Novi lijekovi u kemoterapiji tumora

Hanžić, Nikolina

Undergraduate thesis / Završni rad

2010

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:217:344172

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

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

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO - MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

NOVI LIJEKOVI U KEMOTERAPIJI TUMORA

NEW DRUGS IN CANCER CHEMOTHERAPY

SEMINARSKI RAD

Nikolina Hanžić
Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)
Mentor: Prof. dr. sc. Nada Oršolić

Zagreb, 2010.

SADRŽAJ

1. **UVOD**.....2
2. **KANCEROGENEZA I KEMOTERAPIJSKI LIJEKOVI**…….....……3
3. **PAMETNI LIJEKOVI**.....4
   - **3.1.** INHIBITORI TOPOIZOMERAZA.....4
   - **3.2.** INHIBITORI TELOMERAZA.....5
   - **3.3.** ANTI-ANGIOGENSKI LIJEKOVI.....7
   - **3.4.** NSAIDs……..9
   - **3.5.** NANOČESTICE.....11
4. **GENSKI LIJEKOVI**.....13
   - **4.1.** Pt LIJEKOVI.....13
   - **4.2.** MiRNA.....14
   - **4.3.** ßGMP.....16
5. **LITERATURA**.....17
6. **SAŽETAK**.....19
7. **SUMMARY**.....19

1. UVOD

Riječ tumor (*lat. tumor* = otjecanje, oteklina) označava skup promijenjenih stanica koje pokazuju nepravilan i progresivan rast. Proces nastanka tumora događa se na molekularnoj razini i obuhvaća oštećenje gena koje nastaje kao posljedica vanjskih kancerogenih faktora (UV zraka, alkilirajućih agensa, dima cigareta, kemijskih elemenata: arsen, azbest, kadmij, krom, nikal…) ili kao posljedica spontanih mutacija u organizmu. Nastajanje tumora ne događa se odjednom, već je to proces koji se sastoji od genotipskih i fenotipskih promjena. Tumorske stanice razlikuju se od normalnih stanica strukturno i funkcionalno. Tumorska masa stanica potječe od jedne jedine stanice u kojoj su se godinama nagomilavale razne genske mutacije odgovorne za reprodukciju i regulaciju rasta stanica. Tumorske mase su dinamične i vrlo heterogene. Tumori mogu biti benigni ili maligni. Razlika između njih je u agresivnosti rasta tj. u tome da maligni tumori metastaziraju šireći se u okolna zdrava tkiva preko krvožilnog sustava, dok benigni tumori ne stvaraju metastaze. Rak (*lat. cancer* = neizlječiva rana) predstavlja zloćudni oblik tumora. On nastaje istodobnim ili sukcesivnim djelovanjem većeg broja uzročnika.

Rast i diferencijacija stanica su pod pozitivnom i negativnom kontrolom. Pod tom kontrolom normalna stanica nakon određenog vremena odumire što se naziva apoptoza, dok s druge strane tumorska stanica nikad ne ulazi u apoptozu. Hoće li stanica ući u apoptozu ili će se nastaviti diferencirati ovisi prvenstveno o unutarstaničnoj komunikaciji između stanične membrane i jezgre. Pod utjecajem raznih faktora stanični geni koji kontroliraju proliferaciju i diferencijaciju stanica mogu prijeći iz normalnih stanica u onkogene. Onkogeni izazivaju malignu transformaciju stanica tako što mijenjaju normalne stanične procese. Promjena u onkogene može nastati zbog točkastih mutacija, delecija ili insercija. Svi onkogeni izazivaju nekontroliran rast i povećanje broja stanica. S druge strane, postoje i protuonkogeni ili tumor supresorski geni koji kodiraju produkte koji onemogućuju rast tumora i osiguravaju negativnu regulaciju staničnog ciklusa. Dakle, tumori nastaju aktivacijom onkogena i inaktivacijom protuonkogena.

2. KANCEROGENEZA I KEMOTERAPIJSKI LIJEKOVI

Kancerogeneza je proces koji se sastoji od četiri stupnja: (1) inicijacije, ireverzibilnog procesa u kojem se od jedne maligno transformirane stanice razvija klon malignih stanica; (2) progresije, reverzibilnog procesa koji u manjem dijelu ovisi o djelovanju karcinogenih čimbenika, dok u većem dijelu ovisi o količini čimbenika koji izazivaju inicijaciju, (3) progresije, ireverzibilnog procesa praćenog uočljivim genomskim promjenama i stvaranjem primarnog tumora i (4) metastaziranja, proširivanja malignih stanica po organizmu (Štraus, 1995, Ittoigawa, 2001).

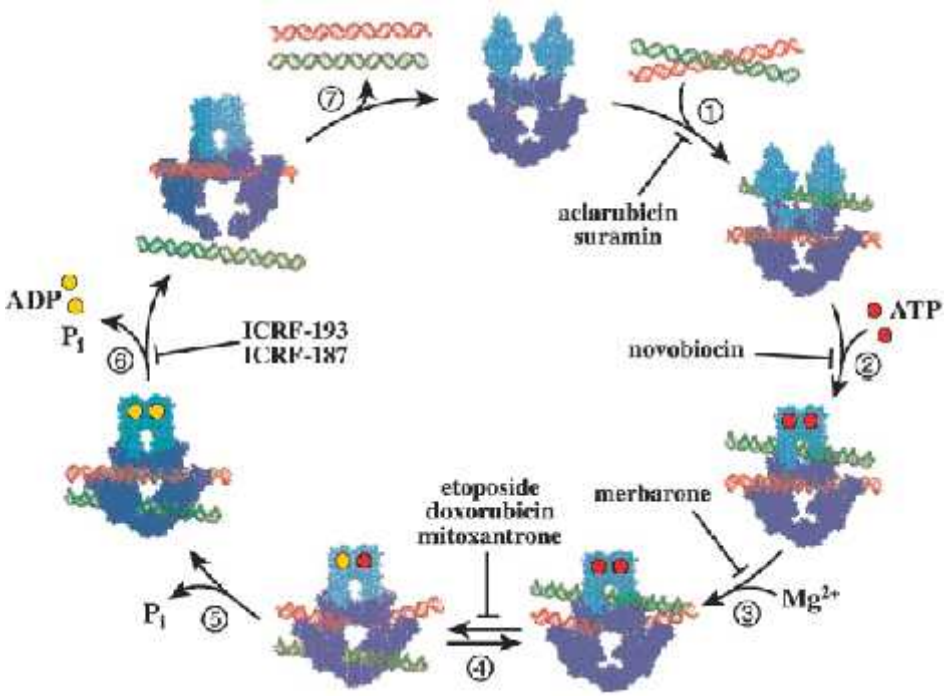
Lijekovi koji se koriste u kemoterapiji tumora imaju za cilj izazivati apoptozu tumorskih stanica uz minimalnu kolateralnu štetu. Iako su tumorske stanice osjetljivije od normalnih stanica na kemoterapijske lijekove, lijekovi nisu selektivni i mogu izazvati oštećenje normalnog tkiva (Haley, 2008). To se događa zbog nedostatka specifičnosti antitumorskih lijekova, sustavne toksičnosti lijekova, brzog metaboliziranja lijekova, ali i zbog stjecanja otpornosti na antitumorske lijekove. Današnji antitumorski lijekovi napravljeni su tako da inhibiraju ili stimuliraju enzime uključene u stanični metabolizam i sintezu proteina ili djeluju na signalne puteve (Kraljević, 2006). Još jedan od problema kod tumora je taj da ne postoji neki univerzalni lijek koji bi mogao liječiti sve vrste tumora, već postoje različiti lijekovi koji su specifični za određene tumore. U ovom radu osvrnut ćemo se na neke novije lijekove i tehnike u liječenju tumora.

Prije svega treba naglasiti kako postoje dvije vrste antitumorskih lijekova. Jedna od njih su pametni lijekovi. Ti lijekovi su usmjereni na ciljanje specifičnih signalnih puteva odgovornih za rast tumora, na ciljanje specifičnih antigena, faktora rasta, receptora i ostalih molekula u signalnim putevima od interesa. Druga vrsta su genski lijekovi. Ti lijekovi su usmjereni na ciljanje molekule DNA odnosno gena od interesa unutar DNA molekule (Kraljević, 2006). U pametne lijekove spadaju ove velike grupe lijekova: inhibitori topoizomeraza, inhibitori telomeraza, anti-angiogenski lijekovi i NSADIs. S druge strane, u genske lijekove spadaju ove velike skupine lijekova: Pt lijekovi, ßGMP i miRNA.

3. PAMETNI LIJEKOVI

3.1. INHIBITORI TOPOIZOMERAZE

DNA topoizomeraze su jezgrini stanični enzimi koji izazivaju lomove u molekuli DNA. Topoizomeraza I izaziva jednolančane lomove čime izaziva prezavijanje molekule DNA, dok topoizomeraza II izaziva dvolančane lomove u molekuli DNA i omogućuje dvolančanoj DNA da prođe kroz urez u DNA čime se događa relaksacija DNA molekule. Topoizomeraze imaju ulogu u replikaciji, kondenzaciji i segregaciji kromosoma. Ako u stanice unosimo spojeve koji inhibiraju funkciju topoizomeraza, tada stanice ulaze u apoptozu. Postoje inhibitori topoizomeraza I i II. Inhibitori topoizomeraza II su važni lijekovi koji se koriste u terapiji tumora. Svi inhibitori topoizomeraza II mogu utjecati na barem jedan korak u katalitičkom ciklusu topoizomeraze II (slika 1).



Slika 1. Katalitički ciklus topoizomeraze II i potencijalni inhibitori topizomeraze II. Preuzeto iz Larsen *i sur* 2003.

Aklarubicin je jak DNA interkalirajući agens koji sprečava vezanje topoizomeraze II na DNA molekulu. Uz to on može inhibirati i topoizomerazu I, ali ovisno o koncentraciji. Visoke koncentracije aklarubicina izazivaju stvaranje kovalentnog kompleksa DNA i topoizomeraze I, dok u normalnim koncentracijama aklarubicin sprečava vezanje

topoizomeraze I na DNA. Oštećenje DNA izazvano aklarubicinom događa se u S fazi jer je tu topoizomerazna aktivnost potrebna kako bi relaksirala superzavojnice ispred replikacijskih vilica. Suramin je polianionski spoj. On inhibira katalitičku aktivnost topoizomeraze II tako što sprečava vezanje enzima na DNA isto kao i aklarubicin. Novobiocin inhibira topoizomerazu II tako što blokira vezno mjesto za ATP. Merbaron je konjugat tiobarbituinske kiseline i anilina povezanih amidnom vezom. On inhibira katalitičku aktivnost topoizomeraze II, ali ima i slabu aktivnost prema topoizomerazi I. On je inhibitor cijepanja koje ovisi o enzimu tj. izaziva formiranje jednolančanih DNA molekula, usporavanje S i G2 faze. Etopozid sprečava topoizomerazu II da ponovno ligira pocijepanu DNA molekulu. Etopozid zatim preobrati topoizomerazu II u otrov koji uvodi visoke količine privremenih lomova u genom tretirane stanice. Tenipozid je analog etopozida. Mehanizam djelovanja tenipozida sličan je etopozidu. Oba lijeka oštećuju DNA tako što stvaraju interakciju s topoizomerazom II kako bi formirale cijepajući kompleks koji sprečava ponovnu ligaciju DNA dvolančanih lomova. Antraciklinski antibiotici su često korišteni kao antitumorski lijekovi. Oni inhibiraju topoizomerazu II tako što njihov planarni aglikonski dio interkalira između parova DNA i formira jednolančane ili dvolančane lomove u DNA. Antraciklini koji se koriste u liječenju su: doksorubicin, daunorubicin, epirubicin i idarubicin. Modificiraju sposobnost jezgrinih helikaza da disociraju dupleks DNA u jednolančane lance. ICRF i bisdioksipiperazonski derivati inhibiraju katalitičku aktivnost topoizomeraze II, ali ne utječu na topoizomerazu I. Inhibiraju topoizomerazu II stabilizirajući nekovalentni oblik enzima gdje je topoizomeraza blizu DNA. Za stvaranje tog kompleksa treba prisutnost ATP-a što dovodi do inhibicije ATPazne aktivnosti enzima.

3.2. INHIBITORI TELOMERAZA

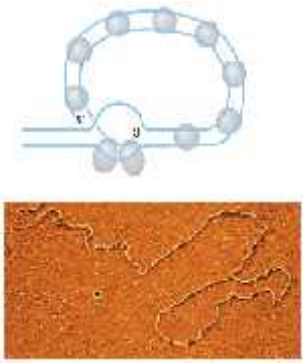
Replikacija DNA je semikonzervativna te nastaju 2 molekule DNA s roditeljskim i novosintetiziranim lancem. Replikacija se odvija tako da se jedan lanac sintetizira kontinuirano, a drugi uz Okazaki fragmente. Lanac koji se replicira Okazaki fragmentima je nešto kraći od originalnog lanca jer ne postoji polimeraza koja bi popunila šupljinu između zadnjeg Okazaki fragmenta i kraja kromosoma. Zbog toga se kraj kromosoma ne replicira i nakon svake diobe se kromosomi skraćuju. No, to ne izaziva gubitak gena u ljudskim kromosomima zbog dugih ponavljanja nekodirajućih DNA koje se nalaze na krajevima

kromosoma a zovu se telomere (slika 2). U svakom staničnom ciklusu dolazi do gubitka dijela telomera, a kada se dužina telomera skrati do kritične duljine onda se replikacija zaustavlja. Ljudske stanice imaju mogućnost 60-70 dioba. Sekvenca ljudskih telomera sastoji se od 6 bp 5' TTAGGG 3' koje se ponavljaju mnogo puta. Ljudske telomere variraju između 6-12 kb u somatskim stanicama. U svakom staničnom ciklusu izgubi se 50-100 pb nukleotida.



Slika 2. Kromosomi s telomerama. Preuzeto iz Granger 2002.

Telomerna hipoteza je ideja da je progresivno skraćivanje telomera mitotički sat u stanicama. Iako telomere ne kodiraju niti za jedan gen one su jako važne jer imaju unikatnu T-petlju u kojima se telomere savijaju unatrag (slika 3). Ta struktura štiti fuziju telomernih krajeva između različitih kromosoma i štiti telomere od prepoznavanja tih krajeva kao lomova DNA molekule. Telomeraza je reverzna transkriptaza jer dodaje heksamerna ponavljanja na krajeve kromosoma čime produžuje telomere i omogućuje stanici da se više puta može podijeliti. Sastoji se od RNA podjedinice (hTR), proteinske podjedinice (hTERT) i pridruženih proteina. Enzim katalizira dodavanje nukleotida na krajeve telomera koji su komplementarni RNA templatnoj sekvenci na hTR podjedinici. Ekspresija telomeraza je maker za rak jer skoro svi ljudski tumori pokazuju pozitivnu aktivnost telomeraze. Stanice u ljudskim tkivima nisu besmrtne jer one u svakom ciklusu replikacije skraćuju svoje telomere, dok s druge strane tumorske stanice imaju neograničen kapacitet jer se telomere ne skraćuju. Inhibitori telomeraza u tumorskim stanicama pojavljuju se na različitim razinama regulacije. Većina metoda temelji se na skraćivanju telomera. Taj proces je jako spor pa se za liječenje koristi u kombinaciji s raznim kemoterapeuticima. Krajnji cilj inhibicije telomeraza je izazivanje apoptoze u stanicama tumora.



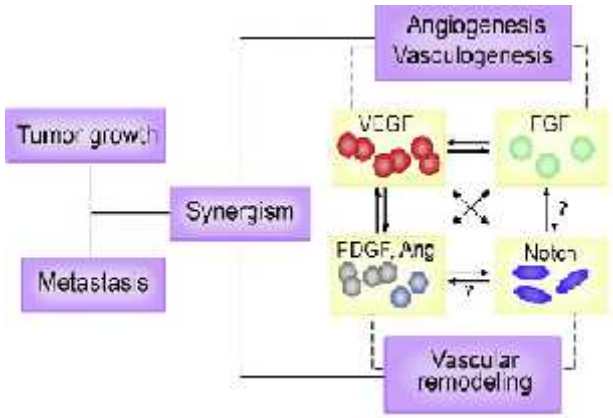
Slika 3. T-petlja. Preuzeto iz Nelson & Cox 2008.

RNA podjedinica može biti inhibirana antisence oligomerima za prvih nekoliko stotina nukleotida hTR molekule. Zbog toga se javljaju skraćene telomere koje nakon 23-26 ciklusa duplikacije, kod većine tumorskih stanica, ulaze u apoptozu ili diferencijaciju. U ovom procesu bitna je i duljina telomera. Kod stanica koje imaju duge telomere dolazi do reduciranog rasta, ali nema apoptoze. S druge strane, proteinska podjedinica može biti inhibirana dominantnim negativnim mutantom hTERT gena ili „hammerhaed“ ribozimima koji katalitički cijepaju mRNA molekule. Cijepanje mRNA proteinske podjedinice zaustavlja rast tumora i izaziva apoptozu. Nadalje, krajevi kromosoma se sastoje od dvolančane DNA molekule konzervirane s 3’ jednolančanom DNA duljine 150-200 pb. One stvaraju karakteristične sekundarne strukture tzv G-kvartetne strukture. Te strukture su važne za funkciju telomeraza jer one mogu sprečavati telomeraze u produživanju 3’ kraja i inhibirati aktivnost enzima. Lijekovi koji stabiliziraju ove konformacije su djelotvorni inhibitori enzima telomeraze. Kao posljedica toga dolazi do blokiranja produživanja telomera i brži ulazak stanice u apoptozu zbog nemogućnosti daljnje replikacije.

3.3. ANTI-ANGIOGENETSKI LIJEKOVI

Angiogeneza je formiranje novih krvnih žila iz već postojećih vaskularnih tkiva. To je veoma važan proces za vrijeme embriogenog razvoja i sastoji se od nekoliko koraka: proteolitičke degradacije temeljne membrane, migracije endotelnih stanica, proliferacije endotelnih stanica, stvaranje lumena i stvaranje nove temeljne membrane. Kod odraslih organizama angiogeneza ima važnu ulogu i pri zacijeljivanju rana.

Različiti tumori mogu eksprimirati različite tipove angiogenskih faktora koji im omogućuju rast. Da bi to bilo moguće potrebna je hipoksija u tumorskom tkivu. Hipoksija u tumorskom tkivu određuje stupanj ekspresije angiogenskih faktora, ali i međudjelovanje između njih. Unakrsno djelovanje VEGF (vaskularnog endotelnog faktora rasta), PDFG (trombocitno doveden faktorrasta), FGF (fibtroblastni faktor rasta), Ang (angiopoetin) i Notch dovode do poticanja angiogeneze i vaskulogeneze, ali i do poticanja vaskularnog remodeliranja. Ta međudjelovanja su sinergistička i stimuliraju rast tumora i stvaranje metastaza (slika 4).

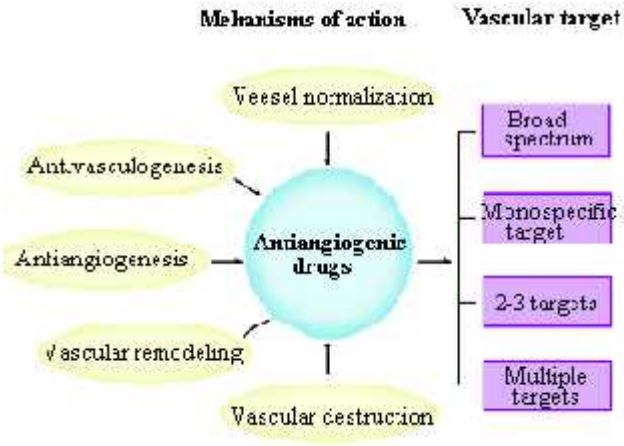


Slika 4. Međudjelovanje angiogeneze, vaskulageneze i vaskularnog remodeliranja u rastu tumora. Preuzeto iz Cao i *sur*. 2009.

S druge strane, rast tumora može biti suprimiran anti-angiogenskom terapijom. Jedno od najvažnijih terapijskih djelovanja je djelovanje na Notch receptor. Notch receptor stvara negativni inhibitor nizvodno od VEGF čime se ograničava efekt VEGF. VEGF je jako važan u angiogenezi i u stvaranju tumora. Delecija ili atenuacija Notch puta rezultira stvaranjem visoko neorganiziranih i neproduktivnih vaskularnih tkiva sa puno grana. Inhibicija Notch-a dovodi do inhibicije rasta tumora. Trenutni antiangiogenski lijekovi koji su dostupni najčešće ciljaju faktor rasta koji ima ulogu u signalnom putu. To su najčešće anti-VEGF, anti-FGF i anti-PDGF lijekovi (Cao i sur 2009.). Nadalje, različitim studijama je pokazano da NSAIDs mogu spriječiti angiogenezu i stvaranje tumorskog tkiva. Ekspresija COX-2 ima ulogu u angiogenezi. COX-2 inducira ekspresiju VEGF, ali VEGF inducira ekspresiju COX-2. Zbog toga što oni međusobno djeluju jedan na drugog ne zna koji od njih djeluje prvi pa se smatra

kako se induciraju u isto vrijeme. COX-2 inhibitori (tj. NSAIDs) inhibiraju angiogenezu sprečavajući razvoj endotelnih stanica, dok inhibitori COX-1 ne inhibiraju angiogenezu.

Anti-angiogenski lijekovi se mogu podijelit u 5 kategorija. Prvi su anti-angiogenski faktori. To je skupina koja inhibira angiogenezu ciljajući različite korake u angiogenskom putu. Druga su normalizacijski vaskularni agensi. Toj skupini pripada anti-VEGF. Treća skupina su antivaskulogenski agensi. Oni inhibiraju integraciju endotelnih stanica u tumorske angiogenske žile čime umanjuju tumorski rast. Četvrta skupina obuhvaća vaskularno preuređene inhibitore (npr inhibitor Notch puta). Oni inhibiraju rast tumora stvaranjem neproduktivnih vaskulatura. Peta skupina su vaskularno razorni agensi. Oni dovode do regresije tumorskih žila apoptozom (slika 5). Antiangiogenski lijekovi dijele se i prema terapeutskim ciljevima u 4 kategorije. Prva je monospecifični antiangiogenski lijekovi koji neutraliziraju samo jedan ligand. Druga su lijekovi koji ciljaju 2-3 raličita liganda pa mogu blokirati funkcije 2-3 liganda zato jer se receptori faktora rasta mogu vezati na nekoliko liganda. Treća su mnogostruki lijekovi (npr inhibitori tirozin kinaza koji mogu blokirati nekolicinu tirozin kinaznih receptora koji su posrednici u angiogenezi). Četvrti su inhibitori širokog spektra koji direktno blokiraju angiogenske puteve (slika 5).



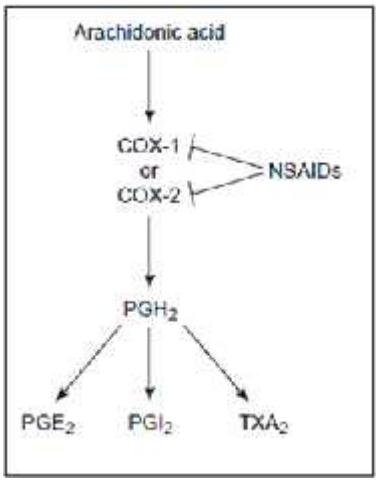
Slika 5. Angiogenski lijekovi i mehanizam djelovanja. Preuzeto i prilagođeno prema Cao *i sur*. 2009.

3.4. NSAIDs

NSAIDs (Ne-Steroidni Anti Inflamatorni lijekovi) su lijekovi koji imaju ulogu u inhibiranju enzima cikoloksigenaze (COX) čime mogu spriječiti ili odgoditi nastajanje određenih oblika raka pa ih zbog toga još i zovu COX inhibitori. Ti lijekovi se koriste kako bi spriječili upalu i trombozu, te smanjili bol i groznicu. Neki od tih lijekova su svakodnevno

dostupni kao što je to aspirin (acetilsalicilna kiselina) i ibuprofen. Ti lijekovi su moćni analgetici, antipiretici i anti-upalni lijekovi.

Enzim COX katalizira stvaranje priostaglandina (PG) iz arahidronske kiseline (slika 6). Taj enzim se pojavljuje u dva izomorfna oblika COX-1 i COX-2. Oni su veoma slični jer imaju istu unutarstaničnu regulaciju, ali se razlikuju u svojoj katalitičkoj aktivnosti. Enzim COX-1 sintetizira prostaglandine koji imaju ulogu u čuvanju stanice i on je konstitutivno eksprimira. COX-2 je, s druge stane, loš jer sintetizira prevelike količine prostaglandina. On nije u konstitutivnoj ekspresiji kod normalnih tkiva, ali se brzo inducira uz pomoć upalnih citokinina, onkogena i promotora tumora. COX-1 nalazi se u malim količinama i u zdravom i tumorskom tkivu, dok se COX-2 ne nalazi u normalnim tkivima, već samo u tumorskim. To pokazuje kako je COX-2 odgovaran za kancerogenezu. Dakle, COX-2 izaziva različite tumore, a NSAIDs su lijekovi koji to sprečavaju.



Slika 6. Shema katalitičkog djelovanja COX enzima. Preuzeto iz Shiff *i sur*. 2003.

Indukcija COX-2 se najvjerojatnije događa uz povećanu trankripciju COX-2 gena ili kroz regulaciju translacije. Ova druga mogućnost je zanimljiva jer COX-2 ima mnogo elemenata u 3' UTR regiji koja je poznata kao regija koja regulira stabilnost mRNA. Jednom kada je COX-2 induciran i kada katalizira oksidaciju arahidronske kiseline tada producira prostaglandine i visoko reaktivne koprodukte koji mogu ubrzavati proces kancerogeneze. Točan mehanizam kako ekspresija i kataliza COX-2 izaziva stvaranje tumora nije poznat. No, misli se kako je moguće da kataliza COX-2 miče zaštitni agens i proizvodi onkogeni agens. Druga mogućnost je da produkti formirani uz enzimatsku aktivnost COX-2 mijenjaju stanični rast, apoptozu, angiogenezu ili neke druge korake koji dovode do tumora. Većina studija koje

su to proučavale zaključile su da prostaglandini moduliraju većinu staničnih procesa koji upravljaju staničnim rastom i diferencijacijom. Inhibicija COX-2 uz NSAIDs selektivne za ovaj izoenzim sprečava rast tumora koji imaju veliku količinu COX-2, ali nemaju učinak na tumore kojima COX-2 nedostaje.

3.5. NANOČESTICE

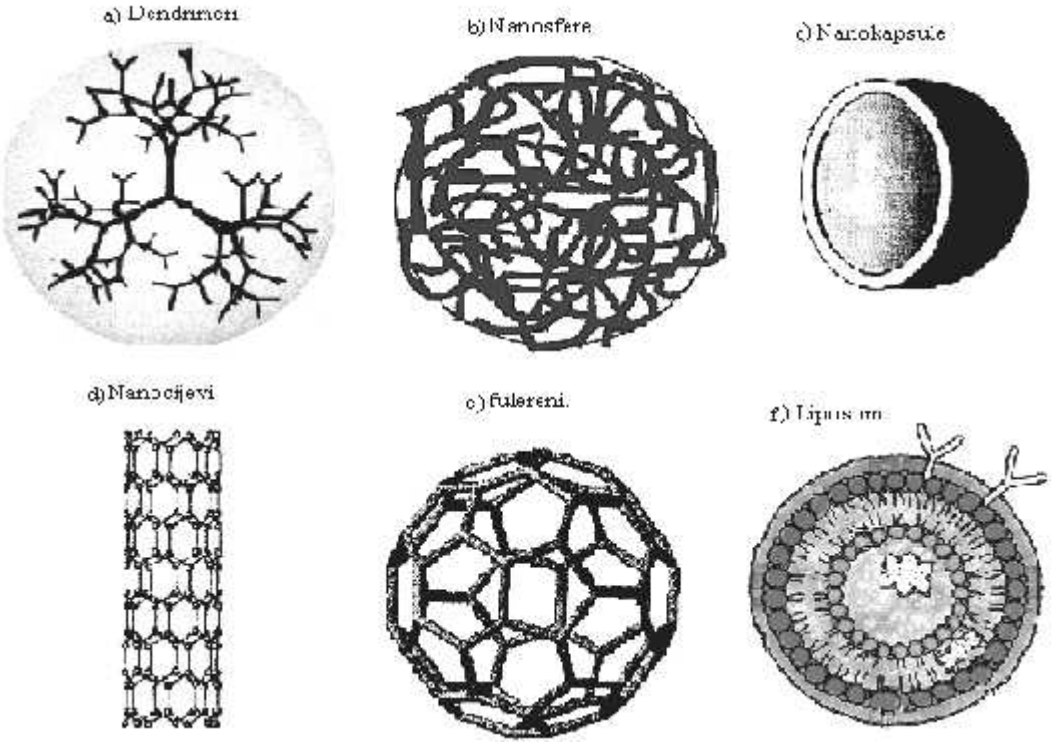
Nanočestice su konstruirani sustavi veličine 10^{-9} m. Napravljeni su sa svrhom da prolaze kroz pore na tumorskoj endotelnoj membrani krvnih žila koje su veličine 100-780 nm, dok kroz endotelne membrane normalnih krvnih žila ne mogu prolaziti jer su one široke 5-10 nm. Isto tako, nužno je da čestice budu građene tako da mogu izbjeći retikulo-endotelni sustav. Zbog toga se nanočestice pegiliraju tj. na površinu nanočestica se dodaje polietilen glikol. Takve čestice su „nevidljive“ makrofagima i nazivaju se STEALTH nanočestice. Drugi primjer je stavljanje hidrofilnih molekula na površinu nanočestica čime se odgađa aktivacija makrofaga.

Nanočestice moraju biti građene većinom od organskih molekula koje imaju anorganske elemente inkorporirane u metal koji služi kao srž, a terapeutski lijek treba biti inkorporiran u njih. Uz to, nanočestice trebaju biti biološki razgradive i ne smiju narušavati stanične procese.

Unos nanočestica u stanicu može biti aktivan ili pasivan. Pasivni unos podrazumijeva transport nanočestica kroz propusne tumorske pore na kapilarama u tumorski intersticij ili u tumorske stanice uz pasivnu difuziju. Aktivni prijenos uključuje unos lijeka na specifična mjesta bazirana na molekularnom prepoznavanju. Jedan od primjera je vezanje liganda na nanočestice tako da ligand interagira sa receptorom na ciljanoj tumorskoj stanici. Primjer aktivnog ciljanja je vezanje folata na pegilirane nanočestice koje se potom interagiraju sa folatnim receptorom na tumorskim stanicama. Čestica konjugirana s folatom ulazi endocitozom u citoplazmu stanice i tada se terapeutski lijek koji je vezan za nanočesticu otpušta i izaziva apoptozu tumorske stanice.

Dendrimeri (slika 7a) su razgranate trodimenzionalne strukture koje sliče drvetu sa multifunkcionalnom molekulom u srži. Razgranate jedinice mogu nastati polimerizacijom od centralne srži prema periferiji ili obratno. Grane sadrže molekule male veličine i velike molekularne mase. Molekule lijeka pričvrste na funkcionalne grupe na površini dendrimera ili u dendrične kanale u unutrašnjosti. Te čestice mogu primati različite prenosive molekule

bilo hidrofilne ili hidorfobne. Micele su sferične ili globularne strukture koje se formiraju kada se molekule sa hidrofilnom glavom i hidrofobnim repom približe i formiraju središnju srž u vodenom mediju. Hidrofilni krajevi molekule su u kontaktu sa vodenim okolišem i formirajući ogrtač, dok su hidrofobni krajevi u unutrašnjosti micela. Micele su korisne u dostavi lijekova netopivih u vodi koje se prenose u hidrofobnoj centralnoj srži. Nanosfere (slika 7b) su sfrične strukture građene od sustava matriksa između kojeg se nalazi pričvršćen ili omotan lijek. Nanokapsule (slika 7c) su vezikule sa centralnom šupljinom tj. srži u koji se unosi lijek. Srž je okružena sa vanjskim oklopom polimernih membrana na čiju se površinu vežu ciljani ligandi ili antitijela. Materijal u srži može biti tekuć, plinovit ili krut, a okružje srži može biti vodeno ili masno. Fulereni (slika 7e) i nanocijevi (slika 7d) su obitelj molekula izgrađenih od ugljika u obliku šuplje sfere ili elipsoidne cijevi. Lijekovi mogu biti zarobljeni unutar fulerena i cijevi, a antitijela ili ligandi vežu se na površinu za ciljanje. Liposomi (slika 7f) su zatvorene vezikule građene od lipidnog dvosloja. Klasificiraju se prema broju lipidnih dvostrukih membrana u jednolamelarne ili multilamelarne. Jednolamelarni sustavi imaju vodenastu srž za prenošenje lijekova topljivih u vodi, dok s druge strane multilamelarni sustavi prenose lijekove topive u lipidima.

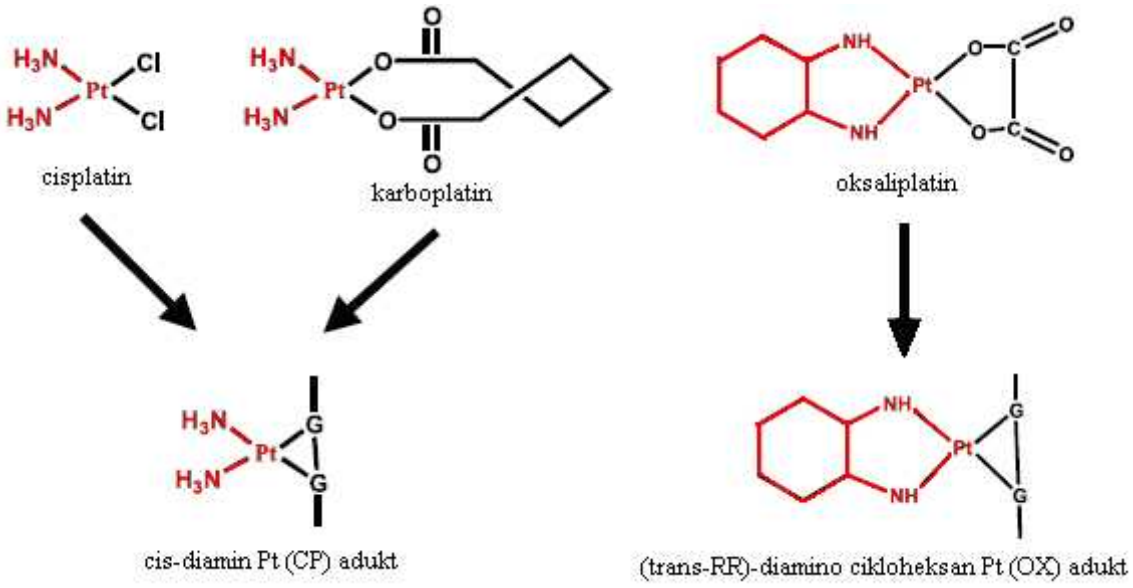


Slika 7. Različiti oblici nanočestica. Preuzeto iz Haley *i sur* 2008.

4. GENSKI LIJEKOVI

4.1. Pt LIJEKOVI (lijekovi bazirani na platini)

1960 godine Roberts je otkrio kako ulazak platine u stanice sprečava diobu stanica. To saznanje uskoro je iskorišteno za stvaranje Pt antitumorskih lijekova. Pt lijekovi su kompleksne molekule koje se vežu na molekulu DNA i dovode do njezinog savijanja zbog čega dolazi do inhibicije enzima DNA polimeraze. Danas se u kemoterapiji koriste tri Pt lijeka: cisplatin, karboplatin i oksaliplatin. Roberts i Pascoe prvi su demonstrirali Pt-DNA interakciju koja je prihvaćena za sve Pt lijekove. Dakle, svi Pt lijekovi prolaze kroz koordinaciju DNA koja dovodi do savijanja DNA strukture za 35° - 40° u velikom utoru. Kao posljedica toga javlja se inhibicija rada DNA polimeraze zbog čega dolazi do apoptoze stanica raka. Meta na molekuli DNA koja je prepoznata u Pt kompleksima je gvaninski dimer. Antitumorska aktivnost Pt lijekova zasniva se na koordinativnom vezanju lijeka sa nesparenim elektronima gvanina (slika 8).



Slika 8. Pt lijekovi i njihovo vezanje na DNA molekulu. Preuzeto i prolagođeno na temelju Wu *i sur* 2004.

Pt lijekovi imaju mnoge nedostatke. Jedan od tih nedostataka je raspadanje lijekova na monohidratne i dihidratne komplekse u prisutnosti kloridnih iona. Isto tako Pt lijekovi nisu specifični pa, osim što stvaraju Pt-DNA komplekse, stvaraju i Pt-protein komplekse. Nakon što Pt lijek uđe u stanicu on se veže sa unutarstaničnim proteinima albuminima (HSA =

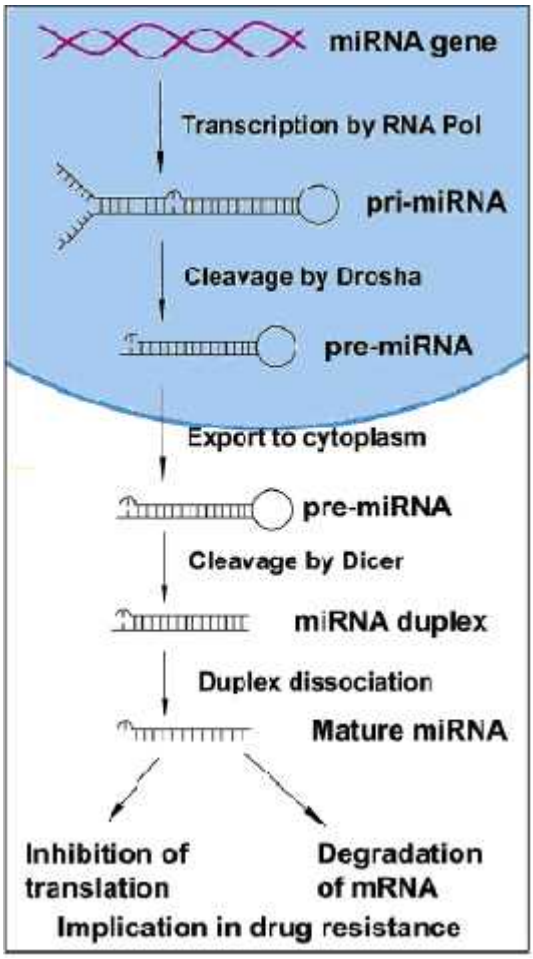
human serum albumin) i transferinima (TF) cijepajući njihove disulfidne veze. Vezanje Pt lijeka sa albuminim je u omjeru 4:1 (Pt : HSA = 4:1), a vezanje Pt lijeka sa trensferinom je u omjeru 1:1 (Pt : TF = 1:1). Ti kompleksi nemaju antitumorsku aktivnost. Pt lijekovi, osim što se vežu na proteine, vežu se i na male ligandne molekule koje u svojoj strukturi sadrže sumpor.

4.2. miRNA

Mikro RNA je grupa malih RNA molekula koje su jednolančane i sadrže 19-25 nukleotida. One ne kodiraju niti za jedan protein, ali reguliraju gensku ekspresiju uz mnogostruke mehanizme. Prva otkrivena miRNA bila je lin-4 otkrivena 1994 god. Ona je imala 22 nt i sadržavala je sekvencu komplementarnu sekvenci u 3' netranslantiranoj regiji (UTR). To nam govori kako miRNA može regulirati mRNA translaciju uz pomoć antisence RNA-RNA interakcije. Istraživanja su pokazala kako miRNA ima važnu ulogu u regulaciji mnogih fizioloških i patoloških procesa kod čovjeka i životinja. Temeljni mehanizam djelovanja miRNA sastoji se u tome da se miRNA veže nesavršeno na 3' UTR regiju ciljane mRNA zbog čega može doći ili do suzbijanja translacije ili do cijepanja ciljane mRNA. Pošto su miRNA uključene u kontrolu procesa razvoja i diferencijacije, one utječu i na razvoj i progresiju raka. Nedavno je pokazano kako miRNA reguliraju stvaranje matičnih stanica raka i reguliraju otpornost tumora na antitumorske lijekove. Isto tako pokazano je da regulacija miRNA može biti pod utjecajem kemopreventivnih agenasa što dovodi do povećane osjetljivosti na lijekove i inhibicije proliferacije tumorskih stanica.

Biogeneza miRNA započinje sa transkripcijom miRNA u jezgri uz RNA polimerazu II ili RNA polimerazu III gdje nastaje primarna miRNA (pri-miRNA) koja je duga nekoliko stotina tisuća nukleotida. Nadalje, pri-miRNA prolazi kroz nekoliko modifikacija i cijepanja. Prvo, pri-miRNA je pocijepana jezgrinim mikroprocesorskim kompleksom formiranim uz RNazu III tj Droshom i DGCR8 proteinom pri čemu dobivamo prekursor miRNA (pre-miRNA) koji sadrži 70 nukleotida. Nakon toga, pre-miRNA je transportirana u citoplazmu uz jezgrin eksportni faktor (Exportin 5) tako što se Exportin 5 veže na pre-miRNA. U citoplazmi, jedna druga RNaza III (koja se zove Dicer), u kompleksu sa dvolančanim RNA veznim proteinom TRBP cijepa pre-miRNA ukosnicu i stvara miRNA dupleks od 22 nukleotida. Zatim, posredstvom Ago2, miRNA dupleks disocira na 2 jednolančana lanca. Jedan lanac je vodeći lanac "guide stand" koji je zapravo odrasla miRNA molekula i

komplementaran je ciljanoj mRNA. Drugi lanac je prolazni lanac “passinger stand“ koji se degradira. Odrasla miRNA regulira gensku ekspresiju vezujući se na 3’ netranslantiranu regiju (3‘ UTR) ciljane mRNA izazivajući degradaciju mRNA ili inhibiciju translacije funkcionalnog proteina (slika 9).



Slika 9: Biogeneza miRNA. Preuzeto iz Sarkar *i sur*. 2010.

miRNA ima važnu ulogu u normalnim biološkim procesima i u razvoju i progresiji raka. Nadalje, pokazano je da miRNA može funkcionirati kao tumor supresorski gen ili onkogen. Neke miRNA su nađene u tumorskim stanicama i služe kao supresorski geni. Te miRNA su: let-7, miR-15, miR-16, miR-17-5p, miR-29, miR-34, miR-124a... One inhibiraju rast stanica raka. S druge stane, nađene su neke miRNA koje su onkogeni. To su: miR-21, miR-155, miR-221…Njihova ekspresija dovodi do formiranja raka. Tumorske stanice transfektirane s miRNA mogu biti ili osjetljive na lijek ili otporne na lijek. Zbog toga je ciljanje miRNA za tumorsku terapiju veoma važno jer može izazivati inhibiciju proliferacije

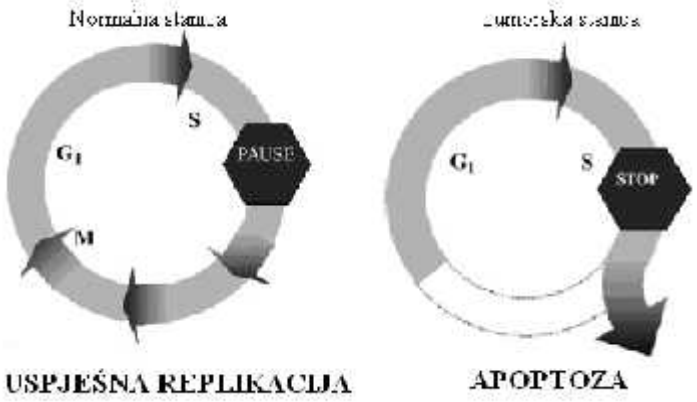
stanica raka ili povećati osjetljivost stanica raka na kemoterapiju. Strategije reguliranja ekspresije miRNA u tumorima uključuju inaktivaciju onkogenih miRNA i aktivaciju tumor supresorskih miRNA.

4.3. ßGMP

ßGMP (ß galaktozid vezujući protein) je protein veličine 15 kDa. Njegova genska mapa sadrži SIS/PDGF regiju koja je homologna 15E ljudskom kromosomu. Za tu regiju je nađeno kako prolazi kroz delecije i translokacije u brojnim tumorskim stanicama. ßGBP luče $CD4^+$ i $CD8^+$ aktivirane T stanice i neke somatske stanice.

Jedan od važnih problema kod mnogih tumora je mnoštvo genetičkih promjena koje na različite načine određuju rast, štite stanice od apoptoze i pogoduju metastazama. Molekularne analize naglašavaju da postoji između $1.3x10^{14}$ i $1.3 x10^{16}$ mutacija u proteinskoj kodirajućoj regiji gena u ljudskom tijelu, no ne dovode sve mutacije do tumora. Selektivna eliminacija tumorskih stanica iz organizma bazirana je na prirodnim molekulama koje imaju sposobnost iskorištavanja diferencijalne ovisnosti normalnih i tumorskih stanica o mehanizmima koji kontroliraju aktivaciju mitoze i programiranu staničnu smrt.

Specifičnost ßGBP-a kao selektivnog antitumorskog lijeka nije u njegovoj sposobnosti da prepoznaje stanice tumora već je u sposobnosti da inducira regulatorne promjene staničnog ciklusa u kojima normalne i tumorske stanice različito reagiraju. ßGBP negativno regulira stanični ciklus u normalnim stanicama, a u tumorskim stanicama izaziva obustavu ciklusa i apoptozu. ßGBP obustavlja rast u kasnoj S fazi i inducira apoptozu u tumorskim stanicama. S druge strane, kod normalnih stanica rast je zbog ßGBP-a obustavljen i ne uzrokuje apoptozu, već samo pauzu u staničnom ciklusu prije početka mitoze (slika 10).



Slika 10 . Utjecaj ßGMP na normalne i tumorske stanice. Preuzeto i prilagođeno na temelju Mallucci *i sur*. 2003.

5. LITERATURA

Cao Y., Zhong W., Sun Y. 2009. Improvement of antiangiogenic cancer therapy by understanding the mechanisms of angiogenic factor interplay and drug resistance. *Seminars in Cancer Biology* **19,** 338–343.

Franks M. E., Macpherson G. R., Lepper E. R.,Figg W. D., Sparreboom A. 2003. New directions in cancer research 2003: technological advances in biology, drug resistance, and molecular pharmacology. *Drug Resistance Updates* **6,** 301–312.

Granger M. P., Wright W. E., Shay J. W. 2002. Telomerase in cancer and aging. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* **41**, 29–40.

Haley B., Frenkel E. 2008. Nanoparticles for drug delivery in cancer treatment. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* **26,** 57–64.

Hande K. R. 2008. Topoisomerase II inhibitors**.** *Update on Cancer Therapeutics* **3,** 13–26.

Kraljevic S., Sedic M., Scott M., Gehrig P., Schlapbach R., Pavelic K. 2006. Casting light on molecular events underlying anti-cancer drug treatment: What can be seen from the proteomics point of view? *Cancer Treatment Reviews* **32**, 619– 629.

Larsen A. K., Escargueil A. E., Skladanowski A. 2003. Catalytic topoisomerase II inhibitors in cancer therapy. *Pharmacology & Therapeutics* **99,** 167– 181.

Mallucci L., Wells V., Danikas A.,Davies D. 2003. Turning cell cycle controller genes into cancer drugs A role for an antiproliferative cytokine (ßGBP). *Biochemical Pharmacology* **66,** 1563–1569.

Michalke B. 2010. Platinum speciation used for elucidating activation or inhibition of Pt-containing anti-cancer drugs. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*

Nelson, D.L., Cox M.M. : Lehninger Principles of biochemistry, 5 th ed., W.H. Freeman & Company, New York 2008.

Prescott S. M., Fitzpatrick F.A. 2000. Cyclooxygenase-2 and carcinogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta* **1470,** M69-M78.

Saretzki G. 2003. Telomerase inhibition as cancer therapy. *Cancer Letters* **194,** 209–219.

Sarkar F. H., Li Y., Wang Z., Kong D., Ali S. 2010. Implication of microRNAs in drug resistance for designing novel cancer therapy. *Drug Resistance Updates*

Shiff S. J., Shivaprasad P.,Santini D. L. 2003. Cyclooxygenase inhibitors: drugs for cancer prevention . *Current Opinion in Pharmacology* **3**, 352–361.

Štraus B. 1995. Genomske promjene i karcinogeneza. *Biochemia Medica* **1**

Wu Y., Pradhan P., Havener J., Boysen G.,Swenberg J. A., Campbell S. L., Chaney S. G. 2004. NMR Solution Structure of an Oxaliplatin 1,2-d(GG) Intrastrand Cross-link in a DNA Dodecamer Duplex. *J. Mol. Biol*. **341**, 1251–1269.

www.wikipedija.com

6. SAŽETAK

Tumorske stanice su osjetljivije od normalnih stanica na kemoterapijske lijekove. Cilj lijekova koji se koriste u kemoterapiji tumora je izazivanje apoptoze tumorskih stanica. U ovom radu izložen je pregled antitumorskih lijekova. Postoje dvije vrste antitumorskih lijekova: pametni lijekovi i genski lijekovi. Pametni lijekovi usmjereni su na specifične signalne puteve odgovorne za rast tumora te djeluju na specifične antigene, faktore rasta, receptore i ostale molekule u signalnim putevima od interesa. S druge strane, genski lijekovi su usmjereni na ciljanje molekule DNA.

7. SUMMARY

Cancer cells are more vulnerable than normal cells to the effect of chemotherapy agents. Agents in cancer therapies are aimed at inducing apoptosis. In this work, a short review of the most important anticancer drugs, has been presented. There are two types of anticancer drugs: smart drugs and gene drugs. So-called “smart drugs” are directed towards specific signalling pathways responsible for tumor growth and target specific antigen, growth factor, receptor or other molecule in the signalling pathway of interest. On the other hand, so-called ‘‘gene drugs’’ are directed towards targeting the DNA molecule.