Citostatici

Letić, Mario

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:669912

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

Sveučilište u Zagrebu
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Kemijski odsjek

Mario Letić

Student 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

CITOSTATICI

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za biokemiju Kemijskog odsjeka PMF-a

Mentor rada: doc. dr. sc. Marko Močibob

Zagreb, 2017.

Datum predaje prve verzije Završnog rada: 25. kolovoza 2017.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

Mentor rada: doc. dr. sc. Marko Močibob Potpis:

Predstojnik zavoda: izv. prof. dr. sc. Ita Gruić Sovulj Potpis:

§ SAŽETAK 1
§ 1. UVOD 2
§ 2. SVOJSTVA I MEHANIZAM DJELOVANJA CITOSTATIKA 5
2.1. Alkilirajuća sredstva 5
2.1.1. Dušični iperiti 6
2.1.2. Kompleksi platine 7
2.2. Antimetaboliti 9
2.2.1. Sinteza timidilata 10
2.2.2. Metotreksat 11
2.2.3. 5-fluorouracil 12
2.3. Antimetaboliti biljnog podrijetla 14
2.3.1. Paklitaksel 14
2.4. Interkalirajući agensi 16
2.4.1. Aktinomicin D 16
2.5. Moderni citostatici 17
2.5.1. Antitijela 17
2.5.2. Trastuzumab 18
2.5.3. Imatinib 19
§ 3. ZAKLJUČAK 20
§ 4. LITERATURNI IZVORI 21

§ Sažetak

Citostatici su antitumorski lijekovi koji su sastavni dio kemoterapije (liječenje osoba oboljelih od raka). Poznat je velik broj citostatika koji se mogu razvrstati u nekoliko skupina na temelju različitih svojstava i mehanizama djelovanja: alkilirajuća sredstva, antimetaboliti, antimetaboliti biljnog podrijetla, interkalirajući agensi. Uništavajući tumorske stanice, gotovo svi citostatici uništavaju i zdrave stanice koje se brzo dijele (spolne, krvotvorne, stanice probavnog trakta). Svaki citostatik ima jedinstven mehanizam čiji je cilj apoptoza tumorskih stanica.

Modificiranje nukleotidnih baza, inhibitorsko djelovanje na aktivnost važnih enzima, ometanje diobe stanice, neki su od mehanizama koji utječu direktno na DNA ili njenu sintezu. Izuzetak su moderni lijekovi („pametni lijekovi“) koji djeluju specifično i selektivno uništavajući samo tumorske stanice te uglavnom ne djeluju direktno na DNA.

Od početka 20. stoljeća do danas, otkriven je velik broj citostatika koji se koriste u liječenju širokog spektra zloćudnih bolesti (rak dojke, rak testisa, rak debelog crijeva i sl.).

§ 1. UVOD

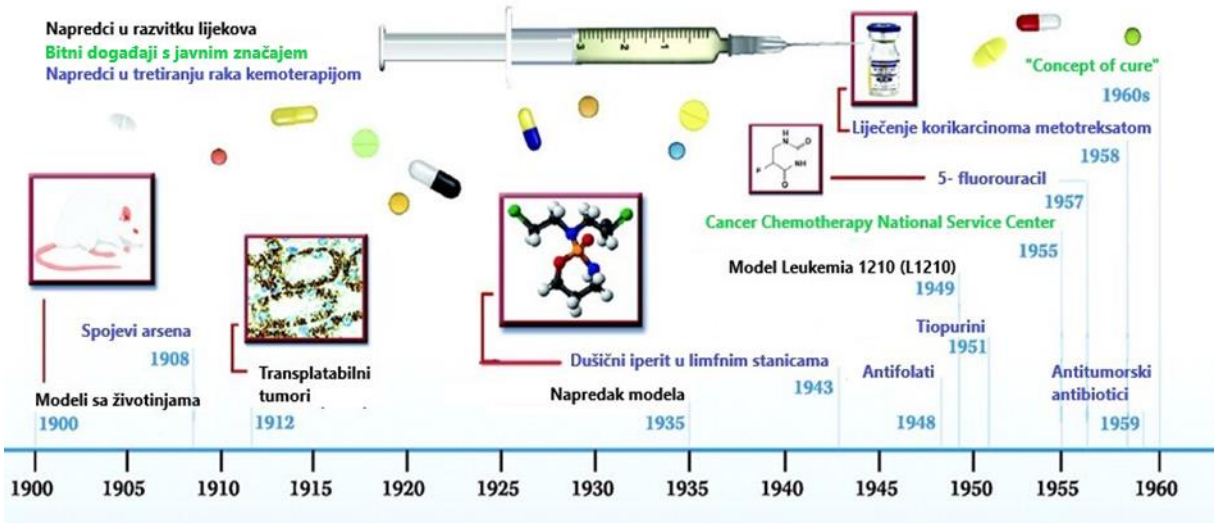
Opće je poznato da metastaziranje tumorskih stanica u ljudskom organizmu predstavlja globalni problem u medicini, a također valja naglasiti da je navedena pojava u 21.stoljeću učestala. Upravo iz tog razloga, neophodno je razumijeti kako se uništavaju maligne stanice što uvelike doprinosi onkologiji kao grani moderne medicine. Svrha ovog rada je pobliže opisivanje podjele, strukture, mehanizama te učinka antitumorskih lijekova - citostatika.

Citostatici su antitumorske supstance koje se koriste u sustavnoj metodi liječenja zloćudnih bolesti – kemoterapiji. Kemoterapija ili citostatska terapija je danas dio standardnog terapijskog procesa većine zloćudnih bolesti, zajedno s kirurgijom, zračenjem i pojedinim biološkim lijekovima. Postoje dva načina provedbe kemoterapije: monoterapija (liječenje jednim lijekom) i polikemoterapija (kombinacija više lijekova). Vrlo često se u medicini prilikom liječenja tumorskih stanica prethodno navedeni oblici kemoterapije koriste u kombinaciji s biološkom terapijom (imunoterapija, antiangiogena terapija). Danas se citostatici najčešće unose u ljudski organizam intravenozno putem bolusa ili prolongirane infuzije. Alternativni načini primjene ovih supstanci također imaju zavidan učinak, a u njih ubrajamo: oralna primjena, intraarterijska primjena, instiliranje u tjelesne šupljine te intratekalna primjena (konzumacija lijeka snagom vlastitog udaha). Bez obzira na način primjene, citostatici su lijekovi koji ne djeluju selektivno, tj. uništavajući zloćudne stanice u organizmu, oni oštećuju i zdrave, pogotovo one koje se brzo dijele: krvotvorne stanice, stanice sluznice probavnog trakta, te spolne stanice.[1] Zahvaljujući brojnim i dugotrajnim istraživanjima, znanstvenici su opisali i klasificirali pozamašan broj citostatika koji se razlikuju u mehanizmu djelovanja. Prema različitom mehanizmu djelovanja poznate su sljedeće kategorije citostatika: alkilirajuća sredstva, antimetaboliti, interkalirajući agensi, antimetaboliti biljnog podrijetla.[2] Također, u novije doba su otkriveni moderni lijekovi o kojima će biti govora u nastavku rada.

Sva dosadašnja saznanja o citostaticima, kemoterapiji i reakcijama organizama oboljelih osoba rezultat su postepenog procesa istraživanja istih još od ranih godina 20. stoljeća.

Paul Ehrlich, njemački znanstvenik, prvi upotrebljava naziv *kemoterapija* te ga definira kao uporabu kemijskih sredstava za liječenje bolesti. Njegov „model zeca“ iz 1908. godine opisuje liječenje sifilisa pomoću spojeva koji sadrže arsen (eng. arsenicals). Ovaj događaj započinje eru razvijanja citostatika zbog čega se njemački znanstvenik smatra ocem kemoterapije.

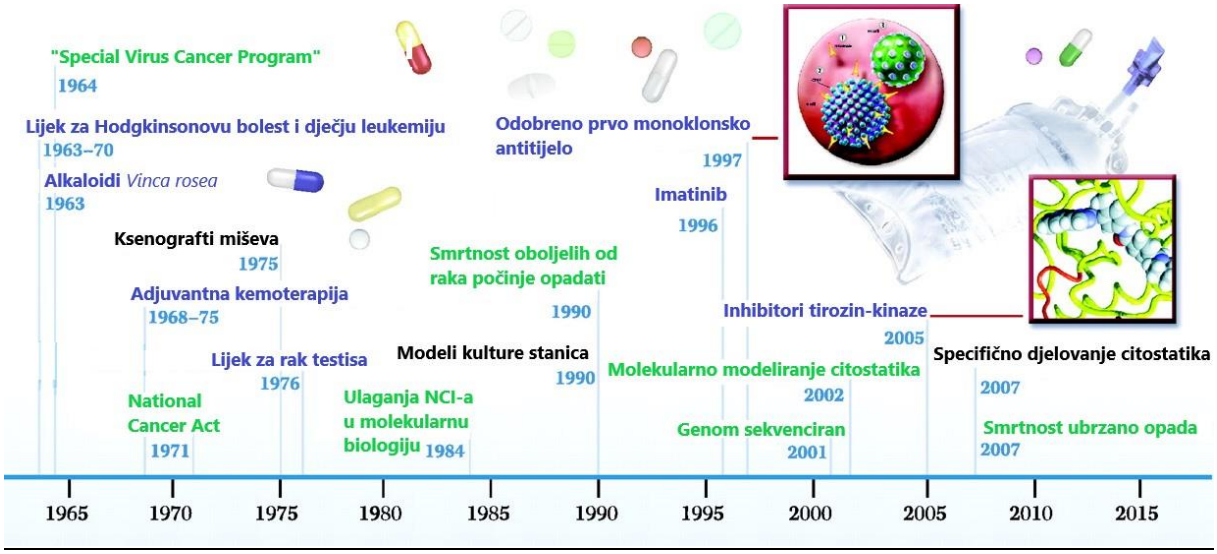
Četiri godine nakon Ehlrichovog modela, George Clowes, znanstvenik s Roswell Park Memorial Instituta (RPMI), izložio je nekolicinu radova o antitumorskim lijekovima (Sarkom 37 (S37), Sarkom 180 (S180) i Walker 256). Upravo ovim radovima, potaknuta je ideja za budućnost koja će rezultirati razvojem citostatika i moderne grane medicine - onkologije. U prvoj polovici 20.stoljeća, svjetski stručnjaci s uglednih instituta su bili potisnuti i diskriminirani zbog ideje o liječenju zloćudnih bolesti "kemikalijama". Unatoč tome, rastao je broj stručnjaka koji su se počeli baviti istraživanjem citostatika i uvođenjem istih u dio terapije osoba oboljelih od raka. Bitnu ulogu u ostvarivanju ideje o ovim lijekovima odigrao je Drugi svjetski rat saznanjem o antitumorskom djelovanju iperita u limfnim stanicama. Veliki iskorak dogodio se 1960-ih godina ("The Concept of Cure"), kada su dokazani pozitivni učinci alkaloida biljke *Vinca rosea* na akutnu dječju leukemiju i Hodgkinsonovu bolest kod starijih osoba. Ova zapažanja su uvelike promijenila pristup o ideji kemoterapije.



SLIKA 1. Razvoj citostatika od ranih godina 20.stoljeća do 1960-ih godina[3]

Sedamdesetih godina 20. stoljeća, znanstvenici su dali ideju adjuvantne kemoterapije (kombinacija kemoterapije i kirurške operacije) ispitivajući rak dojke. Svjesni skeptičnog pristupa kemoterapiji, Bernard Fisher i Paul Carbone (National Cancer Institute) su uspostavili kontakt s milanskim institutom Istituto Tumori koji se također intenzivno bavio rakom dojke. Usuglašeni, zajedničkim snagama su ubrzo ostvarili dotad nezamislivo: objavljen je rad znanstvenika Giannija Bonadonne o pristupu liječenja CMF (ciklofosfamid, metotreksat,

fluorouracil). Od tada, kemoterapija i citostatici su uvelike napredovali kroz desetljeća, što se može vidjeti na slici 2. Danas postoji velik broj različitih citostatika i načina liječenja raka, stoga ćemo se u ovom radu upoznati s nekolicinom njih te saznati na koji način zaustavljaju pojavu i širenje tumorskih stanica.



SLIKA 2. Razvoj citostatika kroz povijest od 1960-ih godina do danas[3]

§ 2. SVOJSTVA I MEHANIZAM DJELOVANJA CITOSTATIKA

2.1. Alkilirajuća sredstva

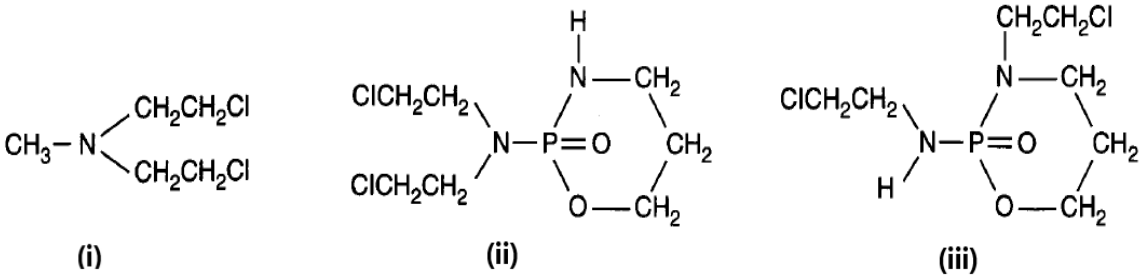
Alkiliranje je proces prijenosa alkilne (R-) grupe s jedne molekule na drugu. Alkilna grupa može se prenijeti kao: karbokation (R^+), karbanion (R^-), karben ($:CH_2$), slobodni radikal ($\cdot R$). Alkilirajuća sredstva ili agensi su vrlo rasprostranjeni u organskoj kemiji i biokemiji. Također, ova sredstva imaju vrlo bitnu ulogu u kemoterapiji. Prvo alkilirajuće sredstvo koje se koristilo kao bojni otrov u Prvom svjetskom ratu je sumporni iperit. Nedugo nakon njega, između dva svjetska rata, sintetiziran je dušični iperit i upotrebljen po prvi put u medicinske svrhe (kemoterapija limfnih stanica). Alkilirajući agensi u kemijskoj strukturi imaju jednu ili dvije alkilne grupe koje reagiraju s biološki važnim dijelovima stanice. Agensi s dvije alkilne grupe (bifunkcionalni) su aktivniji, a u tu skupinu spadaju:

- dušični iperiti (ciklofosfamid, ifosfamid, mekloretamin, melfalan, klorambucil)
- etilenimini i metilmelamini (tiotepa)
- alkilsulfonati (busulfan)
- derivati nitrozoureje (karmustin, lomustin, semustin, streptozocin)
- triazeni (dakarbazin)
- lijekovi s mehanizmom djelovanja sličnim alkilirajućim agensima (kompleksi platine – cisplatin, karboplatin te oksaliplatin)

Najvažniji citotoksični učinci ovih lijekova su onemogućena transkripcija i replikacija DNA, ometanje metabolizma proteina i aktivnosti enzima. Otpornost tumorskih stanica na alkilirajuće agense posljedica je pojačanog popravka DNA, smanjenja stanične propusnosti za lijek te povećanja inaktivacije lijeka.[2]

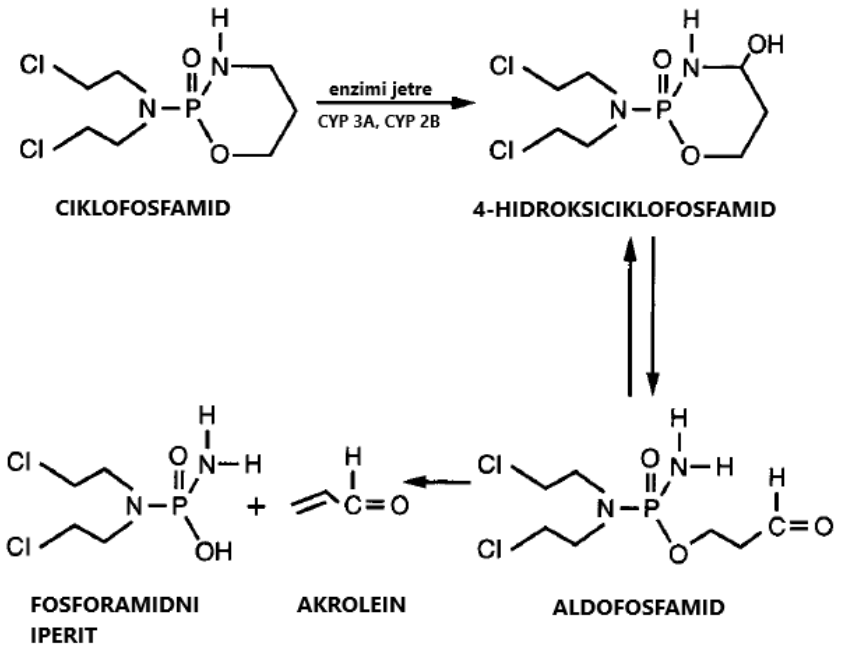
2.1.1. *Dušični iperiti*

Ciklofosfamid (CFA) i ifosfamid (IFA) su citostatici koji pripadaju oksazafosforinima, skupini čiji je primarni mehanizam inhibicija sinteze DNA alkilacijom. Strukturno gledano, oksazoforini su slični dušičnom iperitu (slika 3).



SLIKA 3. Prikaz strukture: **(i)** dušičnog iperita, **(ii)** ciklofosfamida, **(iii)** ifosfamida[4]

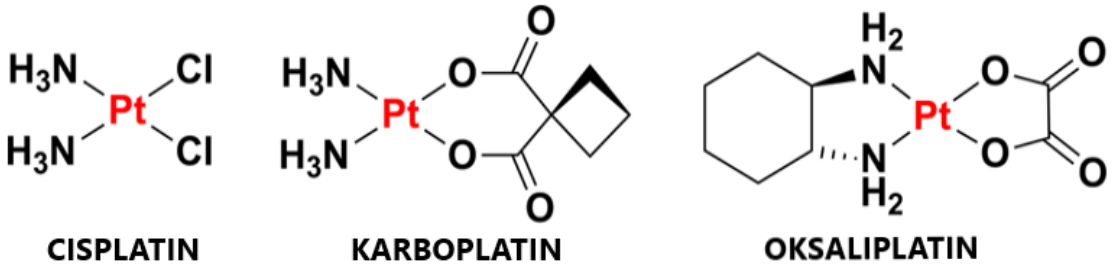
Za razgradnju ovih iperita, potrebno je nekoliko koraka kako bi došli do vrsta koje imaju citotoksičan učinak – fosforamidnog iperita odnosno ifosforamidnog iperita (slika 4). Prije svega, CFA i IFA zahtjevaju aktivaciju. Aktivacija se odvija u jetri djelovanjem više različitih oksidaza prilikom čega nastaje 4-hidroksiciklofosfamid (4-hidroksiifosfamid) koji je spreman za ulazak u stanicu. Ova reakcija je potpomognuta djelovanjem dvije vrste citokroma: CYP 2B i CYP 3A. Oksidirani produkti imaju aldotautomere (aldofosfamid) koji se u zadnjem koraku razgrađuju do akroleina i citotoksičnih vrsta – fosforamidnog iperita i ifosforamidnog iperita.
Ovi iperiti tvore aziridinijeve ione elektrofilnog karaktera koji alkiliraju nukleofilne baze DNA (N-7 atom gvanina), tvoreći DNA-DNA i DNA-protein poprečna povezivanja („cross-linking“). Tako oštećena DNA više ne može sudjelovati u staničnom ciklusu pri čemu dolazi do apoptoze stanice.
Ciklofosfamid se upotrebljava zajedno s drugim kemoterapijskim agensima pri liječenju limfoma i određenih oblika leukemije.[4]



SLIKA 4. Mehanizam aktivacije i razgradnje ciklofosfamida do citotoksično aktivne vrste – fosforamidnog iperita; ifosfamid ima analogan metabolizam[4]

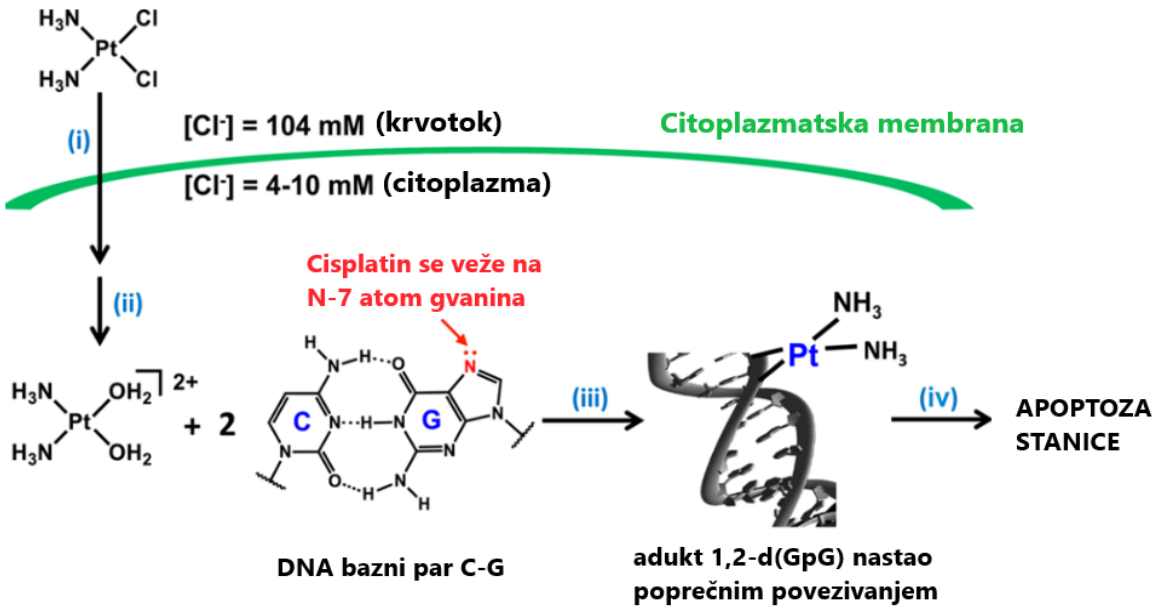
2.1.2. Kompleksi platine

Jedno od značajnijih dostignuća u razvoju citostatika su kompleksi platine. Iako su se pojavili tek 70-ih godina prošlog stoljeća, danas su najkorišteniji citostatici diljem svijeta. Postoji velik broj kompleksa platine, međutim, valja izdvojiti tri kompleksa platine s amonijakom: cisplatin, karboplatin, oksaliplatin. Važnost ovih citostatika dokazana je liječenjem i testiranjem osoba oboljelih od raka testisa, pri čemu je stopa izlječenih prekoračila 95%.



Kompleksi platine imaju vrlo sličnu strukturu: tetrakoordinirane neutralne molekule platine s dva amonijaka (amina) i dva anionska liganda međusobno u *cis*-položaju. Aminske skupine su čvrsto vezane za metalni centar dok izlazne skupine u ovim kompleksima mogu biti

monodentatni anionski ligandi ili kelatni dianionski ligadni. Izlazne skupine prilikom reakcije napuštaju koordinacijsku sferu platine (II). Osim strukture, ovi lijekovi također imaju sličan mehanizam koji je objašnjen na primjeru cisplatina (slika 5). Molekula cisplatina ulazi u stanicu iz krvotoka aktivnim transportom ili pasivnom difuzijom (i) iako je kombinacija ova dva načina optimalna. Nakon ulaska u stanicu, potrebno je aktivirati inaktivni oblik lijeka (prolijek). Aktivacija se vrši nukleofilnom supstitucijom pri čemu dolazi do zamjene dva klora s dvije molekule vode, nastaje *cis*-$[Pt(NH_3)_2(H_2O)_2]^{2+}$ (ii). Pozitivni naboj na kationima unutar stanice privlači negativno nabijeni lanac DNA. Akvatizirani cisplatin sada ima mogućnost ulaska u jezgru te supstitucije s heterocikličkim bazama. Veza između DNA i cisplatina ostvaruje se preko N-7 atoma purinske baze gvanina pri čemu nastaje adukt (iii) 1,2-d(GpG) kao rezultat poprečnog povezivanja unutar jednog lanca DNA (eng. crosslinking). S obzirom da DNA ima mehanizme popravka vlastitog lanca (izrezivanje baza, izrezivanje nukleotida), bitno je naglasiti ulogu posebne skupine proteina, zvanih HMG protein ("high-mobility group protein). Ova skupina proteina ne dozvoljava popravke dijelova DNA oštećenih cisplatinom te omogućava neometanu provedbu mehanizma. Zadnji korak (iv) mehanizma djelovanja cisplatina na tumorske stanice je inhibicija transkripcije DNA lanca, tj. inhibicija enzima RNA-polimeraze. Ovaj događaj je signal koji vodi do smrti (apoptoze) tumorske stanice.[5]



SLIKA 5. Mehanizam djelovanja cisplatine: **(i)** ulazak kompleksa platine u stanicu, **(ii)** hidratacija/aktivacija kompleksa, **(iii)** vezanje kompleksa s DNA, **(iv)** inhibiranje transkripcije kao signal za smrt (apoptozu) stanice[5]

Kompleksi platine se koriste za sljedeće vrste karcinoma: karcinom grlića maternice, pluća, mokraćnog mjehura, glave, vrata, testisa i jajnika.

2.2. Antimetaboliti

Antimetaboliti su sintetski lijekovi koji djeluju na enzime povezane sa sintezom i funkcijom DNA. Zbog strukturne sličnosti s metabolitima stanice, antimetaboliti oponašaju supstrat i inhibiraju stvaranje DNA sprječavajući rast tumorskih stanica te pritom uzrokuju njihovo nepovratno oštećenje.[2] Ova vrsta citostatika ima široku primjenu, a najčešće se koristi pri liječenju leukemije, raka dojke, jajnika i probavnog trakta. U tablici 1. prikazana je osnovna podjela antimetabolita.

Tablica 1. Podjela antimetabolita prema kemijskoj strukturi i mehanizmu djelovanja

Podjela prema kemijskoj strukturi	• analozi folne kiseline (metotreksat) • analozi pirimidina (5-fluorouracil) • analozi purina (merkaptopurin)
Podjela prema mehanizmu djelovanja	• inhibitori dihidrofolat-reduktaze • inhibitori timidilat-sintaze • inhibitori ribonukleotid-reduktaze • inhibitori adenozin-deaminaze • inhibitori DNA-polimeraze

Najprikladniji enzimi za inhibiciju su timidilat-sintaza i dihidrofolat-reduktaza. Stanice koje se brzo dijele trebaju ogromne količine timidilata za sintezu DNA, stoga su timidilat-sintaza i dihidrofolat-reduktaza najčešće mete u kemoterapiji.[6]

2.2.1. *Sinteza timidilata*

Timidilat (TMP) metilirani je analog uracila i sastavni dio DNA. Uracil koji je nastao u putu biosinteze pirimidina nije komponenta DNA. Iz tog razloga, za stvaranje timidilata potreban je još jedan korak koji je kataliziran timidilat-sintazom. Ovaj enzim katalizira reakciju metiliranja deoksiuridilata (dUMP) u deoksitimidilat (dTMP) pri čemu je donor metilne skupine N^5,N^{10}-metilentetrahidrofolat.

Metiliranje je potpomognuto tiolatom, nastalim iz cisteinskog ostatka (-SH), a njegova funkcija je nukleofilni napad na metilensku skupinu metilentetrahidrofolata. Osim dTMP, kao rezultat oksidacije nastaje i dihidrofolat.

$$N^5,N^{10}\text{-metilentetrahidrofolat} + \text{dUMP} \leftrightarrow \text{dihidrofolat} + \text{dTMP}$$

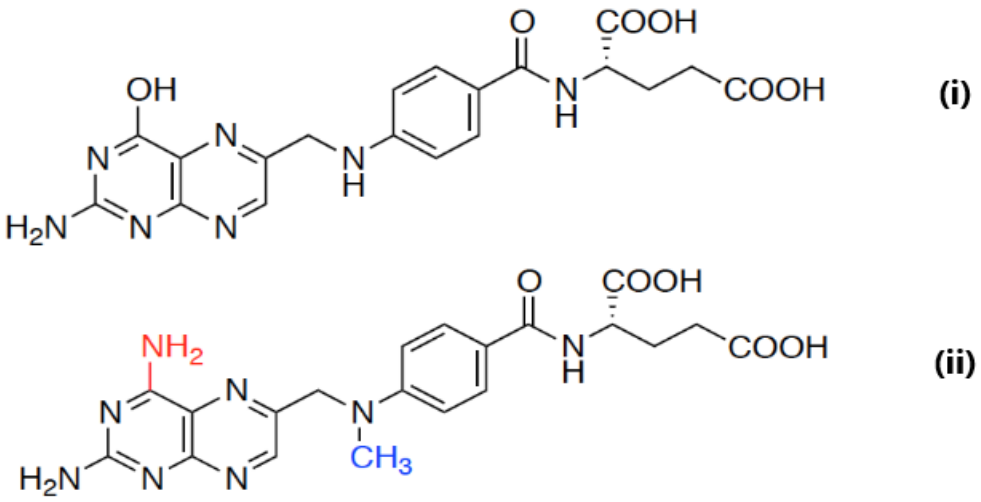
Dihidrofolat koji je nastao u prethodno navedenoj reakciji koristi se za regeneraciju tetrahidrofolata kako bi se sinteza timidilata mogla nesmetano odvijati. Tu reakciju katalizira enzim dihidrofolat-reduktaza, uz NADPH kao reducens.[6]

$$\text{dihidrofolat} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{tetrahidrofolat} + \text{NADP}^+$$

Prethodno spomenuta dva spoja, dihidrofolat i N^5,N^{10}-metilentetrahidrofolat analozi su važne kiseline za ljudski organizam, folne kiseline. Folna kiselina, poznata i kao vitamin B_9, neophodan je i fiziološki važan spoj koji ljudsko tijelo ne može sintetizirati. Preciznije rečeno, folna kiselina je pteroilglutaminska kiselina koja se sastoji od 2-amino-4-hidroksipteridinske jezgre, p-aminobenzojeve kiseline i glutaminske kiseline (slika 6).

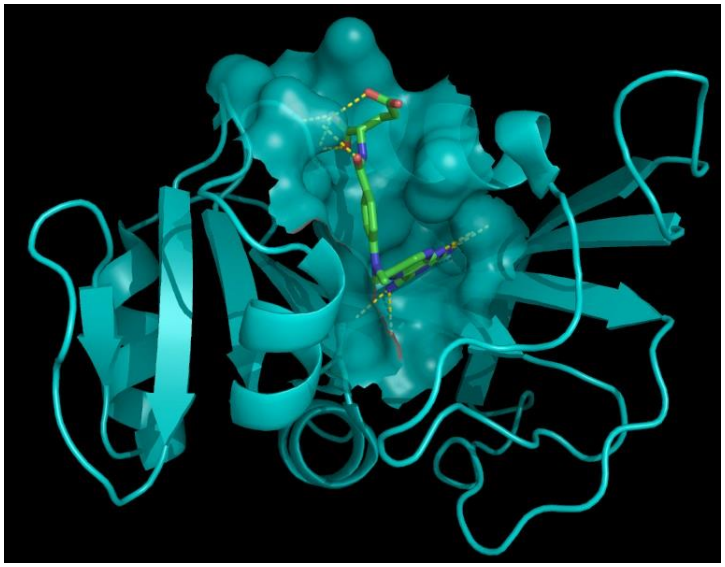
2.2.2. *Metotreksat*

4-amino-10-metilfolna kiselina, komercijalnog naziva metotreksat (MTX) je citostatik koji spada u skupinu antimetabolita, preciznije u skupinu antifolata. Antifolati su vrsta antimetabolita koji blokiraju djelovanje folne kiseline, odnosno zaustavljaju njezinu ulogu kofaktora raznim metiltransferazama u biosintetskim reakcijama. Glavna zadaća metotreksata je inhibicija dihidrofolat-reduktaze (DHFR), enzima koji katalizira reakciju regeneracije tetrahidrofolata.



SLIKA 6. Prikaz strukture: **(i)** folne kiseline, **(ii)** metotreksata; razlika između ova dva spoja označena je crvenom i plavom bojom[12]

Na slici 6 možemo uočiti strukturnu sličnost između metotreksata i folne kiseline. U prisustvu oba spoja unutar stanice, DHFR će ostvariti interakciju s MTX uslijed većeg afiniteta. Sada kada je MTX u aktivnom mjestu dihidrofolat-reduktaze (slika 7), reakcija regeneracije tetrahidrofolata je zaustavljena, kao i daljnja sinteza timidilata (indirektna inhibicija timidilat-sintaze), odnosno same DNA. Prethodno navedeni događaji rezultiraju zaustavljanjem repliciranja DNA (S-faza mitoze stanica), odnosno onemogućeno je dijeljenje (proliferacija) tumorskih stanica.[7]

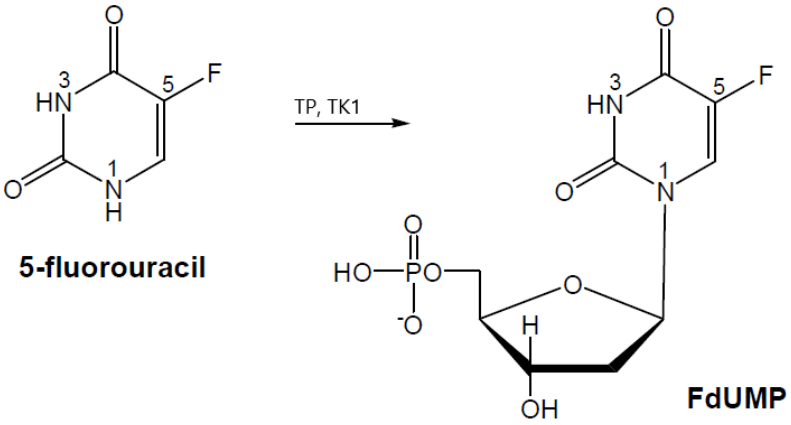


SLIKA 7. Prikaz aktivnog mjesta enzima dihidrofolat-reduktaze (plavo) u interakciji s metotreksatom (zeleno)[13]

Metotreksat je jedan od najkorištenijih metabolita. Osim što je citostatik (leukemija kod djece, non-Hodgkinov sindrom), koristi se i kao imunosupresiv (liječenje psorijaze i reumatidnog artritisa).

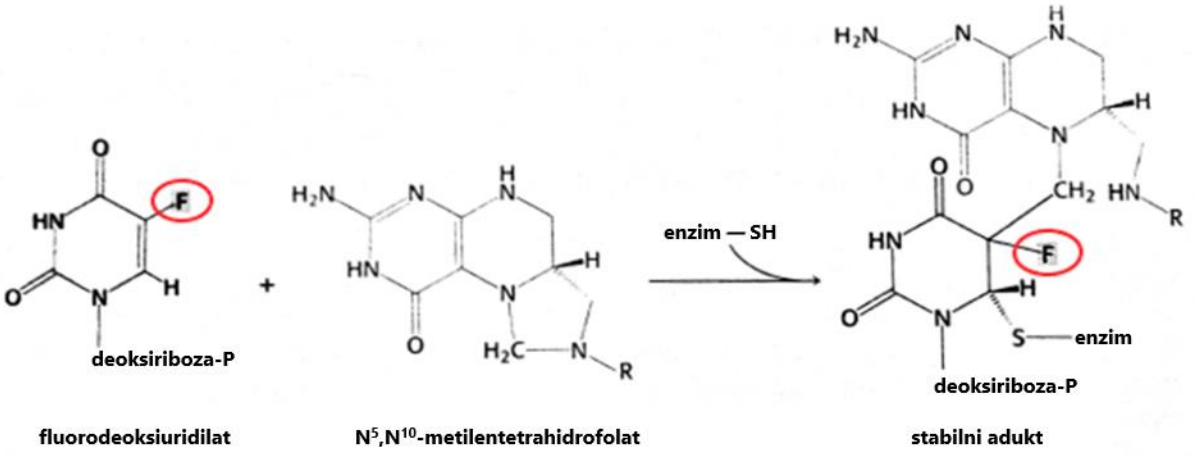
2.2.3. *5-fluorouracil*

Timidilat-sintaza (poglavlje 2.2.1.) je enzim koji je vrlo važan za sintezu DNA i stanični ciklus. Samim time, ova sintaza česta je meta antitumorskih lijekova. 5-fluorouracil (5-FU) je klinički upotrebljavan lijek protiv raka koji djeluje kao inhibitor timidilat-sintaze (TYMS), odnosno sprječava reakciju metilacije dUMP u dTMP. 5-FU je zapravo inaktivni oblik (prolijek), koji se prevodi *in vivo* u aktivni fluor-deoksiuridilat (F-dUMP). Proces aktivacije (slika 8) potpomognut je djelovanjem dva enzima: timidin fosforilaze (TP) i timidin kinaze (TK1). Aktivni F-dUMP, analog uracila, u dijelu katalitičkog ciklusa djeluje kao primaran supstrat, čime se ireverzibilno veže u aktivno mjesto timidilat-sintaze.



SLIKA 8. Aktivacija prolijeka 5-fluorouracila u F-dUMP

Nastali kompleks TYMS-F-dUMP ne može obaviti funkcije potrebne za sintezu timidilata. Proton s C-5 atoma nukleotida, zamijenjen je s F^+. Budući da C-5 protona (H^+) nema u aktivnom mjestu enzima i da ne može ukloniti F^+ s inhibitora, katalitička reakcija se zaustavlja te nastaje stabilni kompleks između N^5,N^{10}-metilentetrahidrofolata, F-dUMP-a tiolata (slika 9).



SLIKA 9. Reakcija nastanka stabilnog kompleksa (adukta) prilikom kojeg dolazi do zaustavljanja reakcijskog puta[6]

Ovakav primjer inhibicije, u kojem enzim pretvara supstrat u reaktivni inhibitor, nazivamo suicidnom (samoubojstvenom) inhibicijom pri čemu je F-dUMP suicidalni inhibitor. Međutim, do danas nije potpuno istraženo i ustanovljeno na koji način adukt nastao suicidnom inhibicijom zaustavlja sintezu DNA. Pretpostavka je sljedeća: kompleks TYMS-F-dUMP pogrešno se

lokalizira unutar jezgre stanice pri čemu ne može doći do *de novo* sinteze dTMP. Kao posljedica toga, pretpostavlja se da dolazi do ugradnje uracila ili 5-fluorouracila u DNA čime ona trenutno gubi svoju funkciju što naposlijetku dovodi do apoptoze stanice.

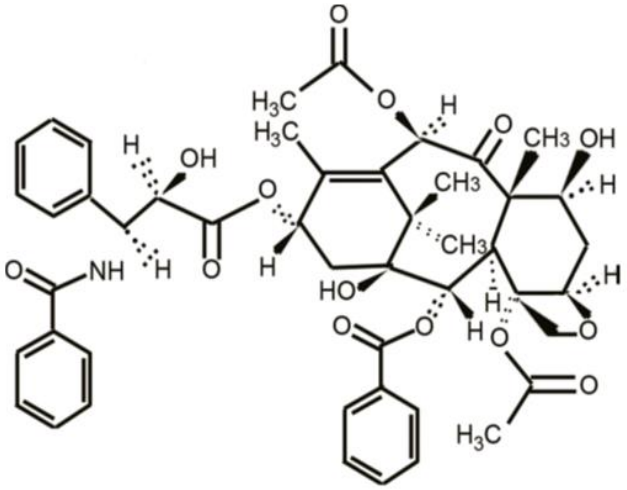
5-fluorouracil se kao citostatik primjenjuje za karcinom debelog crijeva, karcinom dojke te karcinom GIT-a (gastrointestinalnog trakta).[6,8]

2.3. Antimetaboliti biljnog podrijetla

U sredstva biljnog podrijetla za liječenje zloćudnih bolesti ubrajaju se biljni alkaloidi poput vinblastina, vinkristina, vinorelbina i paklitaksela. Ova skupina citostatika utječe na funkciju tubulina – globularnog proteina koji ima bitne funkcije u stanici prilikom diobe. Paklitaksel je poznat kao najunosniji citostatik, što znači da je vrlo upotrebljavan na tržištu (godišnji prihod iznosi preko milijardu dolara). U sljedećem odlomku predstavit ćemo njegove karakteristike te način djelovanja na tumorske stanice.

2.3.1. *Paklitaksel*

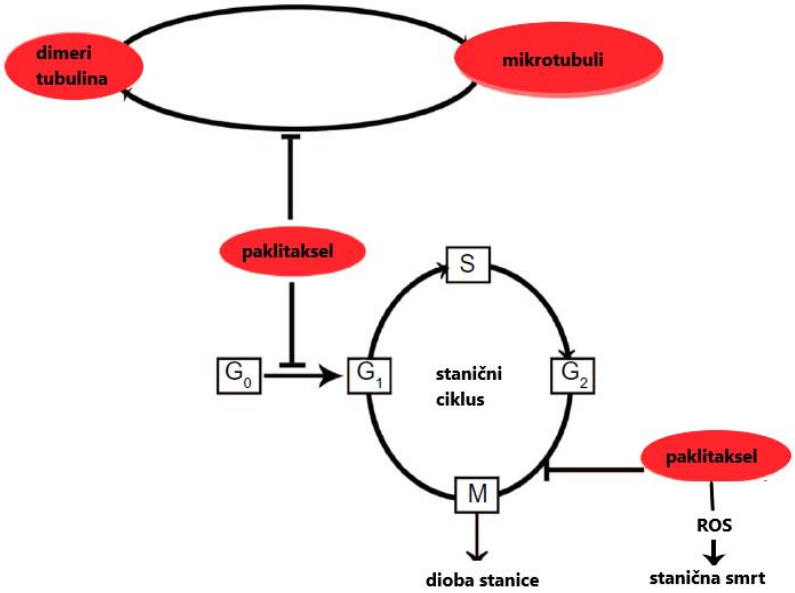
Paklitaksel je antitumorski lijek koji zaustavlja stanični ciklus i inducira smrt stanica na način da pospješuje stabiliziranje mikrotubula te ujedno ometa rastavljanje mikrotubula u staničnoj diobi.



PAKLITAKSEL

Taksol, prirodni alkaloid, izoliran je iz kore drveta *Taxus brevifolia* u zapadnom dijelu SAD-a. Kada su dokazani ljekoviti učinci ovog alkaloida, komercijalno je nazvan paklitaksel. Koristi se pri liječenju karcinoma dojke, jajnika i pluća. Osim pri liječenju tumorskih bolesti, paklitaksel se upotrebljava za liječenje kožnih bolesti, bubrežne i jetrene fibroze te restenoze

kororarnih arterija. Liječenje paklitakselom vodi do poremećaja diobenog vretena i odvajanja kromosoma, što ugrožava diobu stanica. Stabilizacijom mikrotubula i sprječavanju da se isti razdvoje, paklitaksel zaustavlja stanični ciklus između G_0 i G_1 faze te između G_2 i M faze i time inducira smrt stanice (slika 10.).



SLIKA 10. Mehanizam djelovanja paklitaksela na stanični ciklus; ROS („reactive oxygen species“)[9]

Osim mehanizma utjecanja na mikrotubule, poznat je još jedan način djelovanja ovog lijeka. Paklitaksel inducira reaktivne kisikove vrste (ROS), pri čemu dolazi do povećanja aktivnosti NADPH oksidaze što je pokazalo antitumorsku aktivnost.

Izuzev pozitivnih učinaka, paklitaksel ima i nedostatke. Naprimjer, velika koncentracija unutar stanice može uzrokovati zaustavljanje odvajanja mikrotubula s centromera, što predstavlja problem za normalno odvijanje staničnog ciklusa.[9]

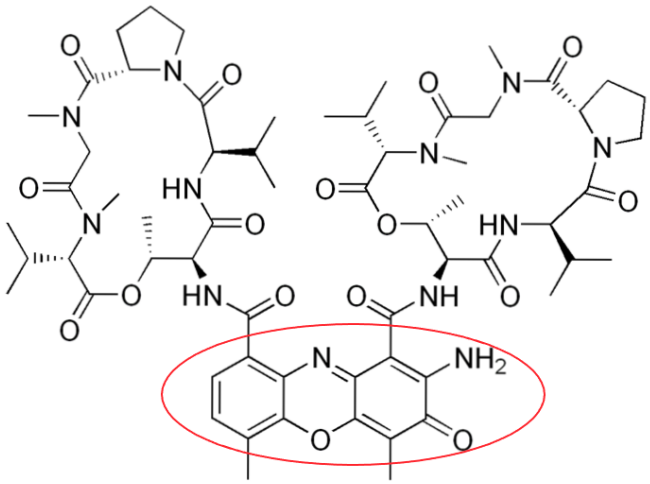
2.4. Interkalirajući agensi

Budući da većina citostatika utječue direktno na DNA, interkalirajući agensi nisu izuzetak. Interkalirati na latinskom jeziku doslovno znači ugraditi, što u slučaju interkalacije DNA znači ugradnja u njenu dvostruku zavojnicu, najčešće između susjednih parova baza. Jedan od najpoznatijih lijekova koji pripadaju ovoj skupini citostatika je aktinomicin D (daktinomicin). Osim njega, prilikom kemoterapije različitih vrsta tumora, koriste se i mitoksantron, amsakrin, bleomicin te antraciklini (doksorubicin, epirubicin). Rezultat njihovog djelovanja je inhibicija replikacije i transkripcije DNA nakon čega slijedi apoptoza stanice.

2.4.1. *Aktinomicin D*

Aktinomicin D je polipeptidni antibiotski citostatik koji je izoliran iz prirodnih sokova biljke *Streptomyces parvullis.*

Ovaj kemijski spoj sastoji se od dva ciklička pentapeptida te fenoksazonskog prstena (slika 11).



SLIKA 11. Struktura aktinomicina D; fenoksazonski prsten označen je crveno[14]

Dva su glavna mehanizma djelovanja aktinomicina. Prvi je interkalacija DNA, pri čemu se fenoksazonski prsten ugrađuje između dva susjedna para baza (gvanin i citozin), dok istodobno ciklički polipeptidi ulaze u veliki utor DNA zavojnice. Drugi mehanizam podrazumijeva stabilizaciju kompleksa DNA i topoizomeraze I (enzim za odmotavanje dvostruke zavojnice DNA), tako što lijek ulazi u mjesto gdje se događa povezivanje ove dvije vrste.

Bez obzira na mehanizam, aktinomicin se specifično veže na zavojnicu DNA te tako sprječava da ona bude dobar kalup za sintezu RNA. Drugim riječima, kompleks DNA-daktinomicin

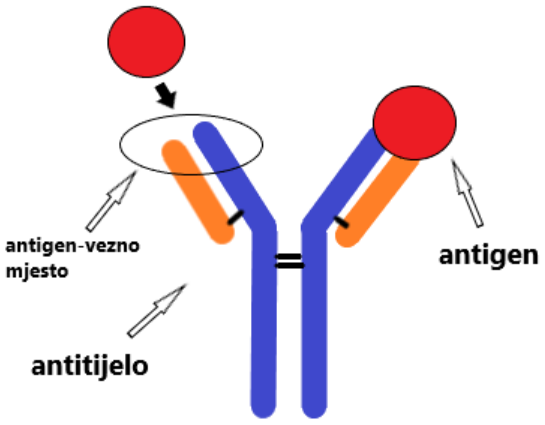
inhibira transkripciju i sintezu mRNA, Zbog svoje sposobnosti da zaustavi dijeljenje stanica, odnosno uzrokuje smrt tumorskih stanica, aktinomicin D je vrlo djelotvoran citostatik.[6,10]

2.5. Moderni citostatici

Moderni citostatici su poznati kao „pametni lijekovi“. Citostatici opisani u prethodnim odlomcima uništavaju tumorske stanice, ali ujedno uništavaju i sve ostale stanice koje se brzo dijele. Iz tog razloga, moderna onkologija je uvela inovaciju, moderne citostatike, čija je najbitnija karateristika selektivnost prema određenim tumorskim stanicama. Ova skupina citostatika su najčešće antitijela koja se vežu na biomembrane te sebi svojstvenim mehanizmima zaustavljaju rast i diobu tumorskih stanica. Jedan od najznačajnijih predstavnika pametnih lijekova je imatinib. Ovaj citostatik otkriven je krajem 90-ih godina 20. stoljeća te je danas vrlo značajan i upotrebljavan lijek.

2.5.1. *Antitijela*

Antitijela (imunoglobulini) su proteini iz skupine globulina. Ova skupina proteina ima visok afinitet vezanja s antigenima, molekulama koje potiču imunu reakciju u organizmu. Svako antitijelo ima pripadajući antigen (slika 12) na koji se veže po principu „ključ-brava“.



SLIKA 12. Prikaz načina povezivanja antitijela s pripadajućim antigenom; teški lanac (plavo) i laki lanac (narančasto) međusobno su povezani disulfidnim vezama

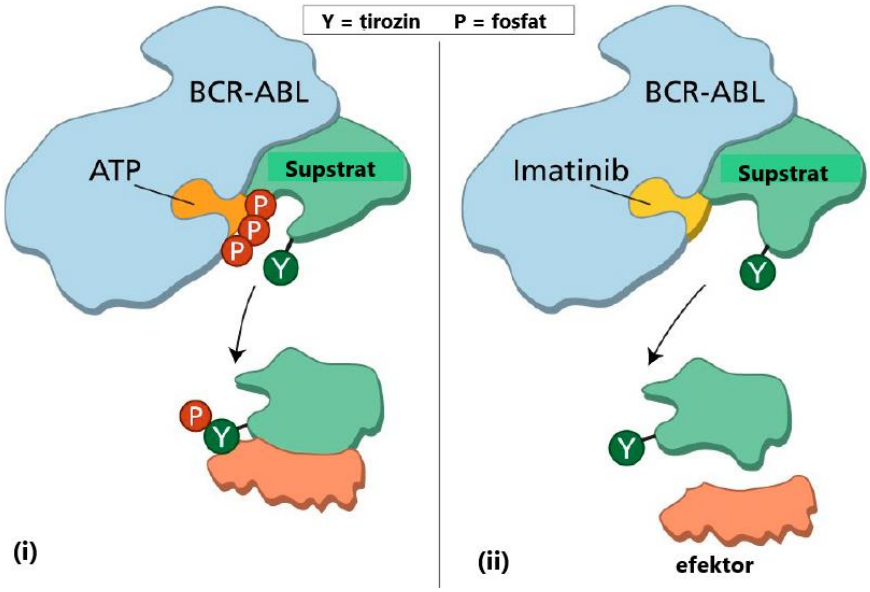
Liječenje raka djelovanjem na antitijela, metoda je koja se pojavila početkom 21. stoljeća. Ova metoda danas je jedna od najučinkovitijih i najvažnijih pristupa liječenju zloćudnih bolesti. Identifikacija antigena koji su pogodni za specifična monoklonska antitijela (mAbs). Kemijsko djelovanje mAbs direktno utječe na signalne puteve (npr. blokada receptora) te stimulira uništavanje tumorskih stanica posredovano imunološkim sustavom organizma. Najuspješnije antigenske mete u organizmu su: receptor epidermalnog faktora rasta (EGFR), vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF), citotoksični antigen povezan s T-limfocitima 4 (CTLA4).
Dvanaest antitijela dobilo je svjetsko odobrenje za korištenje pri liječenju različitih oblika zloćudnih bolesti.[6,16]

2.5.2. *Trastuzumab*

Rak dojke je jedna od najučestalijih zloćudnih bolesti u svijetu. Jedan od „pametnih lijekova", trastuzumab, moderni je citostatik koji se koristi pri liječenju određenih tipova raka dojke. Ovaj lijek poznat je i pod komercijalnim nazivom *herceptin*.
Trrastuzumab je zapravo monoklonsko (rekombinirano) antitijelo koje reagira sa humanim epidermalnim receptorom za rast (HER2). HER2 receptor pripada u skupinu receptora tirozin-kinaze te sudjeluje u signalnim putevima, kao i u proliferaciji te diferencijaciji stanice. Budući da se ne povezuje s ligandima, aktivira se dimerizacijom s ostalim HER receptorima.
Prekomjerna ekspresija HER2 u stanici služi kao biomarker za identifikaciju raka dojke (visoka koncentracija u 15-30% osoba oboljelih od raka dojke). Visoke koncentracije HER 2 potiču fosforilaciju HER2 što rezultira aktivacijom određenih signalnih puteva koji vode do rasta i širenja tumorskih stanica. Drugim riječima, kada u tumorskoj stanici imamo veliku količinu HER2, dolazi do proliferacije i angiogeneze uz inhibiciju apoptoze istih.
Mehanizam djelovanja trastuzumaba nije još potpuno razjašnjen i istražen. Trastuzumab kao antitijelo se veže za vanstaničnu domenu HER2 receptora. Nakon toga dolazi do ulaska u stanicu pri čemu dolazi do zaustavljanja G_1 faze staničnog ciklusa. Navedene pojave rezultiraju apoptozom tumorskih stanica. Herceptin se koristi u ranim stadijima raka dojke.[17]

2.5.3. *Imatinib*

Imatinib (derivat 2-fenilaminopirimidina), komercijalnog imena Gleevec, antitumorski je lijek čija je funkcija usporavanje rasta te induciranje smrti stanice za određeni tip raka. Počeo se koristiti 2001.godine u SAD-u, a najčešće je upotrebljavan pri liječenju kronične mijeloidne leukemije (CML). Njegov način djelovanja je vrlo selektivan, što je zajednička karakteristika modernih citostatika. Naime, imatinib djeluje kao inhibitor specifične tirozin kinaze (TK). TK katalizira prijenos terminalne fosfatne skupine s ATP-a na tirozinski bočni ogranak pripadajućeg supstrata. Funkcija tirozin-kinaze bitna je u signalnim putevima za rast, diferencijaciju, metabolizam te apoptozu stanice. Djelovanjem ovog lijeka na osobu oboljelu od CML, dolazi do inhibicije BCR-ABL tirozin kinaze. BCL („breakpoint cluster region“) i ABL („Abelson proto-oncogene“) su posebna vrsta proteina koji su sastavni dio (domene) prethodno navedenog enzima. Svaka tirozin-kinaza u aktivnim mjestima ima vezno mjesto za ATP. Imatinib djeluje tako da se veže blizu aktivnog mjesta pri čemu se zatvara u samoinhibicijsku konformaciju (slika 13). Rezultat navedenog procesa je onemogućen prijenos signala bitnih za leukemogenezu, odnosno inducira se apoptoza tumorskih stanica. Osim tumorskih, imatinib inhibira i ABL proteine netumorskih stanica, ali te stanice imaju dostatne količine tirozin-kinaze koje omogućuju neometan nastavak djelovanja.[11]



SLIKA 12. Mehanizam enzimske aktivnosti BCR-ABL tirozin-kinaze **(i)** te prikaz inihibicijskog djelovanja imatiniba na BCR-ABL tirozin-kinazu **(ii)**[15]

§ 3. ZAKLJUČAK

Liječenje zloćudnih bolesti danas je nezamislivo bez citostatika. Paul Ehrlich, svojom idejom 1908. godine, vjerojatno nije ni mogao zamisliti dokuda će dosegnuti temelji koje je on postavio. Tijekom 20. stoljeća izmijenilo se mnogo znanstvenika i stručnih radova, ali najbitniji događaj, po mom mišljenju, je kolizija biokemije i medicine, odnosno pojava adjuvantne kemoterapije. Ovaj događaj, koji je ugledao svijetlo dana krajem 60-ih godina prošlog stoljeća, srušio je brojne negativne predrasude o citostaticima. Od tada, znanstvenici su mogli, bez da ih se osuđuje, neometano nadograđivati svoje radove o citostaticima. U cijeloj toj priči, početak javnog objavljivanja znanstvenih radova o citostaticima jedan je od najvažnijih čimbenika. Potonje je bilo „zeleno svjetlo“ za znanstvenike diljem svijeta koji su do tada morali ideje o citostaticima čuvati za sebe.

Iako onkologija ima rješenja za veliku većinu različitih zloćudnih bolesti, još uvijek ne postoji univerzalan lijek za rak. U 21. stoljeću širok je spektar antitumorskih lijekova, ali nažalost, također dolazi do pojave novih vrsta tumorskih stanica za koje nije pronađen prikladan biokemijski proces uništavanja istih.

Jedno je sigurno, spoj biokemije i medicine u svrhu liječenja raka je jedno od najvećih dostignuća u onkologiji. Iz dana u dan, ova grana medicine sve više napreduje, zbog čega dolazi do opadanja smrtnosti osoba oboljelih od raka.

§ 4. LITERATURNI IZVORI

1. https://www.plivazdravlje.hr/aktualno/clanak/27160/Kemoterapija-u-lijecenju-zlocudnih-bolesti.html (datum pristupa 31.7.2017)
2. http://www.onkologija.hr/kemoterapija/koji-lijekovi-se-koriste-u-kemoterapiji/ (datum pristupa 1.8.2017)
3. Vincent T. Devita Jr., Edward Chu, A history of Cancer Chemotherapy. *Cancer Res.* **68** (2008) 8643-8653
4. Ronald A.Fleming, An Overview of Cyclophosphamide and Ifosfamide. *Pharmacotherapy*, **17** (1997) 146S-152S
5. Timothy C. Johnstone, Kogularamanan Suntharalingam, Stephen J. Lippard, The Next Generation of Platinum Drugs: Targeted Pt(II) Agents, Nanoparticle Delivery, and Pt(IV) Prodrugs. *Chem. Rev.* **116** (2016) 3436-3486
6. Jeremy M. Berg, John L. Tymozcko, Lubert Stryer, *Biokemija*, 6.izdanje, Školska knjiga, Zagreb, 2014.
7. Gary S. Wood, Jianqiang Wu, Methotrexate and Pralatrexate. *Dermatol Clin*, **33** (2015) 747–755
8. Xiaoyan Pan, Chen Wang, Fang Wang, Pengfei Li, Zhigang Hu, Yuanyuan Shan, Jie Zhang, Development of 5-Fluorouracil Derivatives as Anticancer Agents. *Curr. Med. Chem.*, **18** (2011) 4538-4556
9. Dongshan Zhang, Ruhao Yang, Shixuan Wang, Zheng Dong, Paclitaxel: new uses for an old drug. *Drug Des. Devel. Ther.*, **8** (2014) 279-284
10. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15995596 (datum pristupa 20.8.2017)
11. Nida Iqbal, Naveed Iqbal, *Imatinib: A Breakthrough of Targeted Therapy in Cancer*, **2014** (2014) 357027.
12. Preuzeto s: https://www.intechopen.com/source/html/47707/media/image3.png
13. Preuzeto s: https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e7/DHFR_methotrexate.jpg/220px-DHFR_methotrexate.jpg
14. Preuzeto s: http://www.apexbt.com//media/diy/images/struct/A4448.png

15. Preuzeto s: https://www.researchgate.net/profile/Tariq_Mughal/publication/7614675/figure/fig2/AS:280178145153026@1443811083296/Figure-3-Mode-of-action-of-imatinib-The-phosphorylation-of-a-substrate-is-shown.png
16. Andrew M. Scott, Jedd D. Wolchok, Lloyd J. Old, Antibody therapy of cancer. *Nat. Rev. Cancer* **12** (2012) 278-287
17. Sofia Maximiano, Paulo Magalhaes, Mara Pereira Guerreiro, Manuel Morgado, Trastuzumab in the Treatment of Breast Cancer. *BioDrugs* **30** (2016) 75-86.