAT - Signl Transducer and Activator of Transcription

JNK - c-Jun N-terminal kinase

siRNA - small interfering RNA

Dock - Dedicator of cytokinesis

IA - Iodoacetamide

DSS - Dextran sulfate sodium

CREB - cAMP response element binding protein

SADRŽAJ

Sažetak

Summary

1. UVOD 1

1.1.Rac1 inhibitori 1

1.2. Pentadekapeptid BPC 157 2

1.3. Mogućnost interakcije pentadekapeptida BPC 157 i Rac1 4

2. DJELOVANJE RAC1 INHIBITORA 6

2.1. Protutumorski učinak Rac1 inhibitora 6

2.2. Uloga Rac1 inhibitora u liječenju upalnih bolesti crijeva 11

2.3. Uloga Rac1 inhibitora u ishemijsko-reperfuzijskim ozljedama 13

2.4. Rac1 inhibitori i virusne infekcije 14

2.5. Uloga Rac1 inhibitora u cijeljenju 19

3. MOGUĆI MEHANIZAM DJELOVANJA PENTADEKAPEPTIDA BPC 157 20

3.1. Uloga pentadekapeptida BPC 157 u liječenju depresije 20

3.2. Moguća uloga pentadekapeptida BPC 157 u neuropsihijatrijskim poremećajima 23

3.3. Pentadekapeptid BPC 157 i multipla skleroza 26

3.4. Uloga pentadekapeptida BPC 157 u modelima cijeljenja 30

3.4.1. Pentadekapeptid BPC 157 i cijeljenje ulkusa rožnice 30

3.3.2. Pentadekapeptid BPC 157 i ezofagitis 30

3.4.3. Gastroprotektivni učinci pentadekapeptida BPC 157 32

4. USPOREDBA DJELOVANJA PENTADEKAPEPTIDA BPC 157 I RAC1 INHIBITORA 33

5. ZAKLJUČAK 36

6. ZAHVALE 37

7. LITERATURA 38

8. ŽIVOTOPIS 59

Sažetak

Usporedba pentadekapeptida BPC 157 i Rac1 inhibitora

UVOD: Rac1 je mali signalizirajući G-protein koji može aktivirati NF-kappaB. Pentadekapeptid BPC 157 smanjuje transkripciju Vcam-1 u NF-kappaB signalnom putu kao i neki NF-kappaB inhibitori te suprimira da ERK inducira Vcam-1 preko NF-kappaB aktivacije. Pentadekapeptid BPC 157 može biti Rac1 aktivator ili inhibitor, te bi to moglo ovisiti o mjestu fosforilacije FAK/paksilin signalnog puta.

METODE: Pregled učinaka pentadekapeptida BPC 157 i Rac1 inhibitora na tumorski rast, ishemijsko-reperfuzijske ozljede, ulcerozni kolitis, virusne infekcije, multiplu sklerozu, depresiju i cijeljenje te usporedba sa učincima NF-kappaB inhibitora.

REZULTATI: Pentadekapeptid BPC 157 bi mogao biti novi NF-kappaB inhibitor. Dok je većina istraživanja o Rac1 inhibitorima napravljena na modelima inhibicije tumorskog rasta gdje je pronađena prekomjerna ekspresija Rac1, BPC 157 je najviše istraživan u modelima upalnih bolesti i cijeljenja. Transkripcijski faktor NF-kappaB povezuje upalne bolesti i tumore, te je moguće da je NF-kappaB signalni put poveznica između pentadekapeptida BPC 157 i Rac1 inhibitora. Pentadekapeptid BPC 157 i NF-kappaB inhibitori pozitivno utječu na sve navedene modele, dok Rac1 inhibitori nisu učinkoviti u modelima cijeljenja i depresije.

ZAKLJUČAK: Postoji mogućnost da je transkripcijski faktor NF-kappaB uzrok sličnosti između pentadekapeptida BPC 157 i Rac1 inhibitora u nekim modelima. Treba uzeti u obzir i druge signalne puteve kao što su CREB i ERK te da je moguće da je učinak BPC 157, kao i Rac1 inhibitora na te puteve stanično-specifičan.

Ključne riječi: pentadekapeptid BPC 157, rac1 inhibitori, NF-kappaB inhibitori

Summary

Pentadecapeptide BPC 157 and Rac1 inhibitors

BACKGROUND: Rac 1 is a small G-protein which can activate NF-kappaB. Pentadecapeptide BPC 157 decreases transcription of Vcam1 in NF-kappaB signalling pathway like some NF-kappaB inhibitors and supresses ERK induction of Vcam1 through NF-kappaB activation. Pentadecapeptide BPC 157 can be Rac1 activator or inhibitor, and that could depend on phosphorylation site of FAK/Paxillin pathway.

METHODS: Review of pentadecapeptide BPC 157 and Rac1 inhibitor effects on tumour growth, ischemia-reperfusion injuries, ulcerative colitis, viral infections, multiple sclerosis, depression and healing, as well as comparison with the effects of NF-kappaB inhibitors.

RESULTS: Pentadecapeptide BPC 157 could be a novel NF-kappaB inhibitor. While most of the research on Rac1 inhibitors is done in models of tumour growth inhibition where Rac1 overexpression is found, the research on BPC 157 is focused on inflammation diseases and healing. The NF-kappaB transcription factor is a link between inflammation and cancer, so it is possible that NF-kappaB pathway is a connection between pentadecapeptide BPC 157 and Rac1 inhibitors. Pentadecapeptide BPC 157 and NF-kappaB inhibitors have positive result in all of the models reviewed, while Rac1 inhibition is not affective in models of healing and depression.

CONCLUSION: It is possible that the NF-kappaB transcription factor is a cause of the similirality between BPC 157 and Rac1 inhibitors in some of the models. Other signalling pathways , like ERK and CREB must be considered, as well as the fact the effect of BPC 157 and Rac1 inhibitors on NF-kappaB could be cell specific.

Key words: pentadecapeptide BPC 157, rac1 inhibitors, NF-kappaB inhibitors

1. UVOD

1.1.Rac1 inhibitori

Rac1 je mali signalizirajući G-protein koji spada u Rho porodicu GTP-aza. Rho porodica GTPaza pripada Ras superporodici koju osim Rho porodice čine i Ras, Rab, Ran i Arf.[1] Ras porodicu čine Rac1 , RhoA i Cdc 42 potporodice. Rac1 potporodici osim već spomenutog Rac1 proteina pripadaju i Rac2, Rac3 i RhoG. Rac1 protein je prisutan u svim stanicama, dok je Rac2 prisutan samo u hematopoetskim stanicama i njegov manjak uzrokuje defekte hematopoetskih stanica tijekom embrionalnog razvoja. Rac3 se najviše nalazi u mozgu, te je hiperaktivan u karcinomu dojke. [2]

Svi članovi Rho porodice vežu GTP, te kada su vezani za GDP su u neaktivnom obliku, a kada vežu GTP u aktivnom su obliku. Hoće li biti vezani za GTP ili GDP ovisi o tri vrste proteina: gvanin nukleotid zamjenskim faktorima (GEFs) koji su aktivatori, te o GTPaze aktivirajućim proteinima (GAPs) i o GDP inhibitorima disocijacije (GDIs) koji su negativni regulatori. [3] Rac1 je osim što je važna komponenta NADPH oksidaze i tako kontrolira stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva [4] i regulator mnogih staničnih procesa kao što su stanični ciklus, vezikularni transport, stanični polaritet i transkripcija. [5] Rac1 djeluje na stanični ciklus tako što se nakuplja u nukleusu stanice tijekom G2 faze staničnog ciklusa i tako promovira dijeljenje stanica.[6] Rac1 je povezan i sa transkripcijskim faktorom NF-KB, te je moguće pozitivnu ulogu Rac1 inhibitora u liječenju nekih od karcinoma dijelom pripisati NF-KB inhibiciji. [7] Rac1 ima važnu ulogu u kontroli aktivacije NADPH oksidaze i proizvodnji ROS [8] koji mogu aktivirati NF-KB te je taj učinak ROS na NF-KB aktivaciju čini se stanično specifičan. [9] Rac1 je potreban i za Toll-like receptor 2 posredovanu NF-KB aktivaciju [10], te tako može uzrokovati NF-KB aktivaciju na više načina.

Budući da je Rac1 regulator mnogih staničnih procesa važna je njegova uloga u nastanku raka, pa se danas Rac1 inhibicija istražuje kao nova mogućnost liječenja ne-sitnostaničnog karcinoma pluća [11], melanoma [12], leukemije [13], meduloblastoma [14],karcinoma dojke [15], jetre [16] i pankreasa [17]. Rac1 inhibitori navode se i kao mogućnost liječenja ulceroznog kolitisa [17],pankreatitisa [18] i ishemijsko-reperfuzijskih ozljeda [19].

U ovom radu ćemo usporediti djelovanje Rac1 inhibitora sa pentadekapeptidom BPC 157, koji pokazuje neke učinke slične Rac1 inhibitorima kao što je protutumorski učinak [20] i

uspješnost u liječenju ulceroznog kolitisa [21], ishemijsko-reperfuzijskih ozljeda [22], te su oba hepatoprotektivna [23-25] i mogli bi imati antivirusni učinak [26]. Za razliku od Rac1 inhibitora, BPC 157 se pokazao uspješan i u cijeljenju rana i opeklina [27], u modelima neuroloških bolesti [28], depresije [29], ulkusa rožnice [30] i želuca [31], anafilaksije [32], hipertenzije i hipotenzije. [33] Zbog povezanosti Rac1 i NF-KB u ovom ćemo radu navesti i djelovanje NF-KB inhibitora, budući da je moguće da taj signalni put uzrok sličnosti u djelovanju Rac1 inhibitora i BPC 157.

1.2. Pentadekapeptid BPC 157

Smatra se da stabilni želučani pentadekapeptid BPC 157 svoje pozitivne učinke na mnoge sustave ostvaruje preko NO sustava [34]. I djelovanje na promoviranje ekspresije VEGF-a u ranjenim kožnim tkivima [35] je moguće objasniti djelovanjem na NO sustav jer NO može ovisno o količini i poticati i inhibirati ekspresiju VEGF-a [36]. BPC 157 ima antiulcerozni učinak [31], djeluje na hipertenziju i hipotenziju [33], pokazao se djelotvornim u smanjenju trajanja aritmija [37], sprječava učinke hiperkalemije [38] i hipokalemije [39],potiče cijeljenje kože [27,40] , tetiva [41], ligamenata [42],fistula [43] i žila [44], smanjuje ishemijsko-reperfuzijske ozljede [22] , štiti gušteraču od nastanka akutnog pankreatitisa [45], sprječava nastanak jetrenih lezija nakon hepatotoksičnih procedura [25], te ima protupalni i antipiretski učinak [46] .

Osim što uzrokuje povećanu transkripciju Egr-1 , BPC 157 stimulira i ekspresiju njegovog represora Nab2 [47] koji blokira Egr-1-posredovanu aktivaciju faktora rasta kao što su bFGF, EGF i PDGF-B i na taj način može zaustaviti angiogenezu [48]. To nam govori da je angiogeneza koja nastaje prilikom cijeljenja primjenom pentadekapeptida BPC 157 jako dobro regulirana ravnotežom između pozitivnih i negativnih čimbenika angiogeneze, te ne može postati patološka budući da nab2 ekspresija ima sposobnost spriječiti angiogenezu. Povećana NAB2 ekspresija, koja nastane primjenom BPC 157 utječe i na VEGF aktivnost, tako što NAB2 osim što smanjuje VEGF-om posredovanu gensku ekspresiju, smanjuje i ekspresiju VEGFR [49] . Zbog toga, budući da je u ranjenim tkivima BPC 157 povećavao ekspresiju VEGF [35], to povećanje bi vjerojatno imalo umanjeni učinak zbog smanjene ekspresije VEGFR uzrokovane povećanom NAB2 ekspresijom [49]

BPC 157 povećavajući fosforilaciju ERK 1/2 povećava i transkripcijske razine c-Fos, c-Jun i Egr-1 o kojem smo već govorili, što također može pozitivno utjecati na angiogenezu, te na stanični rast i migraciju [35]. Budući da i VEGF vežući se za VEGFR potiče signalni put koji dovodi do ERK 1/2 aktivacije [36], moguće je da je povećanje ERK 1/2 aktivacije u HUVEC stanicama primjenom BPC 157 uzrokovano povećanjem VEGF ekspresije, te da je kratkog trajanja (ali dovoljnog da ostvari svoje pozitivne učinke na cijeljenje potičući ekspresiju egr-1) budući da povećanje NAB2 ekspresije će smanjiti ekspresiju mRNA za VEGFR, što znači da VEGF više neće biti u mogućnosti da ostvari svoje unutarstanične učinke.

Protutumorski učinak BPC 157 su pokazali Radeljak i sur. na ljudskim melanomskim stanicama in vitro. Primjenom BPC 157 smanjio se broj stanica koje su ušle u S-fazu staničnog ciklusa što govori da bi BPC 157 mogao djelovati kao inhibitor prelaska G1 faze staničnog ciklusa u S-fazu prevenirajući DNA sintezu i stanični rast. BPC 157 je također pokazao i inhibirajući učinak na MAPK signalni put, te je smanjio ERK fosforilaciju nakon što je primijenjen sam i nakon primjene sa VEGF-om.[20] Zbog toga je moguće da i BPC 157,isto kao i aspirin u različitim stanicama različito utječe na ERK fosforilaciju. Budući da Chen i suradnici smatraju da aspirin ovisno o tipu stanice i tipu oštećenja različito utječe na ERK aktivaciju [50],moguće je da na isti način djeluje i BPC 157.

Budući da BPC 157 smanjuje transkripciju Vcam-1 u NF-KB signalnom putu [35], moguće je da to postiže smanjenjem aktivnosti NF-κB budući da inhibitori NF-κB kao što je npr. aspirin mogu suprimirati sposobnost linoleinske kiseline da inducira Vcam-1 gensku ekspresiju [51]. A budući da je BPC 157 suprimirao MEK-1/ERK potaknutu indukciju Vcam1 preko aktivacije NF-KB u HUVEC stanicama , moguće je da je to učinio blokirajući na neki način NF-KB. Naime, ERK je povezan sa NF-KB aktivacijom te je ekspresija Vcam-1 gena nakon tretmana IL-1 beta inhibirana samo nakon što je bila smanjena NF-KB aktivacija. [52] Kim i sur. su pokazali da VEGF stimulira ekspresiju Icam-1, Vcam-1 i E-selektina tako što aktivira NF-KB [53] , a jer je BPC 157 smanjio ekspresiju Vcam-1 iako može povećati VEGF ekspresiju, doista je moguće da je to učinio tako što je smanjio aktivnost NF-KB. To bi doista moglo objasniti njegove protuupalne učinke i djelotvornost u liječenju ulceroznog kolitisa i multiple skleroze.[54]

Kronična aktivacija NF-kB je nađena u upalnim bolestima crijeva, dijabetesu, bolestima srca, astmi i aterosklerozi [55]. Osim što je NF-kB rani transkripcijski aktivator gena koji

kodiraju upalne citokine [19] te je zbog toga važan u patogenezi upalnih i autoimunosnih bolesti, važan je i u nastanku tumora [56]. Blokiranje NF-kB može dovesti do apoptoze i prestanka proliferacije tumorskih stanica te se danas istražuju lijekovi koji bi djelovali na taj način [57]. Neki od aktivatora NF-kB su TNF-alfa, IL-1beta, bakterijski liposaharidi i ionizacijsko zračenje.[58]

Budući da i Rac1 inhibitori smanjuju aktivnost NF-κB [59], moguće je da su isti učinci BPC 157 i Rac1 u sličnim istraživanjima uzrokovani djelovanjem na iste signalne putove. I pentadekapeptid BPC 157 i Rac1 inhibitori smanjuju kardiotoksičnost izazvanu doksorubicinom [60,61], te su korisni u liječenju ishemijsko-reperfuzijskih ozljeda mozga [22,62] i infarkta miokarda [63,64], ali za razliku od inhibicije Rac1 koja otežava cijeljenje BPC 157 je poznat po svojim mogućnostima cijeljenja. Zbog toga je doista moguće da i BPC 157 i Rac1 djeluju na iste signalne putove budući da činjenica da Rac1 inhibicija otežava cijeljenje ne ide u korist tome da je BPC 157 Rac1 inhibitor, a opet primjena BPC 157 i Rac1 inhibitora u sličnim istraživanjima je imala iste rezultate . U ovom radu ćemo se fokusirati na NF-κB i MAPK signalni put, budući da ta signalna puta mogu objasniti slične učinke primjene BPC 157 i inhibitora Rac1 u različitim organima.

1.3. Mogućnost interakcije pentadekapeptida BPC 157 i Rac1

Postoji nekoliko mogućnosti interakcije između Rac1 i pentadekapeptida BPC 157. Prvo ćemo iznijeti činjenice koje govore u prilog da je Rac1 inhibitor, a budući da ovisno o mjestu fosforilacije FAK/paksilina može biti i Rac1 aktivator, iznijeti ćemo i mišljenje da je Rac1 aktivator. Smatra se da BPC 157 svoje djelovanje ostvaruje inducirajući NO u različitim organima [65]. NO svoje vazoprotektivno djelovanje ostvaruje tako što blokira aktivnost NADPH oksidaze kroz cGMP - PKG put preko inhibicije Rac1 [66]. Blokiranjem NADPH oksidaze se smanjuje nastanak reaktivnih kisikovih spojeva. Reaktivni kisikovi spojevi induciraju i mrežu citokina kao što su TNF alfa i IL-1 [67], te mogu aktivirati redoks-osjetljive transkripcijske faktore kao što je NFkB [68], pa bi se blokiranjem NADPH oksidaze smanjila aktivnost NF-KB. Moguće je da se i regulacija trombocita sa cGMP i cAMP na koje djeluje NO i prostaciklin, može pripisati inhibiciji Rac1. [69]

Druga mogućnost interakcije pentadekapeptida BPC 157 i Rac1 koja govori u prilog da je Rac1 inhibitor je da BPC 157 smanjuje aktivnost Rac1 preko FAK/paksilin puta. BPC 157 potiče FAK/ paksilin put tako što fosforilira protein kinazu FAK, koja se onda veže za Src i uzrokuje fosforilaciju paksilina [70], a FAK i paksilin zatim mogu smanjiti aktivnost Rac1 [71,72]. Smanjena aktivnost Rac1 blokirat će NADPH oksidazu budući da je Rac1 jedna od 6 podjedinica NADPH oksidaze, a to će dovesti do smanjene proizvodnje reaktivnih kisikovih spojeva.

Jedna od mogućih interakcija Rac1 i BPC 157 je da pentadekapeptid BPC 157 djelujući preko FAK/pakslin puta uzrokuje aktivaciju Rac1. Tako paksilin-crk-p139^{CAS} kompleks može aktivirati Rac1 GEF kompleks koji se sastoji od Dock180/ELMO i na taj način aktivirati Rac1 [73]. Razlog različitih mogućnosti djelovanja FAK/paksilin puta bi moglo biti različito mjesto fosforilacije. [71-73]

Zbog više mogućih interakcija teško je zaključiti koja je ispravna i djeluje li uopće pentadekapeptid BPC 157 na Rac1, te su potrebna dodatna istraživanja da se utvrdi postoji li povezanost između Rac1 i BPC 157 te djeluje li BPC 157 na NF-κB aktivaciju.

2. DJELOVANJE RAC1 INHIBITORA

2.1. Protutumorski učinak Rac1 inhibitora

Iako je rak danas najistraženija skupina bolesti u svijetu, još nije potpuno shvaćanje molekularnog i staničnog mehanizma nastanka raka. Postoji nekoliko teorija nastanka raka. To su stanična teorija, teorija nokse, somatska teorija i regulatorna teorija. Stanična teorija smatra da malignom nastaje zbog refrakcije na egzogene inhibitore staničnog ciklusa. U teoriji nokse smatra se da malignom nastaje zbog vanjskih čimbenika npr. kemijskih karcinogena, radijacije ili virusa, a u somatskoj teoriji zbog mutacija koje kontroliraju stanični ciklus i proliferaciju. Regulatorna teorija smatra da rak nastaje zbog selektivnosti stanice da dopusti klonalnu ekspanziju. [74]

Rac1 aktivacija regulira staničnu morfologiju, stanični ciklus, gensku ekspresiju, preživljenje i apoptozu [75]. Rac1 djeluje na kontrolu staničnog ciklusa tako što se nakuplja u stanici tijekom G2 faze staničnog ciklusa i promovira dijeljenje stanice [6]. Rac1 djeluje i preko Net1 gena na izvanstaničnu invaziju matriksa pa Rac1 inhibitori uzrokuju gubitak ekspresije Net1A, što inhibira fosforilaciju miozina lakog lanca, fokalnu adheziju i formiranje aktinskih stres vlakana [76]. Smanjenje aktivnosti Rac1 smanjuje i aktivaciju NF-kB [19] što onemogućuje tumorskim stanicima proliferaciju i omogućava ulazak u apoptozu budući da NF-kB uzrokuje aktivaciju gena survinina, X-vezanog proteina inhibitora apoptoze (XIAP) i ciklina D1 [75].

Rac1 je povezan i sa Ras onkogenima te je njegova aktivnost potrebna u K-Ras induciranoj tumorogenezi da bi došlo do proliferacije stanica [77]. Postoje tri Ras gena u ljudi N-Ras, K-Ras i H-Ras, te njihova mutacija vodi do proizvodnje stalno aktivnih Ras proteina. Ras onkogeni su najčešći onkogeni povezani sa nastankom raka u ljudi [78,79] te ako se dokaže da je doista Rac1 aktivacija potrebna za Ras induciranu tumorogenezu Rac1 inhibitori bi se mogli koristi za liječenje raka u kojem postoji mutacija koja trajno aktivira Ras umjesto Ras inhibitora.

Iako postoji mnogo onkogena kao što su npr.bcl-2 onkogen i c-Raf-1 proto-onkogen odgovornih za nastanak karcinoma pluća mi ćemo se fokusirati na odnos između karcinoma pluća i Ras onkogena te ulogu Rac1 u nastanku karcinoma pluća. Kao što smo već rekli, aktivirani Ras onkogeni su nađeni u mnogim ljudskim karcinomima, pa tako i u karcinomu

pluća. Iako i aktivirajuća mutacija H-Ras onkogena može uzrokovati plućne adenome i karcinom pločastih stanica te je povezana s agresivnijim ne-sitnostaničnim karcinomom , a mutirani N-Ras je pronađen u nedifirenciranom karcinomu pluća, ipak je najčešća ras mutacija u karcinomu pluća K-Ras. K-Ras mutacija je nađena u sitnostaničnom karcinomu pluća, adenokarcinomu, karcinomu pločastih stanica i nediferenciranom karcinomu pluća. Najčešća K-Ras mutacija nađena u ljudskim karcinomima pluća je transverzija GC u TA na kodonu 12. Ta ista mutacija je nađena u karcinomu pluća miševa tretiranim sa benzo(a)pirenom što nam govori da je uzrok toj mutaciji u ljudi pušenje cigareta. [80]

Pušenje cigareta isto tako uzrokuje Rac1 i Cdc42 aktivaciju, a Rho inhibiciju. Rac1 i Cdc42 koaktivacija je esencijalna za dimom induciranu staničnu migraciju u prisutnosti p120ctn u ranoj fazi plućne karcinogeneze. Sama Rac1 aktivacija uzrokuje staničnu migraciju i bez prisutnosti p120ctn u kasnoj fazi plućne karcinogeneze [81] i budući da je u K-Ras induciranom karcinomu pluća Rac1 inaktivacija uzrokovala smanjenje proliferacije [77] Rac1 bi mogao biti omnipotentna meta u liječenju karcinoma pluća [81] te se danas Rac1 inhibitori istražuju kao terapijska meta za liječenje gefitinab – rezistentnog ne-sitnostaničnog karcinoma pluća [11].

Rac1 je povezan i sa nastankom karcinoma dojke. Postoje 4 glavne molekularne skupine karcinoma dojke. Perou i suradnici su predložili klasifikaciju na bazolike karcinome dojke koji su estrogen receptor-negativni, progesteron receptor negativni i HER2 negativni,zatim na luminalne-A i luminalne-B koji su većinom ER pozitivni ali se razlikuju u stupnju zloćudnosti,te na HER2 pozitivne karcinome. [82] HER-2 pozitvni karcinomi neliječeni imaju lošiju prognozu od HER-2 negativnih, ali je liječenje mononuklearnim protutijelom trastuzumabom znatno poboljšalo njihovu prognozu [83]. Pacijenti sa ER-pozitivnim karcinom dojke trenutno se liječe sa selektivnim ER modulatorima kao što je tamoksifen ili sa inhibitorima aromataze koji interferiraju sa estrogen sintezom [84].

Rac1 aktivacija je povezana sa staničnom invazijom karcinoma dojke i nastankom metastaza. Rac1 povećava transkripcijsku aktivnost ERalfa u stanicama karcinoma dojke, te njegova inhibicija sa EHT 1864 smanjuje transkripcijsku aktivnost ERalfa i estrogenom induciranu staničnu proliferaciju u ERalfa- pozitivnim i tamoksifen rezistentnim stanicama karcinoma dojke. [84]

I Rac1 i Rac3 imaju veliku ulogu u karcinomu dojke te su povezani sa velikim metastatskim potencijalom tako što reguliraju staničnu migraciju i invaziju [85]. Rac1 ima centralnu ulogu u preživljenju stanica karcinoma dojke tako što preko NF-kB puta inducira transkripciju ciklina D1,Bcl-2 i Bcl-XL. Osim njih Rac1 preko NFkB aktivira i neke gene kao što su survinin i X-vezani protein inhibitor apoptoze (XIAP). [75]

Rac1 aktivacija je povezna i sa rezistencijom na trastuzumab uzrokovanom PTEN delecijom ili prevelikom izraženosti IGF-IR, te bi se inhibicija Rac1 mogla koristiti za smanjenje transtuzumab rezistencije u HER-2 pozitivnim karcinomima dojke [86]. Postoje i druge mogućnosti osim Rac1 inhibicije koje bi terapeutski mogle djelovati na karcinom dojke. Fosfaditilinozitol(3,4,5) – trifosfat ovisni Rac izmjenjivač 1~Ras-povezani C3 botulinum toksin substrat 1 (P-Rex1~Rac1) kompleks se pokazao kritičnim za Rac1 aktivaciju u karcinomu dojke, te se smatra kako bi i P-Rex1~Rac1 kompleks mogao biti terapeutska meta za liječenje karcinoma dojke [87] I SDF-1alfa koncentracija bi mogla utjecati na Rac1 aktivnost. Pokazano je da male koncentracije SDF-1 alfe aktiviraju RhoA, a velike koncentracije aktiviraju Rac1. [88] Postoje i istraživanja koja govore o korisnosti zelenog čaja točnije njegovog sastojka epigalokatehina-3-galata koji inhibira invaziju stanica karcinoma dojke i njihovu migraciju tako što smanjuje Rac1 aktivaciju [89]. Iz svega navedenog zaključujemo da bi Rac1 inhibicija mogla biti odlična terapeutska meta i za liječenje karcinoma dojke.

Signalizirajući putevi uključeni u nastanak melanoma i rezistenciju na liječenje su Wnt put, fosfatidilinozitol -3 kinaza- Akt put , MAPK-B-RAF, JAK-STAT, TGF-beta, NFkB i JNK [90] . Najčešća mutacija u melanomu je B-RAF mutacija te je prisutna u 40% melanoma. NRas mutacija je prisutna u 20% melanoma te je druga najčešća [91], a Rac1 mutacija je treća (4-7 %) najčešća mutacija u osoba koje imaju melanom [92]. Trenutno se u liječenju melanoma koriste B-RAF inhibitori vemurafenib i dabrafenib te MEK inhibitor trametinib [92].

Mutirani Rac1 je većinom u aktivnom obliku tako što je vezan za GTP. Rac1 bi bio dobra terapeutska meta za liječenje melanoma jer je aktivan i u stanicama melanoma koje nemaju Rac1 mutaciju. Za razliku od B-RAF i NRAS mutacije koje su prisutne u benignom nevusu, Rac1 mutacija se nalazi samo u melanomu uzrokovanom pretjeranom izlaganošću suncu za što nam govori tranzicija dipirimidina C u T (CCT>TCT). Pokazano je da se ne može

predvidjeti osjetljivost i rezistencija na B-RAF i MEK inhibitore na osnovi prisutnosti aktiviranog Rac1 [92], ali zato je pokazano da u NRas induciranom melanomu genetska delecija ili farmakološka inhibicija Rac1 suprimira tumorski rast i invaziju te širenje u limfne čvorove [93]. Rac1 inhibicija bi nam zato bila odlično terapeutsko sredstvo ne samo u melanomima uzrokovanim Rac1 mutacijom, već i u onima uzrokovanim NRas mutacijom gdje Ras aktivacija uzrokuje Rac1 aktivaciju [94].

Osim što Rac1 kontrolira staničnu migraciju i proliferaciju također pridonosi interakciji hematopoetskih matičnih stanica sa njenim mikro-okolišem, te je Rac1 veoma izražen u osoba koje imaju leukemiju za razliku od onih koji nemaju. Velika izraženost Rac1 proteina je vjerovatno povezana sa leukemogenezom te je utišavanje Rac1 ekspresije sa siRNA uzrokovalo inhibiciju stanične migracije i proliferacije leukemijskih stanica. Rac1 inhibitor NSC23766 također je suprimirao staničnu migraciju i rast. [13]

Tiam1 je T-stanični limfom invadirajujući i metastaze inducirajući protein koji aktivira Rac1. Blokiranje Tiam/Rac1 signalizirajućeg puta inhibira staničnu proliferaciju u kroničnoj limfocitnoj leukemiji (CLL) što je vjerovatno povezano sa promjenama u c-Myc transkripciji. Isto tako, Tiam/Rac1 inhibicija dovodi i do smanjene kemorezistencije na fludarabin, koji je trenutno osnova kemoterapeutskog liječenja kronične limfocitne leukemije [95].

Osim Tiam1 i Dock2 može uzrokovati aktivaciju Rac1 u ljudskim leukemijskim stanicama tako što tvori kompleks sa CrkL i Vav (GEF za Rac1). Dock2 se nalazi isključivo u hematopoetskim stanicama, a CrkL je najzastupljeniji u hematopoetskim stanicama. Iako Dock2 tvori kompleks sa Vav, GEF-om za Rac1 koji ga aktivira njegova prisutnost nije potrebna za aktivaciju Rac1. Nishihara i suradnici su tako pokazali da dominantno negativni oblik Vav ne suprimira Rac1 aktivaciju. Inhibicija CrkL-SH3 domene se pokazala uspješnom u sprječavanju proliferacije nezrelih leukemijskih stanica, te se smatra da bi inhibicija asocijacije CrkL i Dock2 mogla biti meta za liječenje leukemije. [96]

Rac1 igra ključnu ulogu i u meduloblastomu, najčešćem malignom tumoru mozga u djece. Rac1 je hiperaktivan i previše izražen u tkivu meduloblastoma in situ, te ima važnu ulogu u invazivnom ponašanju stanica meduloblastoma. Delecijom Rac1 inhibirana je invazija i migracija u stanicama meduloblastoma. I Erk put je aktivan u meduloblastomu, te zajedno s Rac1 i JNK putem pridonosi invazivnom ponašanju stanica meduloblastoma. [97]

Previše izražen PDGFR je povezan s metastatskim meduloblastomom tako što PDGF povećava ERK aktivnost i na taj način povećava migraciju stanica meduloblastoma. PDGF posredovana aktivacija Rac1/Pak1 je Erk ovisna, a Erk aktivacija je Pak1 neovisna u stanicama meduloblastoma. Pak1 pripada p21 aktiviranoj kinaza (Pak) obitelji, tj. Pak1 je serin/treonin protein kinaza koja regulira remodeliranje citoskeleta i stanični motalitet kroz aktin i mikrotubule. Previše izražen konstitutivno aktivan Pak1 potiče rast i invaziju raka, te je prisutnost aktiviranog Pak1 loš prognostički indikator za meduloblastom. Za razliku od previše aktivnog, previše izražen dominantno negativni Pak1 suprimira invaziju, te bi Erk/Pak1 put mogao biti terapeutska meta za liječenje meduloblastoma. [98]

Rac1 je povezan i sa rakom gušterače. Invazivni duktalni adenokarcinom pankreasa je najčešći i najsmrtonosniji oblik raka pankreasa. EGFR, Notch ili Kras aktivacijom kao i upalom potaknuta acinarno-duktalna metaplazija se smatra ključnim korakom u inicijaciji karcinogeneze pankreasa. Rac1 je previše izražen u ljudskim i mišjim tumorima pankreasa, te njegova delecija u Kras- induciranom duktalnom karcinomu pankreasa u miša je rezultirala smanjenim stvaranjem acinarno-duktalne metaplazije,pankeatične intraepitelne neoplazije i tumora što je značajno produljilo preživljenje. Zbog toga bi Rac1 mogao biti izvrsna dijagnostička i terapeutska meta za duktalni adnokarcinom pankreasa. [99]

Kras mutacija je prisutna u 95% pacijenata sa rakom pankreasa, te Kras učinkovitije aktivira Rac od drugih ras izoformi, Hras i Nras. Rac1 osim što konrolira organizaciju aktinskog citoskeleta, kontrolira i aktivnost NADPH oksidaze koja proizvodi reaktivne kisikove spojeve (ROS) koji aktiviraju NF-kB . Jedan od razloga zašto je rak pankresa agresivan i ne odgovara na liječenje je to što je rezistentan na apoptozu. ROS superoksidi su povezani sa rakom pankreasa,te su oni preživljavajući i antiapoptotički faktori u raku pankreasa. Vaquero et al.su pokazali da inhibicija ROS dovodi do apoptoze u stanicama raka. [100] Je li uzrok apoptoze inhibicija ROS ili posljedično smanjenje NF-kB, čija aktivnost inhibira apoptozu [75] ostaje za istražiti.

Rac1 je povezan i sa miR-124 budući da miR-124 smanjuje aktivnost Rac1 i tako inaktivira MKK4-JNK-c-Jun put. Hipermetilacijom uzrokovano utišavanje miR-124 je često u pankreatičnom duktalnom karcinomu te su Wang et al pokazali u svojoj studiji da je miR-124 tumor supresorska miRNA koja je epigenetski utišana u raku pankreasa. [101]

Još jedna microRNA ima važnu ulogu u tumorogenezi. miR-142-3p je negativni regulator Rac1 te ako je previše izražena suprimira, a ako je blokirana povećava migraciju i invaziju hepatocelularnog karcinoma [102]. Tiam1 je za razliku od miR-142-3p pozitivni regulator Rac1, te su Yang i suradnici pokazali da su pacijenti sa više izraženim Tiam1 i Rac1 imali kraće preživljenje od onih sa slabijom ekspresijom. Tiam1 i Rac1 ekspresija je povezana s kliničkim stadijom, stupnjem histološke diferencijacije, vaskularnom invazijom, intrahepatičkim metastazama i razinom AFP u pacijenata s hepatocelularnim karcinomom. [103] Liu i suradnici su pokazali da melitin, koji je toksični peptid, inhibira metastaze tumorskih stanica smanjujući motilitet i migraciju preko supresije Rac1- ovisnog puta te smatraju da bi melitin mogao potencijalno biti novi lijek za hepatocelularni karcinom [16].

2.2. Uloga Rac1 inhibitora u liječenju upalnih bolesti crijeva

Upalne bolesti crijeva su kronične relapsirajuće i remitirajuće bolesti u koje spada Crohnova bolest i ulcerozni kolitis. Etiološke teorije nastanka upalnih bolesti crijeva obuhvaćaju okolišne čimbenike, genetske faktore, te imunoregulatorne defekte i izloženost mikrobima. Trenutno liječenje upalnih bolesti crijeva obuhvaća primjenu aminosalicata, visokih doza steroida, imunomodulatora kao što su azatioprin i 6-merkaptopurin te kiruško liječenje. [104]

Postoje različita mišljenja o djelovanju Rac1 na razvoj i cijeljenje ulceroznog kolitisa. Dok su neka istraživanja pokazala da Rac1 inhibicija otežava cijeljenje ulceroznog kolitisa izazvanog IA-om u štakora [105], neka su istraživanja pokazala da gubitak Rac1 ekspresije štiti od ulceroznog kolitisa izazvanog DSS-om u miševa. Također je pokazano da pacijenti sa Rac1 rizičnim alelom i povećanom ekspresijom Rac1 imaju veću podložnost za razvoj upalnih bolesti crijeva od onih koji ne nose taj rizični alel. [17]

Iako postoje različita mišljenja o djelovanju Rac1, neki se Rac1 inhibitori već koriste u liječenju upalnih bolesti crijeva. Imunosupresivni lijek azatioprin i njegov metabolit 6-merkaptopurin blokiraju Rac1 i Rac2 u CD4+ T stanicama i na taj način sprječavaju T-staničnu aktivaciju, a 6- merkaptopurin blokira i Rac1 u endotelnim stanicama i tako sprječava leukocitno prianjanje i migraciju. 6-merkaptopurin inhibira i Rac1 u makrofagima

te tako uzrokuje smanjenje iNOS ekspresije, a u epitelnim stanicama crijeva inhibirajući Rac1 smanjuje ekspresiju IL-8, koji je potentni kemokin za makrofage i neutrofile. Jedan od razloga zašto upalne bolesti crijeva predstavljaju povećani rizik za razvitak kolorektalnog karcinoma je i STAT-3 posredovana epitelna proliferacija koju inhibira 6-merkaptopurin na Rac1/STAT3/Cyclin D1-ovisan način. [106]

6-merkaptopurin suprimira fosforilaciju MEK te smanjujući aktivnost vav/Rac1/MAPK kinaza (MEK) kinaza puta suprimira i fosforilaciju IκB i na taj način suprimira bcl-xL tako što inhibira aktivaciju NF-KB. Budući da i STAT-3 povećava ekspresiju bcl-xL koji inhibira apoptozu, a azatioprin inhibira aktivaciju STAT-3 i NF-κB primjenom azatioprina omogućiti će se mitohondrijski put apoptoze patoloških T stanica nakon kostimulacije sa CD28. [107] P38 MAPK signalni put je uključen u patofiziologiju upalnih bolesti crijeva tako što Rac1 preko MAPK kinaze uzrokuje i p38 aktivaciju [108].

Osim azatioprina i drugi lijekovi koji se koriste u liječenju upalnih bolesti crijeva kao što su sulfasalazin, mesalazin, glukokortikoidi i metotreksat inhibiraju NF-κB ili IKK (IκB kinaza) [109], moguće je da i na taj način djeluje i BPC 157 tako što smanjuje stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva [25,110] koji mogu aktivirati NF-κB [68]. Inaktivni NF-κB vezan je za IκB, ali fosforilacija i posljedična razgradnja IκB dopušta NF-κB da se translocira u nukleus i veže za DNA te tako promovira transkripciju upalnih citokinskih gena. Proupalne citokine kao što su IL-1β,IL-6 i TNFalfa transkripcijski regulira NF-κB. Povećana ekspresija NF-κB je doista pronađena u pacijenata s upalnim bolestima crijeva, te administracija ASON za p65 podjedinicu NF-κB koja inhibira ekspresiju NF-κB p65 proteina u LPMC stanicama pacijenata sa ulceroznim kolitisom reducira proizvodnju proupalnih citokina. Zbog toga se smatra da aplikacija NF-κB p65 antisense oligonukleotida može biti nova mogućnost liječenja pacijenata s UC. [111]

Budući da su Szabo i suradnici pokazali da Rac1 inhibicija otežava cijeljenje ulceroznog kolitisa [105], moguće je da povećana ekspresija Rac1 nije direktno odgovorna za razvoj ulceroznog kolitisa, već posredna aktivacija MAPK signalnog puta i NF-κB pridonosi nastanku ulceroznog kolitisa. Zbog toga bi se bolji terapeutski učinci mogli postići smanjenjem aktivnosti NF-κB što je moguće da se postiže primjenom BPC 157. Budući da se pentadekapeptid BPC 157 već pokazao uspješnim u liječenju ulceroznog kolitisa [21], moguće je da to postiže smanjenjem aktivnosti NF-κB.

2.3. Uloga Rac1 inhibitora u ishemijsko-reperfuzijskim ozljedama

Osim što reperfuzija tj. uspostavljanje krvnog protoka nakon perioda ishemije može predstavljati povećani rizik ishemičnih organa za staničnu nekrozu, repefuzija se može manifestirati i u udaljenim organima te dovesti do SIRS i MODS-a. Zbog svega toga ishemijsko-reperfuzijske ozljede zauzimaju veliki udio mortaliteta. [112]

Najviše istraživana je uloga Rac1 u nastanku ishemijsko-reperfuzijskih ozljeda jetre. Terapeutski postupci koji smanjuju ROS produkciju i NF-κB aktivaciju bi mogli biti nova metoda liječenja ishemijsko-reperfuzijskih ozljeda. ROS koje Kupfferove stanice otpuštaju u vaskularni prostor i tako aktiviraju mrežu citokina mogu aktivirati i redoks-osjetljive transkripcijske faktore kao što je NF-κB. Budući da je NADPH oksidaza koja proizvodi ROS u makrofagima regulirana sa Rac1, Rac1 inhibicija se pokazala da štiti jetru od ishemijsko-reperfuzijske ozljede u štakora. Harada i suradnici su pokazali da je adenovirusom-posredovani genski transfer dominantno-negativnog Rac1 u jetri inhibirao ROS produkciju, NF-κB aktivaciju i posljedičnu aktivaciju gena reguliranih NF-κB poslije ishemijsko-reperfuzijske ozljede. [19]

Rac1 ima važnu ulogu i u oksidativnom stresu i smrti neuronskih stanica nakon moždane ishemije. I Rac GTPaza inhibitor NSC23766 i Rac1 antisense oligonukleotidi smanjuju apoptozu neuronskih stanica nakon moždane ishemije. Rac1 ima ulogu i u kasnoj neuralnoj degradaciji nakon ishemijsko-reperfuzijske ozljede. Prethodno liječenje sa Rac inhibitorom smanjuje oksidativnu neuronsku degradaciju hipokampusne CA1 regije nakon ishemijsko-reperfuzijske ozljede. Učinak Rac1 na oksidativni stres je, kao i u jetri posredovan aktivacijom NADPH oksidaze (NOX), ključnog enzima u proizvodnji superoksidnih iona. I Rac1 inhibitor i NOX2 inhibitor smanjuju aktivaciju NADPH oksidaze i stvaranje superoksida nakon moždane ishemije, te su neuroprotektivni za hipokampusne CA1 piramidne stanice nakon ishemijsko-reperfuzijske ozljede. To nam govori u prilog činjenici da Rac1 ima ključnu ulogu u aktivaciji NOX2 izoforme, koja uvelike pridonosi proizvodnji superoksida i neuronskoj degradaciji uzrokovanom oksidativnim stresom. [62]

Budući da ROS mogu aktivirati i NF-κB [113], objasniti ćemo i ulogu NF-κB u moždanoj ishemijsko-reperfuzijskoj ozljedi. Osim ROS, i hipoksija te proupalni citokini TNF i IL- β mogu aktivirati NF-κB. Iako je NF-κB poznati antiapoptoički transkripcijski

faktor, u moždanoj ishemiji NF-κB pridonosi staničnoj smrti neurona [114]. Poboljšanje ishemijsko-reperfuzijske ozljede nakon primjene dihidrokvercetina se može pripisati njegovom antioksidanskom učinku koji dovodi do smanjene NF-κB aktivacije [113]. Neuroprotektivni učinak inhibicijom NF-κB postižu i inhibitori 5-lipooksigenaze [115], antioksidansi N-acetil-cistein, LY231617 i LY341122, proteosomski inhibitor MLN519, inhibitor ubikvitin ligaze pirolidin ditiokarbamat. Postoji mogućnost da je neuroprotektivni učinak estrogena i PPARgama aktivatora uzrokovan NF-KB inhibicijom, budući da je NF-KB inhibicija jedan od njihovih unutarstaničnih učinaka. [114] Moguće je da na isti način djeluje i pentadekapeptid BPC 157 koji također sprječava ishemijsko-reperfuzijske moždane ozljede u štakora [22]. BPC 157 smanjuje transkripciju Vcam1 u NF-KB signalnom putu [35] pa je moguće je da to postiže smanjenjem aktivnosti NF-κB budući da inhibitori NF-κB mogu suprimirati sposobnost linoleinske kiseline da inducira Vcam gensku ekspresiju [51].

Rac1 i ROS su povezani i sa ishemijsko-reperfuzijskim ozljedama miokarda, zatajenjem srca i aterosklerozom, a ono što povezuje ta stanja je oksidativni stres. ROS induciraju proizvodnju TNF-alfa i na taj način uzrokuju apoptozu kardiomiocita, te bi lijekovi koji djeluju na stvaranje ROS i na endogene antioksidansne enzime kao što su glutation peroksidaza, katalaza i SOD (superoxide dismutase) mogli biti nova mogućnost liječenja ishemijsko-reperfuzijskih ozljeda. [116] Budući da Rac1 preko NADPH oksidaze uzrokuje stvaranje ROS, Rac1 inhibitori bi se mogli koristiti u liječenju ishemijsko-reperfuzijskih ozljeda miokarda. To potvrđuje rad Shan i suradnika u kojem se navodi da Rac1 inhibicija sa NSC23766 smanjuje ishemijsko-reperfuzijsku ozljedu miokarda tako što inhibira NADPH aktivaciju i ROS produkciju što dovodi do kalpain inaktivacije [63]. Jer i pentadekapeptid BPC 157 ima pozitivan učinak na ishemiju miokarda [64,117] , moguće je da to čini preko Rac1 inhibicije ili tako što djeluje na jedan od puteva koje kontrolira Rac1. Toj hipotezi ide u prilog to što i Rac1 inhibicija i pentadekapeptid BPC 157 smanjuju kardiotoksičnost induciranu doksorubicinom [60,61]

2.4. Rac1 inhibitori i virusne infekcije

Rac1 ima važnu ulogu i u virusnim infekcijama [118-120]. Budući da pentadekapeptid BPC 157 ima protuvirusni učinak na herpes viruse HSV-1 i HSV-2, arboviruse kao što su virus krpeljnog encefalitisa, Dengue virus i virus zapadnog Nila te na hepatitis A virus, CMV i

LCM virus [121,122] neke od tih učinaka ćemo usporediti s ulogom Rac1 i NF-KB u virusnim infekcijama. Na taj način ćemo pokušati objasniti molekularni mehanizam BPC 157 ako se dokaže da djeluje na te signalne puteve.

Početi ćemo sa HIV virusom, koji uzrokuje HIV infekciju koja nakon određenog vremena može prijeći u AIDS. Signaliranje kroz površinske proteine T limfocita, TCR/CD3 i CD28 može aktivirati HIV-1 LTR, te lijekovi koji blokiraju T staničnu aktivaciju također inhibiraju LTR [123]. Budući da CD28 može pozitivno i negativno regulirati HIV infekciju i replikaciju nešto više ćemo reći o ulozi CD28 u transkripciji HIV-1 virusa. CD28 signaliranje kontroliraju četiri tirozinske rezidue, koje kada se fosforiliraju aktiviraju razne kinaze i fosfataze te na taj način te rezidue mogu utjecati na IL-2 produkciju i HIV-1 transkripciju. Delecija sve četiri tirozinske rezidue osim što uzrokuje smanjenje sposobnosti da se poveća IL-2 produkcija, uzrokuje i smanjenje HIV transkripcije. To nam govori da fosforilacija tih rezidua osim što negativno regulira HIV transkripciju na Tat-ovisan način (Tat je protein koji kodira sam virus) fosforilanjem Tyr 173 i aktiviranjem PI3K, ima važnu ulogu u povećanju HIV transkripcije te da je može pozitivno kontrolirati. Tako su Cook i sur. pokazali da signalirajući putevi koji su aktivirani fosforiliranjem tirozinske rezidue 200 od CD28 su potrebni za učinkovitu ekspresiju HIV-1 transkripcije u aktivnim T-stanicama. Signalirajući putovi koji su aktivirani Tyr 200 fosforilacijom su Rac1 i NF-KB. Vav je, kao što smo već spomenuli, GEF za Rac1 te njegova fosforilacija aktivira Rac1. Njegova se fosforilacija događa i poslije vezanja CD28 za T stanični receptor, a uzrok toj fosforilaciji i posljedičnoj aktivaciji je fosforilacija CD28 tirozinskih rezidua 173 i 200. Fosforilacija vav zatim aktivira Rac1 koji je potreban za HIV-1 transkripciju uzrokovanu CD28 aktivacijom. Vav i Rac1 aktiviraju zatim NF-KB, koji je također potreban za CD28-ovisnu aktivaciju HIV-1 transkripcije. Iako konstitutivno aktivna MEKK1 uzrokuje jaku aktivaciju HIV-1 LTR što ide u prilog tome da MEKK1 može aktivirati NF-KB, istraživanja koja su koristila inhibitore MEK1 i p38 pokazala su da ti putevi nisu uključeni u CD28 Tyr200 posredovanu HIV-1 transkripciju. [26] Ako se pokaže da BPC 157 djeluje i na HIV viruse, postojala bi mogućnost da je mehanizam njegovog učinka djelovanje na Rac1 ili NF-KB, budući da bi inhibicija Rac1 ili pak smanjenje aktivnosti NF-KB mogli utjecati na smanjenje HIV-1 transkripcije u aktiviranim T-stanicama.

Dengue virus može uzrokovati dengue hemoragičnu vrućicu, te se in vitro infekcija humanih endotelnih stanica sa DENV koristi da se proučava virusna patogeneza. Pokazano je

da je membranski protein α5β3 integrin receptor za DENV-2, te da infekcija HMEC-1 stanica sa DENV-2 uzrokuje aktinsku reorganizaciju. Zamudio-Meza i suradnici su pokazali da vezanje DENV-2 za HMEC-1 stanice uzrokuje formaciju filopodija, koji omogućavaju internalizaciju virusnih čestica. Budući da je formacija filopodija regulirana GTPazama iz Rho obitelji, Zamudio-Meza i suradnici su tretirali HMEC-1 stanice sa Rac1 inhibitorom i RhoA inhibitorom prije nego što su ih inficirali sa DENV-2. Dok RhoA inhibitor nije imao učinka na broj inficiranih stanica u usporedbi sa netretiranim inficiranim stanicama, Rac1 inhibitor NSC23766 je smanjio broj inficiranih stanica na 2-3%. Budući da nije došlo do formacije filopodija, ulazak virusa i infekcija su bile onemogućene. Do formacije filopodija vjerojatno nije došlo jer Rac1 aktivira PAK, kinazu koja može aktivirati Cdc42 koji je preko WAS,WASP i ERK uključen u organizaciju filopodija. [124]

Wang i suradnici su ispitivali ulogu Rac1 u DENV-2 inficiranim ECV304 stanicama [120]. ECV304 stanice se prema Brown i suradnicima smatraju neprimjerenom staničnom linijom za istraživanje stanične biologije endotelnih stanica jer nisu HUVEC podrijetla iako imaju neke endotelne karakteristike, ali su korisne za proučavanje farmakologije receptora [125]. DENV-2 ulazi u stanice preko endocitoze posredovane klatrinom, te je Rac1 poznat kao negativni regulator endocitoze posredovane klatrinom. Wang i suradnici su pokazali da je smanjenje Rac1 aktivnosti potrebno za ulaz DENV-2 u stanice, te da DENV- 2 infekcija i ekspresija E-proteina uzrokuju Rac1 aktivaciju. Inhibicija Rac1 je smanjila ekstracelularni i intracelularni titar DENV-2 značajno, t.j. inhibirala je DENV-2 produkciju ali je imala mali utjecaj na oslobađanje virusa. [120] Ovi podaci nam govore da Rac1 može imati i pozitivnu i negativnu ulogu u ulazu DENV-2 u stanicu ovisno je li virus koristi filopodije za ulaz u stanicu ili klatrinom posredovanu endocitozu, te da Rac1 inhibicija može smanjiti produkciju DENV-2.

Dengue hemoragična vrućica može biti praćena sa jetrenim oštećenjem. Marianneau i suradnici su istražili ulogu NF-KB u jetrenom oštećenju uzrokovanom Dengue virusom na HepG2 stanicama. DENV-1 je uzrokovao apoptozu jetrenih HepG2 stanica i aktivaciju NF-KB. Koristeći fosforilirane oligonukleotide koji sadrže NF-KB vezujuća mjesta inhibirali su vezanje NF-KB za nativnu DNA te je došlo do inhibicije apoptoze HepG2 stanica zaraženih sa Dengue virusom. [126] Silva i suradnici su pokazali da Dengue virus nestrukturalni protein NS-1 povećava NF-KB transkripcijsku aktivnost u HepG2 stanicama [127]. Djelovanje na Rac1 ili na NF-KB bi također moglo objasniti učinkovitost BPC 157 na infekciju Dengue

virusom u miševa. Ako bi se BPC 157 primijenio prije virusa, za vrijeme opservacije miševa nikakvi znaci bolesti nisu se mogli primijetiti. [122]

Rana HSV-1 infekcija epitelnih MDCKII stanica je ovisna o Rac1/Cdc42 signaliranju. Konstitutivno aktivni Rac1 i Cdc42 su uzrokovali smanjenje infektivnosti, kao i dominantno negativni Cdc42. Uzrok njihova inhibitornog djelovanja nije bio učinak na virusnu internalizaciju, što su pokazali Hoppe i suradnici. Oni nisu sigurni je li inaktivni Cdc42 doista doveo do dominantno-negativnog efekta, ali ako je smatraju da kruženje između aktivne i neaktivne forme Cdc42 ključno za uspješnu infekciju budući da je i konstitutivno aktivni i dominantno negativni Cdc42 doveo do smanjenja infektivnosti HSV-1. [118] Petermann i suradnici su također pokazali da prekomjerna ekspresija Rac1 i Cdc42 dovodi do smanjenja infektivnosti, ali su pokazali i da redukcija Rac1 i Cdc42 ne utječe na infekciju HaCaT stanica HSV-1 virusom.[128]

I NF-KB ima ulogu u patogenezi HSV infekcije, te njegova perzistentna aktivacija nije samo odgovor domaćina na virus, već prema Amici i suradnicima može imati važnu ulogu u replikaciji virusa tako što modulira ekspresiju ICP0 (infected cell protein). HSV-1 infekcija uzrokuje bifazičnu aktivaciju NF-KB. Prva aktivacija IKK je bila neovisna o virusnoj replikaciji, trajala je približno 2 sata te je uzrokovala ponovnu sintezu IκBα, inhibitornog proteina NF-KB. Sinteza IKBα je normalni mehanizam autoregulacije aktivnosti NF-KB, te taj mehanizam izostaje nakon druge aktivacije IKK HSV-1 virusom. Drugi val aktivacije IκK, kinaze koja fosforilira IκB i tako uzrokuje translokaciju NF-KB u nukleus i vezanje za DNA, je ovisan o replikaciji virusa i jer nije potaknuo sintezu inhibitornog proteina IκBα uzrokovao je perzistentnu aktivaciju NF-KB. Perzistentna aktivacija NF-KB nakon infekcije HSV-1 virusom je prisutna u različitim tipovima epitelnih, neuralnih i limfatičnih stanica, te se smatra da ima veliku ulogu u patogenezi virusa. Amici i suradnici su pokazali da je mogući uzrok perzistentne aktivacije NF-KB neuspjeh regrutacije NF-KB za promotor IKBα gena nakon drugog vala NF-KB aktivacije. Oba vala aktivacije NF-KB su rezultirala ICP0 mRNA transkripcijom što je rezultat regrutacije NF-KB na virusni ICP0 promotor. PGA_1 je kompletno prevenirao IκBα degradaciju i NF-KB aktivaciju budući da su ciklopentanon prostanglandini potentni inhibitori NF-KB aktivacije, te je to rezultiralo inhibicijom virusne mRNA ekspresije. Inhibicija NF-KB nije jedini mehanizam djelovanja ciklopentanon prostanglandina te se zbog toga ne može znati je li to uzrok PGA_1 antivirusnog djelovanja. [129] No La Frazia i suradnici su pokazali da proteosomski inhibitori MG132 i MG115, koji

inhibiraju NF-KB aktivaciju posjeduju aktivnost protiv herpes virusa koja je NF-KB ovisna tako što inhibira HSV-1 ICP0 gensku ekspresiju i suprimira virusnu replikaciju. [130] Budući da i BPC 157 inhibira HSV virusnu reprodukciju na VERO stanicama te je se pokazao učinkovitijim od primijenjenog aciklovira u većoj dozi [122], moguće je da je upravo NF-KB inhibicija mehanizam odgovoran za njegov antivirusni učinak.

Rac1 bi mogao biti nova terapeutska meta za liječenje infekcija influenca virusom. Dierkes i suradnici su istraživali utjecaj NSC23766 na replikaciju IV na humanim plućnim epitelnim stanicama A549. Inhibicija Rac1 sa NSC23766, koji ne utječe na aktivnost drugih Rho GTPaza, je uzrokovala smanjenje replikacije soja influenca virusa iz 2009, kao i ptičjeg virusnog soja. Najveće smanjenje titra virusa bilo je uzrokovano koncentracijom NSC23766 od 100 μM, te ta koncentracija nije pokazivala nikakav veći učinak na metaboličku aktivnost i apoptozu neinficiranih A549 stanica. Veće koncentracije od 100 μM također nisu mogle poboljšati antivirusni učinak. Rac1 inhibicija je također se pokazala otpornom za razvoj rezistencije na lijekove za razliku od amantadina koji je nakon samo dva puta infekcije istih stanica sa influenca virusom pokazivao znakove rezistencije. Rac1 inhibitor i nakon desetog puta infekcije influenca virusom nije pokazivao znakove rezistencije. U miševa inficiranim sa influenca virusom i tretiranim sa NSC23766 došlo je do smanjenja replikacije virusa u usporedbi sa netretiranim miševima, te su se nakon osmog dana polovica tretiranih miševa kompletno oporavila. Neslaganje između podataka da Rac1 dominantno negativni mutanti povećavaju titar virusa, a Rac1 inhibitori smanjuju može se objasniti činjenicom da oni pokazuju različite efekte na Rac1- posredovano signaliranje tako što Rac1 inhibitori smanjuju samo aktivaciju Rac1 preko Trio i Tiam1. Dierkes i suradnici smatraju da je mehanizam antivirusnog učinka NSC23766 smanjenje aktivnosti virusne polimeraze, što rezultira poremećenom sintezom virusnih proteina. [119]

Prema Nimmerjahnu i suradnicima aktivni NF-KB je preduvjet za influenca infekciju. Rezultat inhibicije NF-KB je smanjena infekcija primarnih humanih fibroblasta i humanih plućnih epitelnih stanica sa influenca virusom. [131] I pentadekapeptid BPC 157 je pokazao veliki inhibitorni učinak protiv influenca A virusa [122], te bi djelovanje na NF-KB signalni put i na Rac1 moglo objasniti njegov mehanizam djelovanja. Također je moguće i da je učinak Rac1 u virusnim infekcijama bio uzrokovan djelovanjem na NF-KB, te je moguće da je to zajednički mehanizam koji povezuje pentadekapeptid BPC 157 i Rac1 inhibitore.

2.5. Uloga Rac1 inhibitora u cijeljenju

Rac1 je potreban za normalno cijeljenje. To pokazuju transgenični N17Rac1 miševi koji imaju defekte u migraciji i proliferaciji keratinocita.[132] Inhibicija Rac1 sa NSC23766 dovodi i do povećane ekspresije kolagena tipa 1 u humanim dermalnim fibroblastima zbog smanjene kolagenazne aktivnosti. MMP1 je kolagenaza koja je smanjena u dermalnim fibroblastima tretiranim sa Rac1 inhibitorom. Uloga MMP je da ubrzavaju degradaciju kolagena i njihova povećana ekspresija je pronađena u kroničnim necijeljujućim ranama.[133] Muller i suradnici su istraživali ulogu matriks metaloproteinaza u cijeljenju dijabetičkog ulkusa stopala, te su pokazali da nisu sve MMP prisutne u suvišku štetne za cijeljenje. Oni smatraju da bi novi lijekovi trebali biti inhibitori metaloproteinaza koje luče upalne stanice (MMP-8 i MMP-9). MMP-1 ekspresija je bila veća u početku u osoba koje su imali bolji odgovor na cijeljenje ulkusa te je kod njih postupno ta ekspresija nestajala, što je u suprotnosti s osobama koje su imale slabo cijeljujući ulkus. Kod njih je u početku bila smanjena razina MMP1, ali je ostala stabilna tijekom cijeljenja.[134]

Iako simvastatin snažno inhibira Rac1 aktivnost, te smanjuje ekspresiju MMP1 u humanim glatkim mišićnim stanicama [135], on i ubrzava cijeljenje [136-138]. Smatra se da je mehanizam ubrzanog cijeljenja pri primjeni statina povećana ekspresija NO i VEGF-a [138]. Ako se pokaže da je BPC 157 inhibitor Rac1 kao što su i statini [139], to bi moglo značiti da je isto kao i kod statina uzrok poboljšanog cijeljenja povećana VEGF ekspresija i indukcija NO [35,65]. Dok u cijeljenju i BPC 157 i statini povećavaju ekspresiju VEGF, atorvastatin smanjuje VEGF ekspresiju u ne-sitnostaničnom karcinomu pluća [140], a BPC 157 inhibira VEGF signaliranje preko MAPK kinaza signalnog puta u humanoj melanocitnoj staničnoj liniji[20]. Izgleda da i statini i BPC 157 imaju različiti učinak na VEGF signaliranje u tumorskim i normalnim stanicama.

3. MOGUĆI MEHANIZAM DJELOVANJA PENTADEKAPEPTIDA BPC 157

3.1. Uloga pentadekapeptida BPC 157 u liječenju depresije

BPC 157 je prvotno bio namijenjen kao antiulkusno sredstvo, ali budući da mnogi antidepresivi imaju antiulkusni učinak, moguće je i da neki antiulkusni agenti imaju antidepresivna svojstva. Antidepresivni učinak pentadekapeptida BPC 157 pokazuje smanjenje imobilnosti štakora u forsiranom testu plivanja, te je efektivan u kroničnom nepredvidivom stres testu. [29] Budući da neki antidepresivi mogu utjecati na ERK fosforilaciju , a pokazalo se i da ERK fosforilacija sudjeluje u cijeljenju ulkusa [141], moguće je da je zajednički unutarstanični učinak BPC 157 i antidepresiva isti – povećanje ERK fosforilacije u određenim dijelovima mozga i u krvnim žilama, te je moguće da je taj unutarstanični učinak odgovaran za antidepresivno djelovanje i cijeljenje ulkusa. Tu hipotezu još treba istražiti.

Dosad je pokazano da BPC 157 povećava ERK fosforilaciju u HUVEC stanicama [35], a smanjuje u melanomskim tumorskim stanicama [20] te se njegovo djelovanje na fosforilaciju ERK u neuronima još ne zna, ali jer povećava sintezu serotonina [142] moguće je i da uzrokuje povećanu ERK fosforilaciju u nekim neuronima budući da serotonin uzrokuje i ERK aktivaciju. Osim serotonina, i drugi neurotransmiteri i faktori rasta (dopamin, noradrenalin, neurotrofini) mogu povećati aktivaciju ERK 1/2. [143]

U prilog hipotezi da je ERK fosforilacija unutarstanični učinak odgovoran za antidepresivni učinak nekih lijekova, govori rad Fenga i suradnika koji su pokazali da je moguće da je deficijencija u ERK signalnom putu odgovorna za manifestaciju depresivnog ponašanja. Neurokemijski mehanizam djelovanja klomipramina (CLI) se još ne zna, iako se zna da je triciklički antidepresiv koji inhibira ponovnu pohranu serotonina. Iako primijenjen u odrasloj dobi klomipramin djeluje kao antidepresiv, primijenjen u neonatalnoj dobi uzrokuje depresivno ponašanje u odrasloj dobi i smanjenje aminergičke aktivnosti. Štakori tretirani klomipraminom u neonatalnoj dobi pokazuju mnoge bihevioralne i psihološke promjene, te se CLI tretirani štakori koriste kao model za ljudsku endogenu depresiju. Taj model su koristili i Feng i suradnici te su pokazali da štakori tretirani neonatalno sa klomipraminom imaju veliko smanjenje pERK 1/2 u frontalnom korteksu i smanjenje pERK 1 u hipokampusu, te povećanje protein fosfataze 1(PP 1) koja defosforilira ERK i u hipokampusu i frontalnom korteksu. Za

razliku od povećanja PP 1 u štakora tretiranih klomipraminom, u depresivnih osoba koje su počinile samoubojstvo, osim smanjenja pERK nađeno je povećanje MKP 2, još jedne fosfataze koja može smanjiti razinu aktiviranog ERK. [143] Ti podaci nam govore da je moguće da pERK jedan od glavnih unutarstaničnih uzroka pozitivnog djelovanja antidepresiva.

Jedan od uzroka moguće važnosti ERK aktivacije u liječenju depresije bi mogla biti povezanost ERK sa transkripcijskim faktorom CREB, koji također regulira neuralnu plastičnost. Kada je ERK aktivacija smanjena CREB-ovisna plastičnost će biti smanjena. I obrnuto, CREB fosforilacija je ključna za ERK-ovisnu plastičnost. Qi i suradnici su pokazali da je poremećena aktivacija ERK i CREB u hipokampusu i prefrontalnoj regiji u štakora koji pokazuju depresiji slično ponašanje nakon forsiranog stres testa plivanja. Primjenom fluoksetina došlo je do povećanja fosforilacije ERK i CREB, te smanjenja depresiji sličnog ponašanja u štakora koji su bili izloženi forsiranom testu plivanja. [144]

Trebamo napomenuti da neki radovi pokazuju da ERK aktivacija u hipokampusu uzrokuje depresivni učinak, što bi značilo da je antidepresivni učinak fluoksetina koji su pokazali Qi i suradnici, bio uzrokovan povećanom fosforilacijom ERK u prefrontalnoj regiji [145]. Fumagalli i suradnici smatraju da je smanjenje ERK fosforilacije koje su pokazali da nastane nakon kroničnog tretmana sa fluoksetinom odgovorno za antidepresivni učinak, te da je povećanje ERK fosforilacije u regijama u kojima fluoksetin uzrokuje smanjenje fosforilacije, odgovorno za antimanični učinak litija i valproata [146].

Moguće je da ERK nije odgovoran za antidepresivni učinak, već transkripcijski faktor CREB kojeg pERK fosforilira i tako aktivira. Zbog toga ćemo reći nešto više o važnosti transkripcijskog faktora CREB u depresiji, te na taj način pokušati objasniti moguće antidepresivno djelovanje BPC 157 ako se pokaže da utječe na CREB aktivaciju u neuronima. Razvojem ciljanih pametnih lijekova koji bi djelovali unutarstanično i na određene dijelove mozga bi se znatno poboljšala učinkovitost liječenja depresije, a budući da BPC 157 svoje pozitivne učinke ostvaruje vrlo vjerojatno djelujući unutar stanice, lako je moguće da djeluje osim na NF-KB, o čijoj mogućoj povezanosti sa BPC 157 smo govorili u uvodu, i na CREB.

U pacijenata koji su uzimali antidepresive prije smrti nađena je povećana CREB fosforilacija, a u onih pacijenata koji nisu uzimali antidepresive prije smrti nađena je

smanjena CREB fosforilacija u temporalnom korteksu. Virusom-posredovana prekomjerna izraženost CREB-a u gyrusu dentatusu hipokampusa štakora smanjila je vrijeme imobilnosti u FST i smanjila broj neuspjelih pokušaja bijega u testu naučene bespomoćnosti, dok je prekomjerna ekspresija CREB-a u bazolateralnoj amigdali i *nucleusu accumbensu* uzrokovala depresivne odgovore u FST i testu naučene bespomoćnosti. Ti podaci nam govore da CREB, ovisno o dijelu mozga unutar kojeg je aktiviran, može imati i pro i anti-depresivne učinke. [147]

Razlog tomu bi mogla biti različiti geni koje CREB regulira u pojedinim dijelovima mozga. Moguće je da je razlog antidepresivnog djelovanja CREB-a u hipokampusu poticanje ekspresije BDNF, a razlog pro-depresivnog djelovanja u NAc bi moglo biti poticanje ekspresije dinorfina. Smatra se da agonisti dinorfina mogu uzrokovati negativne emocionalne simptome koji liče na depresiju, te također mogu uzrokovati disforiju u ljudi. I antagonizam dinorfina i blokada CREB-a u NAc miševa je uzrokovala sličan antidepresivni učinak, te nam to govori da je moguće da je dinorfin uzrok pro-depresivnog djelovanja CREB-a u NAc. [148] Osim dinorfina,moguće je i da ekspresija BDNF u NAc ima prodepresivne učinke. Točnije, moguće je da BDNF ima različite uloge u hipokampusu i VTA-NAc putu.[149]

Smatra se i da transkripcijski faktor NF-KB ima ulogu u depresiji. Inhibicija neurogeneze u hipokampusu spada u pro-depresivne učinke stresa, te su ti učinci blokirani administracijom NF-KB inhibitora. I depresivno ponašanje uzrokovano kroničnom izlaganju stresu se smatra da je posredovano NF-KB aktivacijom. To pokazuje izlaganje miševa kroničnom nepredvidivom testu (CUS) i nepostojanje razlike u miševa koji su primali NF-KB inhibitore 4 tjedna i kontrolnih miševa koji nisu bili izlagani CUS. [150] Pace i suradnici su uspoređivali NF-KB aktivaciju prije i poslije Trier socijalnog stres testa između medicinskih zdravih muškaraca sa trenutnom velikom depresijom i povećanim stresom u mladosti sa ne-depresivnim muškarcima. Trier socijalnim stres testom inducirano povećano NF-KB vezanje na DNA je bilo veće u muškaraca sa velikom depresijom, te je bilo veće što je depresija bila izraženija. [151]

Moguće je i da Rac1 ima važnu ulogu u depresiji, te da bi zbog toga Rac1 inhibitori negativno utjecali na depresiju. U *nucleusu accumbensu* (NAc) miševa podložnim kroničnom socijalnom stresu poraza pronađena je smanjena Rac1 ekspresija. Nakon inhibicije sa klasom 1 histonskih deactilaza sa MS-275 došlo je do reverzije smanjenja Rac1 i smanjenja depresiji-

sličnog ponašanja, kao što je socijalno izbjegavanje. I virusom posredovano smanjenje Rac1 ekspresije ili inhibicija Rac1 u NAc povećava socijalno izbjegavanje uzrokovano socijalnim porazom i anhedoniju u miševa. Ovi podaci govore da bi epigenetska regulacija Rac1 u NAc mogla biti uključena u veliki depresivni poremećaj [152].

U ovom dijelu rada pokušali smo pokazati moguće pozitivno djelovanje BPC 157 kada bi se dokazalo da utječe na aktivaciju ERK, transkripcijskih faktora CREB i NF-KB ili Rac1. BPC 157 u Porsoltovom testu smanjuje imobilnost štakora više nego imipramin [29] te u određenim dijelovima mozga povećava sintezu serotonina. Jedna od tih regija je i nucleus accumbens [142]. Serotonin može i inhibirati i aktivirati CREB. Tijekom neuralne aktivnosti ga inhibira, a u odsutnosti neuralne aktivnosti ga aktivira.[153] To bi značilo da je moguće da tijekom neuralne aktivnosti u NAc BPC 157 smanjuje aktivaciju CREB- a budući da može povećati sintezu serotonina u tom dijelu mozga, te bi to moglo dovesti do smanjene ekspresije dinorfina budući da CREB može povećati ekspresiju dinorfina [154].

3.2. Moguća uloga pentadekapeptida BPC 157 u neuropsihijatrijskim poremećajima

Pentadekapeptid BPC 157 se protivi smetnjama ponašanja nakon akutne i kronične izloženosti amfetaminu.[155,156] Mogući razlog tome je djelovanje na MAO-A, budući da smanjenje MAO-A uzrokuje abnormalno ponašanje. Amfetamin djeluje na transkripcijske faktore NF-KB i AP-1 tako što im povećava aktivnost, što onda dovodi do smanjenja MAO-A. Liu i suradnici su koristeći aptamere koji blokiraju vezanje na transkripcijske faktore AP-1 i NF-KB pokazali da njihovom primjenom dolazi do obrata u razini MAO-A, kao i smanjenja amfetaminom uzrokovanog abnormalnog ponašanja. [157]

Mogući uzrok inhibicije stereotipnog ponašanja uzrokovanog amfetaminom nakon aplikacije BPC 157 bi moglo biti i djelovanje na ERK, CREB ili dinorfin. Shi i suradnici su pokazali da inhibicija ERK smanjuje promjene u ponašanju uzrokovane amfetaminom. Blokada ERK signalnog puta rezultira smanjenom aktivacijom CREB-a koja nastaje nakon aktivacije dopaminskih i glutamatskih receptora, a blokada CREB-a je uzrok smanjene ekspresije preprodinorfina u striatumu. [158]

Ako se pokaže da BPC 157 svoj učinak na smanjenje smetnji ponašanja uzrokovanim amfetaminom postiže djelovanjem na razinu dinorfina u striatumu, to bi moglo objasniti ne samo njegov antidepresivni učinak budući da se smatra da je povećanje dinorfina u tom dijelu mozga odgovorno za pro-depresivne učinke [148], već bi otvorilo mogućnost liječenja ovisnosti sa BPC 157. Naime, akutna i kronična uporaba amfetamina povećava razinu dinorfina [159], te je taj učinak sličan učinku kokaina, nikotina i etanola koji također povećavaju strijatalnu ekspresiju prodinorfina. [160]

Čini se da depresiju i ovisnost povezuje dinorfin, te prema Shippenbergu i suradnicima stres, kao i druga stanja koja aktiviraju dinorfin u ovisnika mogu izazvati stanje depresije koje može povećati nagrađujući efekt sredstva ovisnosti. Lijekovi koji djeluju na dinorfin/KOR sustav bi mogli biti odlično sredstvo za liječenje ovisnosti. [160] Prema Muschampu i suradnicima uzrok antidepresivnog, anksiolitičkog, kao i efekta protiv straha i želje za kokainom KOR antagonista moguće je pripisati smanjenju stresa. Čini se da je povećanje dinorfina i CREB-a nakon korištenja psihostimulansa rezultat negativne povratne sprege da se smanji prekomjerna ekspresija dopamina nastala nakon njihova korištenja. CREB-uzrokovano povećanje dinorfina djeluje na inhibitorne KOR receptore te tako uzrokuje smanjenje dopamina. [161]

Dinorfin je povezan i sa diskinezijom u pacijenata sa Parkinsonovom bolesti koji su na L-DOPA terapiji. U štakora L-DOPA inducira povećanu ekspresiju prodinorfina u striatumu, te su akutni nevoljni pokretni povezani sa FosB- srodnim proteinima, koji mogu biti u interakciji sa prodinorfin promotorom i na AP-1 i CRE mjestu. Zbog toga ne iznenađuje da fosB antisense apliciran intrastrijatalno dovodi do smanjenja prodinorfina i sprječava nastanak akutnih nevoljnih pokreta. [162]

Sgroi i suradnici su pokazali da su visoke razine preproenkefalina povezane sa lokomotornom hiperaktivnosti i kružećim ponašanjem te da su one povezane sa hipersenzitacijom DA-denerviranog područja na L-DOPU. Također su pokazali da je viša razina prodinorfin mRNA u lateralnom dijelu striatuma povezana sa teškoćom i frekvencijom diskinezije, što je u skladu s činjenicom da je lateralni dio striatuma povezan s pokretima tijela više nego s lokomotornom aktivnosti. Sgroi i suradnici su postavili hipotezu da bi modulacija enkefalina i dinorfina prije početka tretmana s L-DOPOM mogla spriječiti diskineziju. [163]

Dinorfin je povezan i sa shizofrenijom te KOR agonisti mogu u ljudi uzrokovati halucinacije i depersonalizaciju . Pacijenti sa shizofrenijom koji imaju lošu prognozu imaju povećane razine dinorfina A u CSF. No ne slažu se sve studije s tom, ali većina se slaže da pacijenti sa shizofrenijom imaju promijenjenu razinu dinorfina. [164] Budući da je moguće da je dinorfin 1-17 povezan s NF-KB tako što je pokazano da u humanoj monocitnoj staničnoj liniji THP-1 inhibira NF-KB/p65 translokaciju [165], reći ćemo nešto više o povezanosti NF-KB i shizofrenije. Treba uzeti u obzir da, prema našem znanju, nisu provedena istraživanja kako dinorfin djeluje na NF-KB u mozgu. O utjecaju NF-KB na dinorfin govori rad Bakalkina i sur., te prema njima bi faktor I za kojeg smatraju da je vjerovatno p65/ c-Rel dimer bi mogao aktivirati transkripciju prodinorfina, a faktor II (p65/p50 dimer) bi je mogao inhibirati za što je moguće da je odgovoran p50 protein. [166]

Isto kao i za dinorfin, studije o ulozi NF-KB u shizofreniji imaju različite rezultate. Tako Song i sur. smatraju da bi NF-KB inhibitori mogli biti korisni u pacijenata sa shizofrenijom jer se NF-KB aktivacija u perifernoj krvi povećala u pacijenata sa shizofrenijom u usporedbi sa zdravim osobama. [167] Za razliku od te studije, Roussos i sur. su pokazali da je NF-KB signaliranje u moždanom tkivu starijih pacijenata sa shizofrenijom smanjeno. Pacijenti sa shizofrenijom su imali smanjenu razinu p65 proteina, kao i njegovu smanjenu aktivaciju. Mogući razlog različitim rezultatima u ovim studijama je različit stadij bolesti, tkivo koje je uzimano za analizu, kao i korištenje neuroleptika. Kronično uzimanje neuroleptika ili nema utjecaja na p65 aktivnost ili je povećava. [168]

Budući da je moguće da p65/c-Rel dimer može aktivirati prodinorfin transkripciju [166] te je njegova ekspresija povezana s L-DOPA induciranom diskinezijom [163], ne iznenađuje da su Mas i sur. pokazali da je povećana NF-KB aktivacija u perifernoj krvi u pacijenata sa ekstrapiramidalnim simptomima induciranim antipsihoticima. [169] Ako se utvrdi da BPC 157 djeluje na ERK, CREB ili NF-KB to bi značilo da bi mogao djelovati na razinu dinorfina bez direktnog utjecaja na KOR receptora, te je moguće da bi se bolji rezultati u liječenju ovisnosti,depresije, shizofrenije i diskinezije mogli postići modulacijom tih signalnih puteva i posljedičnim djelovanjem na razinu dinorfina nego direktnim djelovanjem na KOR receptore.

3.3. Pentadekapeptid BPC 157 i multipla skleroza

Multipla skleroza je najčešća kronična upalna demijelinizirajuća bolest CNS-a koju karakterizira autoimunosni upalni odgovor koji uzrokuje demijelinizaciju, aksonalnu degradaciju, te smrt neurona i oligodendrocita. Razlikujemo relapsno-remitirajući (RR-MS), primarno progresivni (PP-MS) te sekundarno-progresivni oblik multiple skleroze(SP-MS). [170]. Pentadekapeptid BPC 157 je trenutno u fazi kliničkih istraživanja za liječenje multiple skleroze. U životinjskom modelu multiple skleroze BPC 157 suzbija oštećenje mozga i motornu onesposobljenost štakora izazvanu kuprizonom [54]. Kuprizon je kelator bakra koji uzrokuje demijelinizaciju,a ona je uzrokovana zbog smrti oligodendrocita te je praćena aktivacijom astrocita i mikroglije. Uklanjanje kuprizona iz prehrane omogućuje potpunu remijelinizaciju u vremenu od 5 tjedana, što je vjerojatno uzrokovano proliferacijom prekursorskih stanica oligodendrocita (OPC). [170]

U ovom dijelu rada pokušati ćemo objasniti molekularni mehanizam učinkovitosti BPC 157 u multiploj sklerozi te ćemo početi s ERK signalnim putem. ERK 1/2 signalni put ima veliku ulogu u regulaciji mijelinskog rasta, i to je zajednički mehanizam kojeg koriste i Schwannove stanice i oligodendrociti [171]. Fyffe-Maricich i suradnici tvrde da terapija koja bi povećala signaliranje kroz ERK 1/2 signalni put, bi bila korisna ne samo da potakne bržu remijelinizaciju već i da potakne stvaranje deblje mijelinske ovojnice koja bi tako CNS aksone činila manje vulnerabilnim za buduće epizode demijelinizacije. Pacijenti sa MS imaju najčešće RR oblik bolesti, u kojem su periodi aktivne demijelinizacije praćeni periodima oporavka u kojem su nove mijelinske ovojnice stvorene. Te ponovo stvorene mijelinske ovojnice su dosta tanke s obzirom na dijametar aksona, a budući da gubitak aksona predstavlja najveću patološku korelaciju s funkcionalnim ograničenjima u MS pacijenata, terapija koja bi povećala brzinu remijelinizacije i mijelinsku debljinu bi imala najveći utjecaj na očuvanje aksona i tako bi smanjila simptome bolesti. [172]

ERK aktivacija se smatra da je uzrokom pozitivnog djelovanja povišene ekspresije Dock3 u kuprizonovom modelu demijelinizacije. Dock3 pripada atipičnoj obitelji gvanin zamjenskih faktora (GEF) te on može aktivirati Rac1. Rac1 signaliranje je ključno da stimulira ERK signaliranje preko Pak1-posredovane kontrole MEK1/2 fosforilacije. ERK signaliranje je povezano sa oligodendrocitnim putem preživljenja poslije izlaganja oksidativnom stresu, te su

ERK-KO miševi više podložni da razviju EAE. [173] Svi ovi podaci nam govore o važnosti ERK signaliranja tijekom demijelinizacije. No zanimljivo je napomenuti, da Rac1 aktivnost može povećati stvaranje reaktivnih spojeva kroz povišenu aktivnost NADPH oksidaze, te tako povećati aktivnost NF-KB,a ti se putevi smatraju da negativno utječu na tijek MS. Zbog toga je moguće da ERK aktivacija, tj. njeni pozitivni učinci na oksidativni stres i na oligodentrocitno preživljenje nadvladavaju negativne učinke Rac1 aktivacije u kuprizonovom modelu demijelinizacije. Budući da je razina BDNF smanjena u kuprizonovom modelu smanjena, a Dock3 djeluje nakon aktivacije BDNF signalnog puta, moguće je da je Dock3 i posljedična ERK aktivacija uzrokom pozitivnog djelovanja lijekova koji povećavaju ekspresiju BDNF, kao što su lakvinimod i glatiramer acetat. [173]

Reaktivni kisikovi spojevi imaju važnu ulogu u patogenezi multiple skleroze, pa je moguće da BPC 157 uzrokuje smanjenje ROS [25,110] te da je to smanjenje uzrok njegovog pozitivnog djelovanja na MS. Koncentracija reaktivnih kisikovih i dušikovih spojeva se povećava tijekom upale, što može uzrokovati oksidativni ili nitrativni stres koji može dovesti do oštećenja lipida, proteina i nukleinskih kiselina što na kraju može uzrokovati smrt stanice. Zbog povišenog sadržaja željeza i smanjene antioksidantne obrane, oligodendrociti su više osjetljivi na oksidativni stres. Osim što smrt oligodendrocita može uzrokovati demijelinizaciju, i reaktivni kisikovi spojevi mogu oštetiti mijelinsku ovojnicu tako što promoviraju njen napad od strane makrofaga. [174]

Trenutno postoji već nekoliko modela kuprizonom izazvane demijelinizacije, u kojima inhibicija ili aktivacija nekoga signalnog puta štiti od demijelinizacije ili promovira remijelinizaciju, pa je moguće da i BPC 157 djeluje na jedan od tih načina. Tako rolipram, koji je bio korišten kao antidepresiv u kliničkim istraživanjima koja su bila prekinuta jer je izazivao mučninu, promovira remijelinizaciju moguće kroz aktivaciju MEK-ERK signalnog puta u kuprizonom induciranoj demijelinizaciji [175]. I lakvinimod spriječava demijelinizaciju izazvanu kuprizonom tako što smanjuje aktivaciju NF-KB u astrocitima [176]. Budući da smo već govorili o pozitivnoj ulozi ERK fosforilacije u MS, sada ćemo reći nešto i o ulozi NF-KB. No zanimljivo je napomenuti da putevi koji uzrokuju ERK aktivaciju kao što je MEK kinaza uzrokuju i NF-KB aktivaciju [177], dok većina lijekova koji se koriste u liječenju MS uzrokuje inhibiciju NF-KB. Zbog toga je moguće da bi BPC 157, ako se pokaže da povećava ERK fosforilaciju u oligodendrocitnim prekursorskim stanicama i da

istodobno smanjuje NF-KB aktivaciju u npr. astrocitnim stanicama, bio izvrsna metoda liječenja MS.

Mnogi lijekovi koji se koriste u liječenju multiple skleroze, kao što su kortikosteroidi, azatioprin,a moguće i beta interferon i glatiramer acetat djeluju tako što smanjuju aktivnost NF-KB [178]. Osim što je inhibicija NF-KB pokazala da sprječava demijelinizaciju izazvanu kuprizonom [176], Loo i suradnici su pokazali i da inhibicija NF-KB u CNS-u poboljšava eksperimentalni autoimunosni encefalomijelitis (EAE). NF-KB aktivacija je posredovana IKK komplekom, koji se sastoji od IKK1 i IKK2 katalitičke podjedinice te od regulatornog proteina NEMO. NEMO i IKK2 su potrebni za NF-KB aktivaciju od strane proupalnih signala kroz "kanonski" put koji obuhvaća degradaciju IKBalfa. IKK1 uzrokuje NF-KB aktivaciju kroz " alternativni" te se smatra da djeluje kao negativni regulator kanonske NF-KB aktivnosti. [179]

NEMO $^{CNS-KO}$ i IKK2^{CNS-KO} miševi u EAE pokazuju blažu kliničku sliku i imaju manje izraženu upalu CNS-a i oštećenje tkiva, dok delecija IKK1 ne utječe na tijek EAE. Ovi rezultati govore da NF-KB aktivacija kroz kanonski put, koji je ovisan o NEMO i IKK2 , ima patogenu funkciju u autoimunim demijelinizirajućim bolestima, za razliku od alternativnog, IKK1- ovisnog puta koji nije uključen u taj proces. U astrocitima miša NEMO delecija je uzrokovala onemogućenu NF-KB aktivaciju, za razliku od mikroglije gdje su i divlji tip i NEMO^{CNS-KO} pokazivali sličnu aktivaciju NF-KB u odgovoru na stimulaciju TNF-om i LPS. Loo i suradnici smatraju da je razlog tome različito podrijetlo tih stanica, budući da su astrociti neuroektodermalnog podrijetla, dok se za barem dio stanica mikroglije smatra da je hematopoetskog podrijetla [179].

NEMO-delecija je onemogućila astrocitima da induciraju ekspresiju Vcam-1 i kemokina kao što su IP-10 i RANTES. Za razliku od proupalnih citokina, NEMO-delecija nije utjecala na ekspresiju protupalnih citokina [179]. Budući da su Huang i suradnici pokazali da i BPC 157 smanjuje Vcam-1 ekspresiju u NF-KB signalnom putu [35], reći ćemo nešto više o ulozi Vcam-1 u EAE. Za Vcam-1 se smatra da je glavna adhezijska molekula odgovorna za putovanje leukocita kroz krvno-moždanu barijeru. TNF receptor 1-ovisna Vcam-1 ekspresija od strane astrocita je važna za ulazak T stanica u parenhim i manifestaciju neurološke bolesti. Međutim, Loo i suradnici su pokazali da u NEMO^{CNS-KO} i kontrolnim miševima nema razlike

u omjeru limfocita u perivaskularnom području i u parenhimu, te oni smatraju da Vcam-1 ne kontrolira T staničnu lokalizaciju, već njihovu perzistentnu aktivaciju. [179]

Demijelinizacija značajno pridonosi kliničkim znakovima multiple skleroze, te su demijelinizirajući aksoni više skloni atrofiji u akutnoj fazi demijelinizacije. Isto tako je stupanj aksonalnog gubitka u EAE veći u demijelinizirajućim područjima nego u područjima remijelinizacije. Remijelizacija može biti neuspješna zbog neuspjeha regrutacije ili pak neuspjeha diferencijacije OPC. [180] Iako još nisu sasvim poznati molekularni mehanizmi odgovorni za diferencijaciju oligodendrocita koji izražavaju mijelinske proteine, neka istraživanja govore o važnosti cAMP u diferencijaciji oligodendrocita. Budući da oligodendociti u razvoju izražavaju povećane razine transkripcijskog faktora CREB, moguće je da je on jedan od odgovornih za razvoj oligodendrocita budući da se aktivira kada porastu razine cikličkog AMP. Osim cAMP-a i povišene razine Ca^{2+} mogu aktivirati CREB u oligodendrocitnim stanicama. PKA aktivacija je odgovorna za CREB fosforilaciju u odgovoru na povišene razine cAMP, a za povećanu aktivaciju CREB kao odgovor na povećanje intracelularnog Ca^{2+} odgovorna je PKC. Također, moguće je da je za učinkovitost ERK aktivacije o kojoj smo već govorili odgovoran CREB budući da karbakol osim što uzrokuje MAPK aktivaciju u OPG stanicama, uzrokuje i CREB fosforilaciju. [181]

Čini se da CREB igra ulogu i kao medijator u stimulaciji mijelinskog bazičnog proteina (MBP) sa cAMP-om [182]. CREB fosforilacija u OPG stanicama je povećana sa neurotrofinom-3 (NT-3), te je CREB potreban za NT-3 uzrokovanu proliferaciju tih stanica. NT-3 uzrokovano povećanje razine antiapoptotičkog proteina bcl-2 zahtjeva i aktivaciju CREB-a. Bcl-2 ekspresija je povezana sa zaštitom oligodendrocita od različitih induktora stanične smrti, kao i sa povećanim kapacitetom remijelinizacije oligodendrocita u MS lezijama. [183]

U ovom dijelu rada smo pokušali objasniti djelovanje BPC 157 na multiplu sklerozu ako bi se pokazalo da djeluje na NF-KB, ERK i CREB. No budući da postoji još signalnih puteva uključenih u patogenezu multiple skleroze, kao što su VEGF [184] i kalpain [185] teško je reći na koji signalni put djeluje BPC 157, te su potrebna daljnja istraživanja da se utvrdi njegov mehanizam. Mi smo se koncentrirali većinom na NF-KB jer ako bi se pokazalo da BPC 157 djeluje na taj put to bi objasnilo mnoga njegova pozitivna djelovanja u različitim

organskim sustavima budući da NF-KB inhibicija ima pozitivan učinak na mnoge bolesti [55].

3.4. Uloga pentadekapeptida BPC 157 u modelima cijeljenja

3.4.1. Pentadekapeptid BPC 157 i cijeljenje ulkusa rožnice

BPC 157 utječe i na cijeljenje ulkusa rožnice. Nakon primjene 2 μg i 2 ng BPC 157 dolazi do cijeljenja ulkusa za 72 i 96 sati od ozljede, te njegovom primjenom dolazi zbog ubrzanog cijeljenja do manjeg edema, manje granulacijskog tkiva, te manje granulocita i mononuklearnih stanica [30]. Te učinke je moguće objasniti djelovanjem BPC 157 na FAK/paksilin sustav [70] i na aktivaciju ERK [35].

Teranishi i suradnici su ispitali ulogu ERK aktivacije u migraciji epitelnih stanica rožnice tijekom zatvaranja rane pri čemu su koristili PD98059 koji je MEK1 inhibitor ili 0.1% DMSO 1 sat prije ranjavanja rožnice. Stanice inkubirane sa MEK1 inhibitorom, koji onemogućava aktivaciju ERK, nisu uspjele prekriti područje rane za razliku od stanica tretiranih 0.1% DMSO. Razlika između tih stanica nije bila u količini ERK 1/2, već u fosforilaciji ERK koja je utjecala samo na migraciju stanica, a ne na proliferaciju tih stanica. Ekspresija MEK1DA, konstitutivno aktivnog mutanta od MEK1 uzrokovala je brže zatvaranje rane. U stanicama inkubiranima sa PD98059 je došlo do izostanka ranjavanjem izazvanog povećanja fosforiliranog FAK i paksilina [186]. Ovi podaci govore da ERK aktivacija kao odgovor na ranjavanje promovira fokalnu adheziju HCE stanica fosforilirajući FAK i paksilin, te bi taj signalni put mogao biti odgovoran za uspješno cijeljenje ulkusa rožnice primjenom BPC 157.

I topička primjena SN50, stanično propusnog peptidnog NF-KB inhibitora u modelu alkalijske kornealne opekotine u miša je smanjila ulceracije u cijeljenju rožnice. Mogući mehanizam SN5O NF-KB inhibitora u cijeljenju rožnice bi mogla biti indukcija JNK-potaknute proliferacije epitelnih stanica [187], budući da aktivacija NF-KB u nekim stanicama može inaktivirati JNK [188].

3.3.2. Pentadekapeptid BPC 157 i ezofagitis

BPC 157 ima i pozitivni učinak na ezofagitis štakora tako što smanjuje mikroskopske i makroskopske lezije, te utječe na tonus donjeg ezofagealnog i piloričnog sfinktera. BPC 157

dan zdravim štakorima sa normalnim sfinkterima povećava pritisak donjeg ezofagealnog sfinktera, a smanjuje pritisak piloričkog sfinktera. Primjenom BPC 157 nakon procedure u kojoj se trajno smanjio tlak sfinktera, dolazi do normalizacije pritiska.[189]

Donji ezofagealni sfinkter (LES) održava stalni pritisak, i relaksira se jedino pri prolasku bolusa. Tonička kontrakcija LES je PKC ovisna, te se smatra da je posredovana aktivacijom MAP kinaza (ERK 1/2, p38MAPK). Kada se ERK 1/2 inhibitor PD98059 i p38MAPK inhibitor SB203580 koriste odvojeno oba uzrokuju smanjenje tonusa LES, a njihova zajednička primjena gotovo uzrokuje nestanak tonusa. I ROS su povezani sa tonusom LES, te tako H_2O_2 povećava proizvodnju lipidnih medijatora PGE_2 i PAF koji relaksiraju LES cirkularne mišiće, te 8-iso F_{2alfa} koji nastaje H_2O_2 posredovanom lipidnom peroksidacijom inhibira PGF_{2alfa} posredovanu kontrakciju LES. H_2O_2 uzrokuje i depleciju Ca^{2+} zaliha koje se mogu otpustiti, što može onemogućiti aktivaciju Ca^{2+} -ovisne PKC_{beta}. Mogući mehanizam kojim upalni citokin $IL\text{-}1_{beta}$ povećava produkciju H_2O_2 u normalnom ljudskom LES mišiću je preko regulacije NADPH oksidaze, koja ima sposobnost održavanja povećane razine H_2O_2. Tome ide u prilog činjenica da katalaza uzrokuje ponovo uspostavljanje tonusa LES. [190]

Oh i suradnici su pokazali učinkovitost antioksidansa u štakorskom modelu ezofagitisa, te oni smatraju da bi se oni trebali koristiti u kombinaciji sa antisekretornim lijekovima u liječenju refluksnog ezofagitisa budući da se pokazalo da je mukozna šteta u refluksnom ezofagitisu posredovana primarno sa kisikovim radikalima. Antioksidansi smanjuju i NF-KB aktivaciju, koja je povećana u eksperimentalno izazvanom refluksnom ezofagitisu. [191] Smanjenje NF-KB aktivnosti bi dovelo i do smanjenja IL-1 beta [192], te bi vjerovatno smanjilo proizvodnju H_2O_2 koji uzrokuje relaksaciju LES [190]. Ako se pokaže da BPC 157 smanjuje NF-KB aktivnost to bi moglo objasniti njegovo djelovanje na povećanje LES tonusa. Citoprotektivni učinci BPC 157 u modelima refluksnog ezofagitisa u štakora su više izraženi od učinaka ranitidina, sukralfata ili kolestiramina [193], te zbog velike uloge slobodnih radikala u refluksnom ezofagitisu [194,195] moguće je da BPC 157 ima i antioksidansno djelovanje tako što smanjuje aktivnost NADPH oksidaze i na taj način moguće je i da smanjuje aktivnost NF-KB.

3.4.3. Gastroprotektivni učinci pentadekapeptida BPC 157

BPC 157 ima zaštitni učinak na akutne i kronične želučane ulkuse u štakora [31] te na želučane lezije u štakora izazvane stresom, 96% etanolom, indometacinom i kapsaicinom [196]. Budući da se oksidativni stres i deplecija antioksidansa smatraju ključnim u etanolom-induciranom mukoznom oštećenju [197] moguće je da BPC 157 uz svoja ostala djelovanja posjeduje i antioksidantno djelovanje. Postoje i mnoga istraživanja o važnosti ERK signalnog puta na cijeljenje ulkusa, pa je moguće da djelujući na taj put BPC 157 ostvaruje svoj djelovanje. Pai i suradnici tako smatraju da su ERK1 i ERK2 medijatori faktorima rasta potaknutog signalnog puta u cijeljenju želučane sluznice, te da inhibicija toga puta produžuje cijeljenje ulkusa [198]. Wang i suradnici pak smatraju da oksidativni stres i sam etanol mogu aktivirati ERK signalni put , te da je zaštitno djelovanja fucoidana iz *Acaudina molpadioides* u zaštiti od etanolom induciranog želučanog ulkusa u tome što smanjuje aktivnost ERK signalnog puta [197]. BPC 157 smanjuje i aktivnost MPO u želučanoj sluznici [45], što nam govori i da smanjuje etanolom inducirani upalni odgovor [199] te postoji mogućnost da je protuupalno djelovanje BPC 157 uzrokovano smanjenjem NF-KB aktivnosti. Moguće je da evodiamin, alkaloid ekstrahiran iz voćke *Evodia fructus* svoj zaštitni učinak protiv etanolom induciranog želučanog ulkusa u miševa ostvaruje preko NF-KB signalnog puta, budući da je se pokazalo da smanjuje aktivnost Rho/ NF-KB signalnog puta [192]. Isti učinak pokazuje i salidrozid, ekstrakt iz biljke Rhodiola rosea, te se i njegovi učinci prepisuju inhibiciji MAPK/NF-KB puta [200]. Ye i suradnici smatraju da je p50 podjedinica esencijalna komponenta NF-KB kompleksa, što pokazuje činjenica da njena delecija uzrokuje smanjenu NF-KB aktivaciju i smanjen upalni odgovor induciran hladnim imobilizacijskim stres testom [201]. I morin, flavinoid iz porodice Moracae, djelujući na NF-KB ostvaruje svoje pozitivno delovanje na gastropatiju induciranu indometacinom. Indometacin uzrokuje oksidativni stres i proizvodnju ROS te na taj način uzrokuje NF-KB aktivaciju u želučanoj sluznici štakora. Primjena morina smanjila je indometacinom inducirani oksidativni stres tako što je povećala aktivnost i produkciju antioksidantnih enzima SOD2, GST i katalaze u želučanoj sluznici štakora, te je smanjila aktivnost NF-KB inhibirajući IKK. [202] Moguće je da na isti način djeluje i BPC 157 koji se pokazao uspješnim u zaštiti od NSAID toksičnosti, a budući da neka istraživanja govore da NSAID lijekovi uzrokuju NF-KB aktivaciju u želučanoj sluznici [203], moguće je da je upravo ona odgovorna za gastropatije uzrokovane tim lijekovima, te da BPC 157 svoje zaštitno djelovanje na želučanu sluznicu u raznim modelima ostvaruje inhibirajući NF-KB.

4. USPOREDBA DJELOVANJA PENTADEKAPEPTIDA BPC 157 I RAC1 INHIBITORA

Dok su Rac1 inhibitori dosad najviše istraživani u modelima inhibicije tumorskog rasta gdje su se pokazali uspješnima i gdje je pronađena prekomjerna ekspresija Rac1 [11-13], pentadekapeptid BPC 157 se najviše istraživao u upalnim bolestima i modelima cijeljenja gdje se također pokazao uspješnim. Budući da transkripcijski faktor NF-KB povezuje i upalne procese i tumor [56] moguće je da je to zajednički put koji povezuje pentadekapeptid BPC 157 sa Rac1 inhibitorima. Kako se pozitivna uloga Rac1 inhibitora u inhibiciji proliferacije tumorskih stanica i njihovoj migraciji dijelom može prepisati smanjenju NF-KB aktivnosti [7], ako se pokaže da BPC 157 djeluje na NF-KB signalni put tako da smanjuje njegovu aktivnost to bi dodatno objasnilo njegovu pozitivne učinke ne samo na tumorski rast već i na mnoge druge organske sustave.

Dok je uloga Rac1 inhibitora u upalnim bolestima kao što su ulcerozni kolitis i multipla skleroza nije još dovoljno istraživana te postoje različita mišljenja o njihovom djelovanju u tim bolestima, pentadekapeptid BPC 157 se pokazao uspješnim u kliničkim istraživanjima za ulcerozni kolitis te je trenutno u kliničkom istraživanju za multiplu sklerozu. U multiploj sklerozi Dock3 koji može aktivirati Rac1 se pokazao uspješnim u kuprizonovom modelu demijelinizacije, ali taj učinak je moguće prepisati ERK fosforilaciji koja ima veliku ulogu u regulaciji mijelinskog rasta. [173] Kako bi Dock djelovao dugoročno na pacijente s multiplom sklerozom se ne zna budući da je moguće da aktivacija Rac1 potakne NF-KB signalni put koji može dijelovati proupalno.

Moguće je da je neuspješnost liječenja multiple skleroze u tome što su mnogi signalni putevi uključeni u njezinu patogenezu, te oni koji pozitivno djeluju na remijelinizaciju bi vjerovatno negativno djelovali na upalu budući da ERK može poticati aktivnost Rac1 [204] koji onda može aktivirati NF-KB [205]. Lijek koji bi djelovao i na povećanje remijelinizacije i smanjivanje upale bi vjerovatno bio najuspješniji u liječenju multiple skleroze. Taj lijek bi vjerovatno morao uzrokovati fosforilaciju transkripcijskog faktora CREB i aktivaciju ERK u oligodendrocitnim prekursorskim stanicama i oligodendrocitima, te istodobno inhibirati NF-KB ili barem modulirati njegovu pretjeranu aktivnost, a taj lijek bi mogao biti pentadekapeptid BPC 157 koji je u HUVEC stanicama unatoč povećanju ERK fosforilacije

uzrokovao i smanjenje Vcam-1 ekspresije u NF-KB signalnom putu što je karakteristično i za neke NF-KB inhibitore.

Dok je se u ulceroznom kolitisu Rac1 inhibicija pokazala neuspješnom t.j. usporila cijeljenje ulceroznog kolitisa [105], neka istraživanja su pokazala korisnost smanjenja Rac1 aktivacije u sprječavanju nastanka ulceroznog kolitisa.[17] Mogući razlog tome je da Rac1 ipak ima pozitivnu ulogu u cijeljenju ulceroznog kolitisa, a da na neki način uzrokuje nastanak lezija u ulceroznom kolitisu. Te zbog toga, kao i u multiploj sklerozi neuspješnost liječenja leži u tome što se mora djelovati na dva načina da bi se postiglo uspješnije liječenje. Lijek za ulcerozni kolitis i druge upalne bolesti crijeva bi tako trebao sprječavati nastanak novih lezija i biti uspješan u cijeljenju tih istih lezija ako do njih dođe. Budući da se pentadekapeptid BPC 157 pokazao uspješnim ne samo u cijeljenju ulceroznog kolitisa već i u raznim drugim modelima kao što su cijeljenje ulkusa rožnice [30] i želuca [31], cijeljenju tetiva [70], te u modelima intoksikacije alkoholom i NSAID lijekovima te ima protupalni učinak [46] (što je moguće da je uzrokovano i smanjenjem aktivnosti NF-KB) moguće je da je BPC 157 još jedan lijek koji bi se mogao koristiti i u liječenju multiple skleroze i ulcerativnog kolitisa.

Rac1 inhibitori se za razliku od BPC 157 nisu pokazali uspješnima u modelima depresije. Dok je BPC 157 smanjio vrijeme imobilnosti u Porsoltovom testu [29], Rac1 inhibicija u *nucleus accumbensu* je izazvala depresiji slično ponašanje. [152] U depresiju su isto tako uključeni mnogi signalni putevi i transkripcijski faktori kao ERK, CREB i NF-KB kao i dinorfin. Budući da Rac1 inhibitor NSC23766 ne utječe na Rac1-ovisan način na razinu pCREB u kortikalnim neuronima [206], moguće je da je učinak Rac1 inhibicije bio uzrokovan djelovanjem na NF-KB, ERK, dinorfin ili pak na neki drugi signalni put. BPC 157 povećava sintezu serotonina između ostalog i u NAc [142], a budući da i fluoksetin u istom dijelu mozga povećava sintezu serotonina [207] moguće je da je to jedan od uzroka njihova antidepresivnog djelovanja. Budući da fluoksetin ima slične učinke u staničnoj kulturi kao i desipramin koji smanjuje stresom uzrokovanu dinorfin ekspresiju i CREB aktivaciju u NAc [154], ako se pokaže da slične učinke pokazuje i BPC 157 to bi moglo objasniti njegov antidepresivni učinak. Također, ako se pokaže da BPC 157 djeluje na dinorfin tako što uzrokuje promjene u aktivaciji ERK, CREB-a ili NF-KB postojala bi mogućnost liječenja i drugih neuropsihijatrijskih bolesti njime.

I NF-KB inhibitori, Rac1 inhibicija kao i BPC 157 su pokazali pozitivne učinke u ishemijsko-reperfuzijskim ozljedama [19,22], te je moguće da je za učinke Rac1 inhibitora i pentadekapeptida BPC 157 odgovorna moguća NF-KB inhibicija ili pak smanjenje ROS. Isto vrijedi i za virusne infekcije, gdje su NF-KB inhibitori i BPC 157 pokazali učinkovitima protiv Dengue virusa, HSV-1 i influenca virusa. Rac1 inhibicija jedino nije bila učinkovita protiv HSV-1 infekcije, te je moguće da bi mogla biti učinkovita protiv HIV infekcije kao i NF-KB inhibicija.[26,118-120,122,131] Ako se pokaže da je uzrok antivirusnog djelovanja BPC 157 smanjenje prekomjerne NF-KB aktivnosti, otvorila bi se mogućnost učinkovitosti BPC 157 protiv HIV infekcije.

Na kraju dok je BPC 157 uspješan u modelima cijeljenja, Rac1 inhibitori se nisu pokazali uspješnima u tim istima te je moguće da je on potreban za cijeljenje[132]. No, zanimljivo je napomenuti da statini koji su smatraju da bi mogli biti uspješni u cijeljenju su Rac1 inhibitori [139]. Moguće je da je uzrok njihovog pozitivnog učinka u cijeljenju djelovanje na NO i povećanje ekspresije VEGF [138], a budući da i BPC 157 djeluje isto na NO i VEGF [35,65] to bi moglo možda objasniti i njegove pozitivne učinke u cijeljenju ako se pokaže da je Rac1 inhibitor. Budući da FAK/paksilin put na koji BPC 157 djeluje [70] može i aktivirati i inhibirati Rac1 [71-73] treba uzeti u obzir da BPC 157 može biti i Rac1 aktivator. Isto vrijedi i za NF-KB put, te su potrebna daljnja istraživanja da se utvrdi mogući mehanizam djelovanja BPC 157. U ovom radu smo se fokusirali na moguće djelovanje BPC 157 na Rac1, NF-KB, ERK i CREB te bi trebalo provesti istraživanja kako BPC 157 djeluje na te signalne puteve.

5. ZAKLJUČAK

Zbog sličnosti djelovanja BPC 157 i Rac1 inhibitora u određenim modelima pokušali smo usporediti njihove učinke. Budući da je moguće da BPC 157 i Rac1 inhibitori djeluju na NF-KB signalni put, postoji mogućnost da je djelovanje na taj transkripcijski faktor uzrok njihovog sličnog djelovanja. Treba uzeti u obzir i druge signalne puteve kao što su CREB i ERK te da je moguće da je učinak BPC 157, kao i Rac1 inhibitora na te puteve staničnospecifičan.

6. ZAHVALE

Zahvaljujem svome mentoru prof.dr.sc. Predragu Sikiriću na strpljenju, vodstvu i savjetima tijekom izrade ovog rada.

Veliko hvala mojoj obitelji na bezuvjetnoj podršci, pomoći i ljubavi.

7. LITERATURA

1. Wennerberg K, Rossman KL, Der CJ: **The ras superfamily at a glance.** *J Cell Sci* (2005) **118**(Pt 5):843-846. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15731001

2. Wennerberg K, Der CJ: **Rho-family gtpases: It's not only rac and rho (and i like it).** *J Cell Sci* (2004) **117**(Pt 8):1301-1312. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15020670

3. Ferri N, Corsini A, Bottino P, Clerici F, Contini A: **Virtual screening approach for the identification of new rac1 inhibitors.** *J Med Chem* (2009) **52**(14):4087-4090. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19527032

4. Kwok JM, Ma CC, Ma S: **Recent development in the effects of statins on cardiovascular disease through rac1 and nadph oxidase.** *Vascul Pharmacol* (2013) **58**(1-2):21-30. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23085091

5. Bustelo XR, Sauzeau V, Berenjeno IM: **Gtp-binding proteins of the rho/rac family: Regulation, effectors and functions in vivo.** *Bioessays* (2007) **29**(4):356-370. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17373658

6. Michaelson D, Abidi W, Guardavaccaro D, Zhou M, Ahearn I, Pagano M, Philips MR: **Rac1 accumulates in the nucleus during the g2 phase of the cell cycle and promotes cell division.** *J Cell Biol* (2008) **181**(3):485-496. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18443222

7. Gastonguay A, Berg T, Hauser AD, Schuld N, Lorimer E, Williams CL: **The role of rac1 in the regulation of nf-kappab activity, cell proliferation, and cell migration in non-small cell lung carcinoma.** *Cancer Biol Ther* (2012) **13**(8):647-656. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22549160

8. Hordijk PL: **Regulation of nadph oxidases: The role of rac proteins.** *Circ Res* (2006) **98**(4):453-462. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16514078

9. Morgan MJ, Liu ZG: **Crosstalk of reactive oxygen species and nf-kappab signaling.** *Cell Res* (2011) **21**(1):103-115. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21187859

10. Arbibe L, Mira JP, Teusch N, Kline L, Guha M, Mackman N, Godowski PJ, Ulevitch RJ, Knaus UG: **Toll-like receptor 2-mediated nf-kappa b activation requires a rac1-dependent pathway.** *Nat Immunol* (2000) **1**(6):533-540. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11101877

11. Kaneto N, Yokoyama S, Hayakawa Y, Kato S, Sakurai H, Saiki I: **Rac1 inhibition as a therapeutic target for gefitinib-resistant non-small-cell lung cancer.** *Cancer Sci* (2014) **105**(7):788-794. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24750242

12. Bauer NN, Chen YW, Samant RS, Shevde LA, Fodstad O: **Rac1 activity regulates proliferation of aggressive metastatic melanoma.** *Exp Cell Res* (2007) **313**(18):3832-3839. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17904119

13. Wang J, Rao Q, Wang M, Wei H, Xing H, Liu H, Wang Y, Tang K, Peng L, Tian Z, Wang J: **Overexpression of rac1 in leukemia patients and its role in leukemia cell migration and growth.** *Biochem Biophys Res Commun* (2009) **386**(4):769-774. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19563775

14. Chen B, Gao Y, Jiang T, Ding J, Zeng Y, Xu R, Jiang X: **Inhibition of tumor cell migration and invasion through knockdown of rac1 expression in medulloblastoma cells.** *Cell Mol Neurobiol* (2011) **31**(2):251-257. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21076938

15. Dokmanovic M, Hirsch DS, Shen Y, Wu WJ: **Rac1 contributes to trastuzumab resistance of breast cancer cells: Rac1 as a potential therapeutic target for the treatment of trastuzumab-resistant breast cancer.** *Mol Cancer Ther* (2009) **8**(6):1557-1569. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19509242

16. Liu S, Yu M, He Y, Xiao L, Wang F, Song C, Sun S, Ling C, Xu Z: **Melittin prevents liver cancer cell metastasis through inhibition of the rac1-dependent pathway.** *Hepatology* (2008) **47**(6):1964-1973. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18506888

17. Wertheimer E, Kazanietz MG: **Rac1 takes center stage in pancreatic cancer and ulcerative colitis: Quantity matters.** *Gastroenterology* (2011) **141**(2):427-430. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21704620

18. Binker MG, Binker-Cosen AA, Gaisano HY, Cosen-Binker LI: **Inhibition of rac1 decreases the severity of pancreatitis and pancreatitis-associated lung injury in mice.** *Exp Physiol* (2008) **93**(10):1091-1103. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18567599

19. Harada N, Iimuro Y, Nitta T, Yoshida M, Uchinami H, Nishio T, Hatano E, Yamamoto N, Yamamoto Y, Yamaoka Y: **Inactivation of the small gtpase rac1 protects the liver from ischemia/reperfusion injury in the rat.** *Surgery* (2003) **134**(3):480-491. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14555937

20. Radeljak S, Seiwerth S, Sikiric P: **Bpc 157 inhibits cell growth and vegf signaling via the mapk kinase pathway in the human melanoma cell line.** *Melanoma Res* (2004) **14**(A14-A15.

21. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Rokotov DS, Brcic L, Sever M, Klicek R, Radic B, Drmic D, Ilic S *et al*: **Focus on ulcerative colitis: Stable gastric pentadecapeptide bpc 157.** *Curr Med Chem* (2012) **19**(1):126-132. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22300085

22. Vrdoljak B, Malekinusic D, Zaler D, Kolenc D, Siroglavic M, Aralica G, Drmic D, Seiwerth S, Sikiric P: **The effect of bpc 157 on ischemic/reperfusion injuries in rat brain.** *The FASEB Journal* (2016) **30**(1 Supplement):706.705-706.705.

23. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Rokotov DS, Brcic L, Sever M, Klicek R, Radic B, Drmic D, Ilic S *et al*: **Stable gastric pentadecapeptide bpc 157: Novel therapy in gastrointestinal tract.** *Curr Pharm Des* (2011) **17**(16):1612-1632. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21548867

24. Choi SS, Sicklick JK, Ma Q, Yang L, Huang J, Qi Y, Chen W, Li YX, Goldschmidt-Clermont PJ, Diehl AM: **Sustained activation of rac1 in hepatic stellate cells promotes liver injury and fibrosis in mice.** *Hepatology* (2006) **44**(5):1267-1277. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17058265

25. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Rotkvic I, Turkovic B, Jagic V, Mildner B, Duvnjak M, et al.: **Hepatoprotective effect of bpc 157, a 15-amino acid peptide, on liver lesions induced by either restraint stress or bile duct and hepatic artery ligation or ccl4 administration. A comparative study with dopamine agonists and somatostatin.** *Life Sci* (1993) **53**(18):PL291-296. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7901724

26. Cook JA, Albacker L, August A, Henderson AJ: **Cd28-dependent hiv-1 transcription is associated with vav, rac, and nf-kappa b activation.** *J Biol Chem* (2003) **278**(37):35812-35818. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12842899

27. Mikus D, Sikiric P, Seiwerth S, Petricevic A, Aralica G, Druzijancic N, Rucman R, Petek M, Pigac B, Perovic D, Kolombo M *et al*: **Pentadecapeptide bpc 157 cream improves burn-wound healing and attenuates burn-gastric lesions in mice.** *Burns* (2001) **27**(8):817-827. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11718984

28. Predrag S, Sven S, Rudolf R, Danijela K, Lovorka BV, Domagoj D, Tihomir G, Sanja S, Goran Z, Dalibor C, Goran M *et al*: **Brain-gut axis and pentadecapeptide bpc 157. Theoretical and practical implications.** *Curr Drug Deliv* (2016). http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27109336

29. Sikiric P, Separovic J, Buljat G, Anic T, Stancic-Rokotov D, Mikus D, Marovic A, Prkacin I, Duplancic B, Zoricic I, Aralica G *et al*: **The antidepressant effect of an antiulcer pentadecapeptide bpc 157 in porsolt's test and chronic unpredictable stress in rats. A comparison with antidepressants.** *J Physiol Paris* (2000) **94**(2):99-104. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10791689

30. Masnec S, Kokot A, Zlatar M, Kalauz M, Kunjko K, Radic B, Klicek R, Drmic D, Lazic R, Brcic L, Radic R *et al*: **Perforating corneal injury in rat and pentadecapeptide bpc 157.** *Exp Eye Res* (2015) **136**(9-15. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25912999

31. Xue XC, Wu YJ, Gao MT, Li WG, Zhao N, Wang ZL, Bao CJ, Yan Z, Zhang YQ: **Protective effects of pentadecapeptide bpc 157 on gastric ulcer in rats.** *World J Gastroenterol* (2004) **10**(7):1032-1036. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15052688

32. Duplancic B, Stambolija V, Holjevac J, Zemba M, Balenovic I, Drmic D, Suran J, Radic B, Filipovic M, Blagaic AB, Brcic L *et al*: **Pentadecapeptide bpc 157 and anaphylactoid reaction in rats and mice after intravenous dextran and white egg administration.** *Eur J Pharmacol* (2014) **727**(75-79. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24486708

33. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkvic I, Mise S, Zoricic I, Konjevoda P *et al*: **The influence of a novel pentadecapeptide, bpc 157, on n(g)-nitro-l-arginine methylester and l-arginine effects on stomach mucosa integrity and blood pressure.** *Eur J Pharmacol* (1997) **332**(1):23-33. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9298922

34. Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Turkovic B, Rokotov DS, Brcic L, Sever M, Klicek R, Radic B, Drmic D, Ilic S *et al*: **Stable gastric pentadecapeptide bpc 157-no-system relation.** *Curr Pharm Des* (2014) **20**(7):1126-1135. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23755725

35. Huang T, Zhang K, Sun L, Xue X, Zhang C, Shu Z, Mu N, Gu J, Zhang W, Wang Y, Zhang Y *et al*: **Body protective compound-157 enhances alkali-burn wound healing in vivo and promotes proliferation, migration, and angiogenesis in vitro.** *Drug Des Devel Ther* (2015) **9**(2485-2499. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25995620

36. Kimura H, Esumi H: **Reciprocal regulation between nitric oxide and vascular endothelial growth factor in angiogenesis.** *Acta Biochim Pol* (2003) **50**(1):49-59. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12673346

37. Balenovic D, Bencic ML, Udovicic M, Simonji K, Hanzevacki JS, Barisic I, Kranjcevic S, Prkacin I, Coric V, Brcic L, Coric M *et al*: **Inhibition of methyldigoxin-induced arrhythmias by pentadecapeptide bpc 157: A relation with no-system.** *Regul Pept* (2009) **156**(1-3):83-89. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19465062

38. Barisic I, Balenovic D, Klicek R, Radic B, Nikitovic B, Drmic D, Udovicic M, Strinic D, Bardak D, Berkopic L, Djuzel V *et al*: **Mortal hyperkalemia disturbances in rats are no-system related. The life saving effect of pentadecapeptide bpc 157.** *Regul Pept* (2013) **181**(50-66. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23327997

39. Balenovic D, Barisic I, Prkacin I, Horvat I, Udovicic M, Uzun S, Strinic D, Pevec D, Drmic D, Radic B: **Mortal furosemide-hypokalemia-disturbances in rats no-system related shorten survival by l-name. Therapy benefit with bpc 157 peptide more than with l-arginine.** *J Clin Exp Cardiolog* (2012) **3**(201):2.

40. Seiwerth S, Sikiric P, Grabarevic Z, Zoricic I, Hanzevacki M, Ljubanovic D, Coric V, Konjevoda P, Petek M, Rucman R: **Bpc 157's effect on healing.** *Journal of Physiology-Paris* (1997) **91**(3):173-178.

41. Staresinic M, Sebecic B, Patrlj L, Jadrijevic S, Suknaic S, Perovic D, Aralica G, Zarkovic N, Borovic S, Srdjak M, Hajdarevic K *et al*: **Gastric pentadecapeptide bpc 157 accelerates healing of transected rat achilles tendon and in vitro stimulates tendocytes growth.** *J Orthop Res* (2003) **21**(6):976-983. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14554208

42. Cerovecki T, Bojanic I, Brcic L, Radic B, Vukoja I, Seiwerth S, Sikiric P: **Pentadecapeptide bpc 157 (pl 14736) improves ligament healing in the rat.** *J Orthop Res* (2010) **28**(9):1155-1161. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20225319

43. Cesarec V, Becejac T, Misic M, Djakovic Z, Olujic D, Drmic D, Brcic L, Rokotov DS, Seiwerth S, Sikiric P: **Pentadecapeptide bpc 157 and the esophagocutaneous fistula healing therapy.** *Eur J Pharmacol* (2013) **701**(1-3):203-212. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23220707

44. Seiwerth S, Brcic L, Vuletic LB, Kolenc D, Aralica G, Misic M, Zenko A, Drmic D, Rucman R, Sikiric P: **Bpc 157 and blood vessels.** *Curr Pharm Des* (2014) **20**(7):1121-1125. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23782145

45. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkvic I, Mise S, Zoricic I, Jurina L *et al*: **Salutary and prophylactic effect of pentadecapeptide bpc 157 on acute pancreatitis and concomitant gastroduodenal lesions in rats.** *Dig Dis Sci* (1996) **41**(7):1518-1526. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8689934

46. Sikiric P: **The pharmacological properties of the novel peptide bpc 157 (pl-10).** *Inflammopharmacology* (1999) **7**(1):1-14. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17657443

47. Tkalcevic VI, Cuzic S, Brajsa K, Mildner B, Bokulic A, Situm K, Perovic D, Glojnaric I, Parnham MJ: **Enhancement by pl 14736 of granulation and collagen organization in healing wounds and the potential role of egr-1 expression.** *Eur J Pharmacol* (2007) **570**(1-3):212-221. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17628536

48. Houston P, Campbell CJ, Svaren J, Milbrandt J, Braddock M: **The transcriptional corepressor nab2 blocks egr-1-mediated growth factor activation and angiogenesis.** *Biochem Biophys Res Commun* (2001) **283**(2):480-486. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11327726

49. Lucerna M, Mechtcheriakova D, Kadl A, Schabbauer G, Schafer R, Gruber F, Koshelnick Y, Muller HD, Issbrucker K, Clauss M, Binder BR *et al*: **Nab2, a corepressor of egr-1, inhibits vascular endothelial growth factor-mediated gene induction and angiogenic responses of endothelial cells.** *J Biol Chem* (2003) **278**(13):11433-11440. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12427750

50. Chen J, Zuo S, Wang J, Huang J, Zhang X, Liu Y, Zhang Y, Zhao J, Han J, Xiong L, Shi M *et al*: **Aspirin promotes oligodendrocyte precursor cell proliferation and differentiation after white matter lesion.** *Front Aging Neurosci* (2014) **6**(7. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24478700

51. Park HJ, Lee YW, Hennig B, Toborek M: **Linoleic acid-induced vcam-1 expression in human microvascular endothelial cells is mediated by the nf-kappa b-dependent pathway.** *Nutr Cancer* (2001) **41**(1-2):126-134. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12094615

52. Jiang B, Xu S, Hou X, Pimentel DR, Brecher P, Cohen RA: **Temporal control of nf-kappab activation by erk differentially regulates interleukin-1beta-induced gene expression.** *J Biol Chem* (2004) **279**(2):1323-1329. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14581482

53. Kim I, Moon SO, Kim SH, Kim HJ, Koh YS, Koh GY: **Vascular endothelial growth factor expression of intercellular adhesion molecule 1 (icam-1), vascular cell adhesion molecule 1 (vcam-1), and e-selectin through nuclear factor-kappa b activation in endothelial cells.** *J Biol Chem* (2001) **276**(10):7614-7620. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11108718

54. Klicek R, Kolenc D, Suran J, Drmic D, Brcic L, Aralica G, Sever M, Holjevac J, Radic B, Turudic T, Kokot A *et al*: **Stable gastric pentadecapeptide bpc 157 heals cysteamine-colitis and colon-colon-anastomosis and counteracts cuprizone brain injuries and motor disability.** *J Physiol Pharmacol* (2013) **64**(5):597-612. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24304574

55. Kumar A, Takada Y, Boriek AM, Aggarwal BB: **Nuclear factor-kappab: Its role in health and disease.** *J Mol Med (Berl)* (2004) **82**(7):434-448. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15175863

56. Karin M: **Nf-kappab as a critical link between inflammation and cancer.** *Cold Spring Harb Perspect Biol* (2009) **1**(5):a000141. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20066113

57. Sethi G, Sung B, Aggarwal BB: **Nuclear factor-kappab activation: From bench to bedside.** *Exp Biol Med (Maywood)* (2008) **233**(1):21-31. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18156302

58. Brasier AR: **The nf-kappab regulatory network.** *Cardiovasc Toxicol* (2006) **6**(2):111-130. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17303919

59. Sulciner DJ, Irani K, Yu ZX, Ferrans VJ, Goldschmidt-Clermont P, Finkel T: **Rac1 regulates a cytokine-stimulated, redox-dependent pathway necessary for nf-kappab activation.** *Mol Cell Biol* (1996) **16**(12):7115-7121. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8943367

60. Yoshida M, Shiojima I, Ikeda H, Komuro I: **Chronic doxorubicin cardiotoxicity is mediated by oxidative DNA damage-atm-p53-apoptosis pathway and attenuated by pitavastatin through the inhibition of rac1 activity.** *J Mol Cell Cardiol* (2009) **47**(5):698-705. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19660469

61. Lovric-Bencic M, Sikiric P, Hanzevacki JS, Seiwerth S, Rogic D, Kusec V, Aralica G, Konjevoda P, Batelja L, Blagaic AB: **Doxorubicine-congestive heart failure-increased big endothelin-1 plasma concentration: Reversal by amlodipine, losartan, and gastric pentadecapeptide**

bpc157 in rat and mouse. *J Pharmacol Sci* (2004) **95**(1):19-26. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15153646

62. Raz L, Zhang QG, Zhou CF, Han D, Gulati P, Yang LC, Yang F, Wang RM, Brann DW: **Role of rac1 gtpase in nadph oxidase activation and cognitive impairment following cerebral ischemia in the rat.** *PLoS One* (2010) **5**(9):e12606. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20830300

63. Shan L, Li J, Wei M, Ma J, Wan L, Zhu W, Li Y, Zhu H, Arnold JM, Peng T: **Disruption of rac1 signaling reduces ischemia-reperfusion injury in the diabetic heart by inhibiting calpain.** *Free Radic Biol Med* (2010) **49**(11):1804-1814. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20883775

64. Šeparović J: **Benefical effect of a novel pentadecapeptide bpc 157 on diferents models of cardiotoxicity.** In: Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, (1996).

65. Barišić I, Radić B, Kliček R, Sever M, Ilić S, Bilić V, Berkopić L, Udovičić M, Filipović M, Brčić L: **Effect of pentadecapeptide bpc 157 on myocardial infarction in rat induced by isoprenaline hydrochloride.**

66. Muzaffar S, Shukla N, Bond M, Sala-Newby G, Angelini GD, Newby AC, Jeremy JY: **Acute inhibition of superoxide formation and rac1 activation by nitric oxide and iloprost in human vascular smooth muscle cells in response to the thromboxane a2 analogue, u46619.** *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* (2008) **78**(4-5):247-255. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18420399

67. Naik E, Dixit VM: **Mitochondrial reactive oxygen species drive proinflammatory cytokine production.** *J Exp Med* (2011) **208**(3):417-420. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21357740

68. Gloire G, Legrand-Poels S, Piette J: **Nf-kappab activation by reactive oxygen species: Fifteen years later.** *Biochem Pharmacol* (2006) **72**(11):1493-1505. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16723122

69. Nagy Z, Wynne K, von Kriegsheim A, Gambaryan S, Smolenski A: **Cyclic nucleotide-dependent protein kinases target arhgap17 and arhgef6 complexes in platelets.** *J Biol Chem* (2015) **290**(50):29974-29983. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26507661

70. Chang CH, Tsai WC, Lin MS, Hsu YH, Pang JH: **The promoting effect of pentadecapeptide bpc 157 on tendon healing involves tendon outgrowth, cell survival, and cell migration.** *J Appl Physiol (1985)* (2011) **110**(3):774-780. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21030672

71. Schaller MD: **Fak and paxillin: Regulators of n-cadherin adhesion and inhibitors of cell migration?** *J Cell Biol* (2004) **166**(2):157-159. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15263014

72. Yano H, Mazaki Y, Kurokawa K, Hanks SK, Matsuda M, Sabe H: **Roles played by a subset of integrin signaling molecules in cadherin-based cell-cell adhesion.** *J Cell Biol* (2004) **166**(2):283-295. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15263022

73. Zaidel-Bar R, Kam Z, Geiger B: **Polarized downregulation of the paxillin-p130cas-rac1 pathway induced by shear flow.** *J Cell Sci* (2005) **118**(Pt 17):3997-4007. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16129884

74. Weber GF: *Molecular mechanisms of cancer.* Springer Science & Business Media, (2007).

75. Yoshida T, Zhang Y, Rivera Rosado LA, Chen J, Khan T, Moon SY, Zhang B: **Blockade of rac1 activity induces g1 cell cycle arrest or apoptosis in breast cancer cells through downregulation of cyclin d1, survivin, and x-linked inhibitor of apoptosis protein.** *Mol Cancer Ther* (2010) **9**(6):1657-1668. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20515940

76. Carr HS, Morris CA, Menon S, Song EH, Frost JA: **Rac1 controls the subcellular localization of the rho guanine nucleotide exchange factor net1a to regulate focal adhesion formation and cell spreading.** *Mol Cell Biol* (2013) **33**(3):622-634. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23184663

77. Kissil JL, Walmsley MJ, Hanlon L, Haigis KM, Bender Kim CF, Sweet-Cordero A, Eckman MS, Tuveson DA, Capobianco AJ, Tybulewicz VL, Jacks T: **Requirement for rac1 in a k-ras induced lung cancer in the mouse.** *Cancer Res* (2007) **67**(17):8089-8094. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17804720

78. Downward J: **Targeting ras signalling pathways in cancer therapy.** *Nat Rev Cancer* (2003) **3**(1):11-22. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12509763

79. Bos JL: **Ras oncogenes in human cancer: A review.** *Cancer Res* (1989) **49**(17):4682-4689. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2547513

80. Stockley R: *Molecular biology of the lung: Volume ii: Asthma and cancer.* Birkhäuser, (2013).

81. Zhang L, Gallup M, Zlock L, Finkbeiner WE, McNamara NA: **Rac1 and cdc42 differentially modulate cigarette smoke-induced airway cell migration through p120-catenin-dependent and -independent pathways.** *Am J Pathol* (2013) **182**(6):1986-1995. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23562274

82. Sotiriou C, Pusztai L: **Gene-expression signatures in breast cancer.** *New England Journal of Medicine* (2009) **360**(8):790-800.

83. Romond EH, Perez EA, Bryant J, Suman VJ, Geyer Jr CE, Davidson NE, Tan-Chiu E, Martino S, Paik S, Kaufman PA: **Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable her2-positive breast cancer.** *New England Journal of Medicine* (2005) **353**(16):1673-1684.

84. Rosenblatt AE, Garcia MI, Lyons L, Xie Y, Maiorino C, Desire L, Slingerland J, Burnstein KL: **Inhibition of the rho gtpase, rac1, decreases estrogen receptor levels and is a novel therapeutic strategy in breast cancer.** *Endocrine-related cancer* (2011) **18**(2):207-219.

85. Baugher PJ, Krishnamoorthy L, Price JE, Dharmawardhane SF: **Rac1 and rac3 isoform activation is involved in the invasive and metastatic phenotype of human breast cancer cells.** *Breast Cancer Res* (2005) **7**(6):R965-974.

86. Zhao Y, Wang Z, Jiang Y, Yang C: **Inactivation of rac1 reduces trastuzumab resistance in pten deficient and insulin-like growth factor i receptor overexpressing human breast cancer skbr3 cells.** *Cancer letters* (2011) **313**(1):54-63.

87. Lucato CM, Halls ML, Ooms LM, Liu H-J, Mitchell CA, Whisstock JC, Ellisdon AM: **The phosphatidylinositol (3, 4, 5)-trisphosphate-dependent rac exchanger 1· ras-related c3 botulinum toxin substrate 1 (p-rex1· rac1) complex reveals the basis of rac1 activation in breast cancer cells.** *Journal of Biological Chemistry* (2015) **290**(34):20827-20840.

88. Pasquier J, Abu-Kaoud N, Abdesselem H, Madani A, Hoarau-Véchot J, Thawadi HA, Vidal F, Couderc B, Favre G, Rafii A: **Sdf-1alpha concentration dependent modulation of rhoa and rac1 modifies breast cancer and stromal cells interaction.** *BMC cancer* (2015) **15**(1):1.

89. Zhang Y, Han G, Fan B, Zhou Y, Zhou X, Wei L, Zhang J: **Green tea (–)-epigallocatechin-3-gallate down-regulates vasp expression and inhibits breast cancer cell migration and invasion by attenuating rac1 activity.** *European journal of pharmacology* (2009) **606**(1):172-179.

90. Hearing VJ, Leong SP: *From melanocytes to melanoma: The progression to malignancy.* Springer Science & Business Media, (2007).

91. Lee JH, Choi JW, Kim YS: **Frequencies of braf and nras mutations are different in histological types and sites of origin of cutaneous melanoma: A meta-analysis.** *British Journal of Dermatology* (2011) **164**(4):776-784.

92. Halaban R: **Rac1 and melanoma.** *Clinical therapeutics* (2015) **37**(3):682-685.

93. Li A, Ma Y, Jin M, Mason S, Mort RL, Blyth K, Larue L, Sansom OJ, Machesky LM: **Activated mutant nrasq61k drives aberrant melanocyte signaling, survival, and invasiveness via a rac1-dependent mechanism.** *Journal of Investigative Dermatology* (2012) **132**(11):2610-2621.

94. Machesky LM, Sansom OJ: **Rac1 in the driver's seat for melanoma.** *Pigment cell & melanoma research* (2012) **25**(6):762-764.

95. Hofbauer SW, Krenn PW, Ganghammer S, Asslaber D, Pichler U, Oberascher K, Henschler R, Wallner M, Kerschbaum H, Greil R, Hartmann TN: **Tiam1/rac1 signals contribute to the proliferation and chemoresistance, but not motility, of chronic lymphocytic leukemia cells.** *Blood* (2014) **123**(14):2181-2188. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24501217

96. Nishihara H, Maeda M, Oda A, Tsuda M, Sawa H, Nagashima K, Tanaka S: **Dock2 associates with crkl and regulates rac1 in human leukemia cell lines.** *Blood* (2002) **100**(12):3968-3974. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12393632

97. Zavarella S, Nakada M, Belverud S, Coniglio SJ, Chan A, Mittler MA, Schneider SJ, Symons M: **Role of rac1-regulated signaling in medulloblastoma invasion. Laboratory investigation.** *J Neurosurg Pediatr* (2009) **4**(2):97-104. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19645540

98. Yuan L, Santi M, Rushing EJ, Cornelison R, MacDonald TJ: **Erk activation of p21 activated kinase-1 (pak1) is critical for medulloblastoma cell migration.** *Clin Exp Metastasis* (2010) **27**(7):481-491. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20526801

99. Heid I, Lubeseder-Martellato C, Sipos B, Mazur PK, Lesina M, Schmid RM, Siveke JT: **Early requirement of rac1 in a mouse model of pancreatic cancer.** *Gastroenterology* (2011) **141**(2):719-730, 730 e711-717. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21684285

100. Du J, Liu J, Smith BJ, Tsao MS, Cullen JJ: **Role of rac1-dependent nadph oxidase in the growth of pancreatic cancer.** *Cancer Gene Ther* (2011) **18**(2):135-143. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21037555

101. Wang P, Chen L, Zhang J, Chen H, Fan J, Wang K, Luo J, Chen Z, Meng Z, Liu L: **Methylation-mediated silencing of the mir-124 genes facilitates pancreatic cancer progression and metastasis by targeting rac1.** *Oncogene* (2014) **33**(4):514-524. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23334332

102. Wu L, Cai C, Wang X, Liu M, Li X, Tang H: **Microrna-142-3p, a new regulator of rac1, suppresses the migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells.** *FEBS Lett* (2011) **585**(9):1322-1330. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21482222

103. Yang W, Lv S, Liu X, Liu H, Yang W, Hu F: **Up-regulation of tiam1 and rac1 correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma.** *Jpn J Clin Oncol* (2010) **40**(11):1053-1059. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20522449

104. Hanauer SB: **Inflammatory bowel disease: Epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities.** *Inflamm Bowel Dis* (2006) **12 Suppl 1**(S3-9. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16378007

105. Deng X, Szabo S, Khomenko T, Tolstanova G, Paunovic B, French SW, Sandor Z: **Novel pharmacologic approaches to the prevention and treatment of ulcerative colitis.** *Curr Pharm Des* (2013) **19**(1):17-28. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22950505

106. Marinkovic G, Hamers AA, de Vries CJ, de Waard V: **6-mercaptopurine reduces macrophage activation and gut epithelium proliferation through inhibition of gtpase rac1.** *Inflamm Bowel Dis* (2014) **20**(9):1487-1495. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25029617

107. Tiede I, Fritz G, Strand S, Poppe D, Dvorsky R, Strand D, Lehr HA, Wirtz S, Becker C, Atreya R, Mudter J *et al*: **Cd28-dependent rac1 activation is the molecular target of azathioprine in primary human cd4+ t lymphocytes.** *J Clin Invest* (2003) **111**(8):1133-1145. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12697733

108. Zhao X, Kang B, Lu C, Liu S, Wang H, Yang X, Chen Y, Jiang B, Zhang J, Lu Y, Zhi F: **Evaluation of p38 mapk pathway as a molecular signature in ulcerative colitis.** *J Proteome Res* (2011) **10**(5):2216-2225. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21428429

109. Karin M, Cao Y, Greten FR, Li ZW: **Nf-kappab in cancer: From innocent bystander to major culprit.** *Nat Rev Cancer* (2002) **2**(4):301-310. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12001991

110. Sikiric P, Marovic A, Matoz W, Anic T, Buljat G, Mikus D, Stancic-Rokotov D, Separovic J, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R *et al*: **A behavioural study of the effect of pentadecapeptide bpc 157 in parkinson's disease models in mice and gastric lesions induced by 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydrophyridine.** *J Physiol Paris* (1999) **93**(6):505-512. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10672997

111. Li Z, Zhang de K, Yi WQ, Ouyang Q, Chen YQ, Gan HT: **Nf-kappab p65 antisense oligonucleotides may serve as a novel molecular approach for the treatment of patients with ulcerative colitis.** *Arch Med Res* (2008) **39**(8):729-734. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18996285

112. Carden DL, Granger DN: **Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury.** *J Pathol* (2000) **190**(3):255-266. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10685060

113. Wang YH, Wang WY, Chang CC, Liou KT, Sung YJ, Liao JF, Chen CF, Chang S, Hou YC, Chou YC, Shen YC: **Taxifolin ameliorates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats through its anti-oxidative effect and modulation of nf-kappa b activation.** *J Biomed Sci* (2006) **13**(1):127-141. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16283433

114. Ridder DA, Schwaninger M: **Nf-kappab signaling in cerebral ischemia.** *Neuroscience* (2009) **158**(3):995-1006. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18675321

115. Jatana M, Giri S, Ansari MA, Elango C, Singh AK, Singh I, Khan M: **Inhibition of nf-kappab activation by 5-lipoxygenase inhibitors protects brain against injury in a rat model of focal cerebral ischemia.** *J Neuroinflammation* (2006) **3**(12. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16689995

116. Takano H, Zou Y, Hasegawa H, Akazawa H, Nagai T, Komuro I: **Oxidative stress-induced signal transduction pathways in cardiac myocytes: Involvement of ros in heart diseases.** *Antioxid Redox Signal* (2003) **5**(6):789-794. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14588152

117. Bosnjak Z, Graf B, Sikiric P, Stowe D: **Protective effects of newly isolated gastric peptide following hypoxic and reoxygenation injury in the isolated guinea-pig heart. 8**:Abs A129-A129.

118. Hoppe S, Schelhaas M, Jaeger V, Liebig T, Petermann P, Knebel-Morsdorf D: **Early herpes simplex virus type 1 infection is dependent on regulated rac1/cdc42 signalling in epithelial mdckii cells.** *J Gen Virol* (2006) **87**(Pt 12):3483-3494. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17098962

119. Dierkes R, Warnking K, Liedmann S, Seyer R, Ludwig S, Ehrhardt C: **The rac1 inhibitor nsc23766 exerts anti-influenza virus properties by affecting the viral polymerase complex activity.** *PLoS One* (2014) **9**(2):e88520. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24523909

120. Wang JL, Zhang JL, Chen W, Xu XF, Gao N, Fan DY, An J: **Roles of small gtpase rac1 in the regulation of actin cytoskeleton during dengue virus infection.** *PLoS Negl Trop Dis* (2010) **4**(8). http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20824170

121. Turkovic B, Sikiric P, Seiwerth S, Rucman R, Petek M, Anic T: **Gastric pentadecapeptide bpc 157, a new stable peptide in clinical phase ii for inflammatory bowel disease (pliva, pl-14736) as therapy for hsv-1 and hsv-2 infection.** *Gastroenterology* (2003) **124**(4):A560.

122. Rucman R: **New stable pentadecapeptide salts, a process for preparation thereof, a use thereof in the manufacture of pharmaceutical preparations and a use thereof in therapy.** In: Google Patents, (2016).

123. Tong-Starkesen S, Luciw P, Peterlin B: **Signaling through t lymphocyte surface proteins, tcr/cd3 and cd28, activates the hiv-1 long terminal repeat.** *The Journal of Immunology* (1989) **142**(2):702-707.

124. Zamudio-Meza H, Castillo-Alvarez A, Gonzalez-Bonilla C, Meza I: **Cross-talk between rac1 and cdc42 gtpases regulates formation of filopodia required for dengue virus type-2 entry into hmec-1 cells.** *J Gen Virol* (2009) **90**(Pt 12):2902-2911. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19710257

125. Brown J, Reading SJ, Jones S, Fitchett CJ, Howl J, Martin A, Longland CL, Michelangeli F, Dubrova YE, Brown CA: **Critical evaluation of ecv304 as a human endothelial cell model defined by genetic analysis and functional responses: A comparison with the human bladder cancer derived epithelial cell line t24/83.** *Lab Invest* (2000) **80**(1):37-45. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10653001

126. Marianneau P, Cardona A, Edelman L, Deubel V, Despres P: **Dengue virus replication in human hepatoma cells activates nf-kappab which in turn induces apoptotic cell death.** *J Virol* (1997) **71**(4):3244-3249. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9060688

127. Silva BM, Sousa LP, Gomes-Ruiz AC, Leite FG, Teixeira MM, da Fonseca FG, Pimenta PF, Ferreira PC, Kroon EG, Bonjardim CA: **The dengue virus nonstructural protein 1 (ns1) increases nf-kappab transcriptional activity in hepg2 cells.** *Arch Virol* (2011) **156**(7):1275-1279. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21424730

128. Petermann P, Haase I, Knebel-Morsdorf D: **Impact of rac1 and cdc42 signaling during early herpes simplex virus type 1 infection of keratinocytes.** *J Virol* (2009) **83**(19):9759-9772. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19640983

129. Amici C, Rossi A, Costanzo A, Ciafre S, Marinari B, Balsamo M, Levrero M, Santoro MG: **Herpes simplex virus disrupts nf-kappab regulation by blocking its recruitment on the ikappabalpha promoter and directing the factor on viral genes.** *J Biol Chem* (2006) **281**(11):7110-7117. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16407234

130. La Frazia S, Amici C, Santoro MG: **Antiviral activity of proteasome inhibitors in herpes simplex virus-1 infection: Role of nuclear factor-kappab.** *Antivir Ther* (2006) **11**(8):995-1004. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17302369

131. Nimmerjahn F, Dudziak D, Dirmeier U, Hobom G, Riedel A, Schlee M, Staudt LM, Rosenwald A, Behrends U, Bornkamm GW, Mautner J: **Active nf-kappab signalling is a prerequisite for influenza virus infection.** *J Gen Virol* (2004) **85**(Pt 8):2347-2356. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15269376

132. Tscharntke M, Pofahl R, Chrostek-Grashoff A, Smyth N, Niessen C, Niemann C, Hartwig B, Herzog V, Klein HW, Krieg T, Brakebusch C *et al*: **Impaired epidermal wound healing in vivo upon inhibition or deletion of rac1.** *J Cell Sci* (2007) **120**(Pt 8):1480-1490. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17389689

133. Igata T, Jinnin M, Makino T, Moriya C, Muchemwa FC, Ishihara T, Ihn H: **Up-regulated type i collagen expression by the inhibition of rac1 signaling pathway in human dermal fibroblasts.** *Biochem Biophys Res Commun* (2010) **393**(1):101-105. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20102701

134. Muller M, Trocme C, Lardy B, Morel F, Halimi S, Benhamou PY: **Matrix metalloproteinases and diabetic foot ulcers: The ratio of mmp-1 to timp-1 is a predictor of wound healing.** *Diabet Med* (2008) **25**(4):419-426. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18387077

135. Ferri N, Colombo G, Ferrandi C, Raines EW, Levkau B, Corsini A: **Simvastatin reduces mmp1 expression in human smooth muscle cells cultured on polymerized collagen by inhibiting rac1 activation.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (2007) **27**(5):1043-1049. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17303772

136. Asai J, Takenaka H, Hirakawa S, Sakabe J, Hagura A, Kishimoto S, Maruyama K, Kajiya K, Kinoshita S, Tokura Y, Katoh N: **Topical simvastatin accelerates wound healing in diabetes by enhancing angiogenesis and lymphangiogenesis.** *Am J Pathol* (2012) **181**(6):2217-2224. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23138019

137. Evangelista MT, Casintahan MF, Villafuerte LL: **Simvastatin as a novel therapeutic agent for venous ulcers: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial.** *Br J Dermatol* (2014) **170**(5):1151-1157. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24506834

138. Farsaei S, Khalili H, Farboud ES: **Potential role of statins on wound healing: Review of the literature.** *Int Wound J* (2012) **9**(3):238-247. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22050652

139. Laufs U, Kilter H, Konkol C, Wassmann S, Bohm M, Nickenig G: **Impact of hmg coa reductase inhibition on small gtpases in the heart.** *Cardiovasc Res* (2002) **53**(4):911-920. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11922901

140. Chen J, Liu B, Yuan J, Yang J, Zhang J, An Y, Tie L, Pan Y, Li X: **Atorvastatin reduces vascular endothelial growth factor (vegf) expression in human non-small cell lung carcinomas (nsclcs) via inhibition of reactive oxygen species (ros) production.** *Mol Oncol* (2012) **6**(1):62-72. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22153388

141. Tarnawski AS: **Cellular and molecular mechanisms of gastrointestinal ulcer healing.** *Dig Dis Sci* (2005) **50 Suppl 1**(S24-33. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16184417

142. Tohyama Y, Sikiric P, Diksic M: **Effects of pentadecapeptide bpc157 on regional serotonin synthesis in the rat brain: Alpha-methyl-l-tryptophan autoradiographic measurements.** *Life Sci* (2004) **76**(3):345-357. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15531385

143. Feng P, Guan Z, Yang X, Fang J: **Impairments of erk signal transduction in the brain in a rat model of depression induced by neonatal exposure of clomipramine.** *Brain Res* (2003) **991**(1-2):195-205. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14575892

144. Qi X, Lin W, Li J, Li H, Wang W, Wang D, Sun M: **Fluoxetine increases the activity of the erk-creb signal system and alleviates the depressive-like behavior in rats exposed to chronic forced swim stress.** *Neurobiol Dis* (2008) **31**(2):278-285. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18586506

145. Todorovic C, Sherrin T, Pitts M, Hippel C, Rayner M, Spiess J: **Suppression of the mek/erk signaling pathway reverses depression-like behaviors of crf2-deficient mice.** *Neuropsychopharmacology* (2009) **34**(6):1416-1426. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18843268

146. Fumagalli F, Molteni R, Calabrese F, Frasca A, Racagni G, Riva MA: **Chronic fluoxetine administration inhibits extracellular signal-regulated kinase 1/2 phosphorylation in rat brain.** *J Neurochem* (2005) **93**(6):1551-1560. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15935071

147. Blendy JA: **The role of creb in depression and antidepressant treatment.** *Biol Psychiatry* (2006) **59**(12):1144-1150. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16457782

148. Newton SS, Thome J, Wallace TL, Shirayama Y, Schlesinger L, Sakai N, Chen J, Neve R, Nestler EJ, Duman RS: **Inhibition of camp response element-binding protein or dynorphin in the nucleus accumbens produces an antidepressant-like effect.** *J Neurosci* (2002) **22**(24):10883-10890. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12486182

149. Eisch AJ, Bolanos CA, de Wit J, Simonak RD, Pudiak CM, Barrot M, Verhaagen J, Nestler EJ: **Brain-derived neurotrophic factor in the ventral midbrain-nucleus accumbens pathway: A role in depression.** *Biol Psychiatry* (2003) **54**(10):994-1005. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14625141

150. Koo JW, Russo SJ, Ferguson D, Nestler EJ, Duman RS: **Nuclear factor-kappab is a critical mediator of stress-impaired neurogenesis and depressive behavior.** *Proc Natl Acad Sci U S A* (2010) **107**(6):2669-2674. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20133768

151. Pace TW, Mletzko TC, Alagbe O, Musselman DL, Nemeroff CB, Miller AH, Heim CM: **Increased stress-induced inflammatory responses in male patients with major depression and increased early life stress.** *Am J Psychiatry* (2006) **163**(9):1630-1633. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16946190

152. Golden SA, Christoffel DJ, Heshmati M, Hodes GE, Magida J, Davis K, Cahill ME, Dias C, Ribeiro E, Ables JL, Kennedy PJ *et al*: **Epigenetic regulation of rac1 induces synaptic remodeling in stress disorders and depression.** *Nat Med* (2013) **19**(3):337-344. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23416703

153. Mahgoub MA, Sara Y, Kavalali ET, Monteggia LM: **Reciprocal interaction of serotonin and neuronal activity in regulation of camp-responsive element-dependent gene expression.** *J Pharmacol Exp Ther* (2006) **317**(1):88-96. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16382023

154. Chartoff EH, Papadopoulou M, MacDonald ML, Parsegian A, Potter D, Konradi C, Carlezon WA, Jr.: **Desipramine reduces stress-activated dynorphin expression and creb phosphorylation in nac tissue.** *Mol Pharmacol* (2009) **75**(3):704-712. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19106229

155. Jelovac N, Sikiric P, Rucman R, Petek M, Perovic D, Konjevoda P, Marovic A, Seiwerth S, Grabarevic Z, Sumajstorcic J, Dodig G *et al*: **A novel pentadecapeptide, bpc 157, blocks the stereotypy produced acutely by amphetamine and the development of haloperidol-induced supersensitivity to amphetamine.** *Biol Psychiatry* (1998) **43**(7):511-519. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9547930

156. Sikiric P, Jelovac N, Jelovac-Gjeldum A, Dodig G, Staresinic M, Anic T, Zoricic I, Rak D, Perovic D, Aralica G, Buljat G *et al*: **Pentadecapeptide bpc 157 attenuates chronic amphetamine-induced behavior disturbances.** *Acta Pharmacol Sin* (2002) **23**(5):412-422. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11978191

157. Liu CH, Ren J, Liu PK: **Amphetamine manipulates monoamine oxidase-a level and behavior using theranostic aptamers of transcription factors ap-1/nf-kb.** *J Biomed Sci* (2016) **23**(21. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26841904

158. Shi X, McGinty JF: **Extracellular signal-regulated mitogen-activated protein kinase inhibitors decrease amphetamine-induced behavior and neuropeptide gene expression in the striatum.** *Neuroscience* (2006) **138**(4):1289-1298. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16459022

159. Jaber M, Cador M, Dumartin B, Normand E, Stinus L, Bloch B: **Acute and chronic amphetamine treatments differently regulate neuropeptide messenger rna levels and fos immunoreactivity in rat striatal neurons.** *Neuroscience* (1995) **65**(4):1041-1050. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7617160

160. Shippenberg TS, Zapata A, Chefer VI: **Dynorphin and the pathophysiology of drug addiction.** *Pharmacol Ther* (2007) **116**(2):306-321. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17868902

161. Muschamp JW, Carlezon WA, Jr.: **Roles of nucleus accumbens creb and dynorphin in dysregulation of motivation.** *Cold Spring Harb Perspect Med* (2013) **3**(2):a012005. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23293139

162. Cenci MA: **Transcription factors involved in the pathogenesis of l-dopa-induced dyskinesia in a rat model of parkinson's disease.** *Amino Acids* (2002) **23**(1-3):105-109. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12373525

163. Sgroi S, Capper-Loup C, Paganetti P, Kaelin-Lang A: **Enkephalin and dynorphin neuropeptides are differently correlated with locomotor hypersensitivity and levodopa-induced dyskinesia in parkinsonian rats.** *Exp Neurol* (2016) **280**(80-88. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27072528

164. Tejeda HA, Shippenberg TS, Henriksson R: **The dynorphin/kappa-opioid receptor system and its role in psychiatric disorders.** *Cell Mol Life Sci* (2012) **69**(6):857-896. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22002579

165. Fazalul Rahiman SS, Morgan M, Gray P, Shaw PN, Cabot PJ: **Dynorphin 1-17 and its n-terminal biotransformation fragments modulate lipopolysaccharide-stimulated nuclear factor-kappa b nuclear translocation, interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in differentiated thp-1 cells.** *PLoS One* (2016) **11**(4):e0153005. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27055013

166. Bakalkin G, Yakovleva T, Terenius L: **Prodynorphin gene expression relates to nf-kappa b factors.** *Brain Res Mol Brain Res* (1994) **24**(1-4):301-312. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7968369

167. Song XQ, Lv LX, Li WQ, Hao YH, Zhao JP: **The interaction of nuclear factor-kappa b and cytokines is associated with schizophrenia.** *Biol Psychiatry* (2009) **65**(6):481-488. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19058794

168. Roussos P, Katsel P, Davis KL, Giakoumaki SG, Lencz T, Malhotra AK, Siever LJ, Bitsios P, Haroutunian V: **Convergent findings for abnormalities of the nf-kappab signaling pathway in schizophrenia.** *Neuropsychopharmacology* (2013) **38**(3):533-539. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23132271

169. Mas S, Gasso P, Parellada E, Bernardo M, Lafuente A: **Network analysis of gene expression in peripheral blood identifies mtor and nf-kappab pathways involved in antipsychotic-induced extrapyramidal symptoms.** *Pharmacogenomics J* (2015) **15**(5):452-460. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25623440

170. Mc Guire C, Prinz M, Beyaert R, van Loo G: **Nuclear factor kappa b (nf-kappab) in multiple sclerosis pathology.** *Trends Mol Med* (2013) **19**(10):604-613. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24007818

171. Ishii A, Furusho M, Bansal R: **Sustained activation of erk1/2 mapk in oligodendrocytes and schwann cells enhances myelin growth and stimulates oligodendrocyte progenitor expansion.** *J Neurosci* (2013) **33**(1):175-186. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23283332

172. Fyffe-Maricich SL, Schott A, Karl M, Krasno J, Miller RH: **Signaling through erk1/2 controls myelin thickness during myelin repair in the adult central nervous system.** *J Neurosci* (2013) **33**(47):18402-18408. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24259565

173. Namekata K, Kimura A, Harada C, Yoshida H, Matsumoto Y, Harada T: **Dock3 protects myelin in the cuprizone model for demyelination.** *Cell Death Dis* (2014) **5**(e1395. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25165881

174. Smith KJ, Kapoor R, Felts PA: **Demyelination: The role of reactive oxygen and nitrogen species.** *Brain Pathol* (1999) **9**(1):69-92. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9989453

175. Sun X, Liu Y, Liu B, Xiao Z, Zhang L: **Rolipram promotes remyelination possibly via mek-erk signal pathway in cuprizone-induced demyelination mouse.** *Exp Neurol* (2012) **237**(2):304-311. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22836144

176. Bruck W, Pfortner R, Pham T, Zhang J, Hayardeny L, Piryatinsky V, Hanisch UK, Regen T, van Rossum D, Brakelmann L, Hagemeier K *et al*: **Reduced astrocytic nf-kappab activation by**

laquinimod protects from cuprizone-induced demyelination. *Acta Neuropathol* (2012) **124**(3):411-424. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22766690

177. Kloster MM, Naderi EH, Carlsen H, Blomhoff HK, Naderi S: **Hyperactivation of nf-kappab via the mek signaling is indispensable for the inhibitory effect of camp on DNA damage-induced cell death.** *Mol Cancer* (2011) **10**(45. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21510868

178. Yan J, Greer JM: **Nf-kappa b, a potential therapeutic target for the treatment of multiple sclerosis.** *CNS Neurol Disord Drug Targets* (2008) **7**(6):536-557. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19128210

179. van Loo G, De Lorenzi R, Schmidt H, Huth M, Mildner A, Schmidt-Supprian M, Lassmann H, Prinz MR, Pasparakis M: **Inhibition of transcription factor nf-kappab in the central nervous system ameliorates autoimmune encephalomyelitis in mice.** *Nat Immunol* (2006) **7**(9):954-961. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16892069

180. Franklin RJ: **Why does remyelination fail in multiple sclerosis?** *Nat Rev Neurosci* (2002) **3**(9):705-714. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12209119

181. Sato-Bigbee C, Pal S, Chu AK: **Different neuroligands and signal transduction pathways stimulate creb phosphorylation at specific developmental stages along oligodendrocyte differentiation.** *J Neurochem* (1999) **72**(1):139-147. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9886064

182. Afshari FS, Chu AK, Sato-Bigbee C: **Effect of cyclic amp on the expression of myelin basic protein species and myelin proteolipid protein in committed oligodendrocytes: Differential involvement of the transcription factor creb.** *J Neurosci Res* (2001) **66**(1):37-45. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11599000

183. Saini HS, Gorse KM, Boxer LM, Sato-Bigbee C: **Neurotrophin-3 and a creb-mediated signaling pathway regulate bcl-2 expression in oligodendrocyte progenitor cells.** *J Neurochem* (2004) **89**(4):951-961. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15140194

184. Iacobaeus E, Amoudruz P, Strom M, Khademi M, Brundin L, Hillert J, Kockum I, Malmstrom V, Olsson T, Tham E, Piehl F: **The expression of vegf-a is down regulated in peripheral blood mononuclear cells of patients with secondary progressive multiple sclerosis.** *PLoS One* (2011) **6**(5):e19138. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21573104

185. Trager N, Smith A, Wallace Iv G, Azuma M, Inoue J, Beeson C, Haque A, Banik NL: **Effects of a novel orally administered calpain inhibitor snj-1945 on immunomodulation and neurodegeneration in a murine model of multiple sclerosis.** *J Neurochem* (2014) **130**(2):268-279. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24447070

186. Teranishi S, Kimura K, Nishida T: **Role of formation of an erk-fak-paxillin complex in migration of human corneal epithelial cells during wound closure in vitro.** *Invest Ophthalmol Vis Sci* (2009) **50**(12):5646-5652. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19494198

187. Saika S, Miyamoto T, Yamanaka O, Kato T, Ohnishi Y, Flanders KC, Ikeda K, Nakajima Y, Kao WW, Sato M, Muragaki Y *et al*: **Therapeutic effect of topical administration of sn50, an inhibitor of nuclear factor-kappab, in treatment of corneal alkali burns in mice.** *Am J Pathol* (2005) **166**(5):1393-1403. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15855640

188. Javelaud D, Besancon F: **Nf-kappa b activation results in rapid inactivation of jnk in tnf alpha-treated ewing sarcoma cells: A mechanism for the anti-apoptotic effect of nf-kappa b.** *Oncogene* (2001) **20**(32):4365-4372. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11466617

189. Petrovic I, Dobric I, Drvis P, Shejbal D, Brcic L, Blagaic AB, Batelja L, Kokic N, Tonkic A, Mise S, Baotic T *et al*: **An experimental model of prolonged esophagitis with sphincter failure in the rat and the therapeutic potential of gastric pentadecapeptide bpc 157.** *J Pharmacol Sci* (2006) **102**(3):269-277. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17116974

190. Biancani P, Harnett KM: **Signal transduction in lower esophageal sphincter circular muscle.** *GI Motility online* (2006).

191. Oh TY, Lee JS, Ahn BO, Cho H, Kim WB, Kim YB, Surh YJ, Cho SW, Lee KM, Hahm KB: **Oxidative stress is more important than acid in the pathogenesis of reflux oesophagitis in rats.** *Gut* (2001) **49**(3):364-371. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11511558

192. Zhao Z, Gong S, Wang S, Ma C: **Effect and mechanism of evodiamine against ethanol-induced gastric ulcer in mice by suppressing rho/nf-small ka, cyrillicb pathway.** *Int Immunopharmacol* (2015) **28**(1):588-595. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26225926

193. Sikiric P, Jadrijevic S, Seiwerth S, Sosa T, Deskovic S, Perovic D, Aralica G, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V *et al*: **Long-lasting cytoprotection after pentadecapeptide bpc 157, ranitidine, sucralfate or cholestyramine application in reflux oesophagitis in rats.** *J Physiol Paris* (1999) **93**(6):467-477. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10672991

194. Wetscher GJ, Hinder PR, Bagchi D, Perdikis G, Redmond EJ, Glaser K, Adrian TE, Hinder RA: **Free radical scavengers prevent reflux esophagitis in rats.** *Dig Dis Sci* (1995) **40**(6):1292-1296. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7781450

195. Wetscher GJ, Hinder RA, Bagchi D, Hinder PR, Bagchi M, Perdikis G, McGinn T: **Reflux esophagitis in humans is mediated by oxygen-derived free radicals.** *Am J Surg* (1995) **170**(6):552-556; discussion 556-557. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7491999

196. Sikiric P, Seiwerth S, Grabarevic Z, Rucman R, Petek M, Jagic V, Turkovic B, Rotkvic I, Mise S, Zoricic I, Gjurasin M *et al*: **Beneficial effect of a novel pentadecapeptide bpc 157 on gastric**

lesions induced by restraint stress, ethanol, indomethacin, and capsaicin neurotoxicity. *Dig Dis Sci* (1996) **41**(8):1604-1614. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8769287

197. Wang Y, Su W, Zhang C, Xue C, Chang Y, Wu X, Tang Q, Wang J: **Protective effect of sea cucumber (acaudina molpadioides) fucoidan against ethanol-induced gastric damage.** *Food Chemistry* (2012) **133**(4):1414-1419.

198. Pai R, Ohta M, Itani RM, Sarfeh IJ, Tarnawski AS: **Induction of mitogen-activated protein kinase signal transduction pathway during gastric ulcer healing in rats.** *Gastroenterology* (1998) **114**(4):706-713. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9516391

199. Tariq M, Al Moutaery A: **Menadione protects gastric mucosa against ethanol-induced ulcers.** *Experimental and Toxicologic Pathology* (2005) **56**(6):393-399.

200. Chang X, Luo F, Jiang W, Zhu L, Gao J, He H, Wei T, Gong S, Yan T: **Protective activity of salidroside against ethanol-induced gastric ulcer via the mapk/nf-kappab pathway in vivo and in vitro.** *Int Immunopharmacol* (2015) **28**(1):604-615. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26241782

201. Ye B, Zhou PY, Jia M, Cheng XS, Jia YT, Xu SG: **Absence of nf-kappab subunit p50 ameliorates cold immobilization stress-induced gastric ulcers.** *Biochem Biophys Res Commun* (2013) **434**(3):547-551. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23583384

202. Sinha K, Sadhukhan P, Saha S, Pal PB, Sil PC: **Morin protects gastric mucosa from nonsteroidal anti-inflammatory drug, indomethacin induced inflammatory damage and apoptosis by modulating nf-kappab pathway.** *Biochim Biophys Acta* (2015) **1850**(4):769-783. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25603542

203. Bindu S, Mazumder S, Dey S, Pal C, Goyal M, Alam A, Iqbal MS, Sarkar S, Azhar Siddiqui A, Banerjee C, Bandyopadhyay U: **Nonsteroidal anti-inflammatory drug induces proinflammatory damage in gastric mucosa through nf-kappab activation and neutrophil infiltration: Anti-inflammatory role of heme oxygenase-1 against nonsteroidal anti-inflammatory drug.** *Free Radic Biol Med* (2013) **65**(456-467. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23892052

204. Du J, Xu R, Hu Z, Tian Y, Zhu Y, Gu L, Zhou L: **Pi3k and erk-induced rac1 activation mediates hypoxia-induced hif-1alpha expression in mcf-7 breast cancer cells.** *PLoS One* (2011) **6**(9):e25213. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21980400

205. Myant KB, Cammareri P, McGhee EJ, Ridgway RA, Huels DJ, Cordero JB, Schwitalla S, Kalna G, Ogg EL, Athineos D, Timpson P *et al*: **Ros production and nf-kappab activation triggered by rac1 facilitate wnt-driven intestinal stem cell proliferation and colorectal cancer initiation.** *Cell Stem Cell* (2013) **12**(6):761-773. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23665120

206. Hou H, Chavez AE, Wang CC, Yang H, Gu H, Siddoway BA, Hall BJ, Castillo PE, Xia H: **The rac1 inhibitor nsc23766 suppresses creb signaling by targeting nmda receptor function.** *J Neurosci* (2014) **34**(42):14006-14012. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25319697

207. Guan XM, McBride WJ: **Fluoxetine increases the extracellular levels of serotonin in the nucleus accumbens.** *Brain Res Bull* (1988) **21**(1):43-46. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2464422

8. ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODACI:

- Ime i prezime: Tinka Vidović
- Datum i mjesto rođenja: 24.01.1990. Split
- E-mail: tinkavidovic@hotmail.com

OBRAZOVANJE:

- 2008.- 2016. Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu
- 2004.-2008. Opća gimnazija, Vrgorac
- 1996.-2004. Osnovna škola, Vrgorac

POZNAVANJE JEZIKA

- Hrvatski (materinji jezik)
- Engleski
- Njemački