

# Mehanizmi otpornosti stanica tumora na kemoterapeutike

---

Hrvat, Antonio

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:166844>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET

BIOLOŠKI ODSJEK

MEHANIZMI OTPORNOSTI STANICA TUMORA NA KEMOTERAPEUTIKE  
RESISTANCE MECHANISMS OF TUMOR CELLS AGAINST CHEMOTHERAPEUTICS

SEMINARSKI RAD

Antonio Hrvat

Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular biology)

Mentor: prof. dr. sc. Nada Oršolić

Zagreb, 2017.

## Sadržaj

1. Uvod .....	1
2. Tumori i tumorske stanice .....	2
3. Kemoterapeutici i kemoterapija .....	4
3.1. Citotoksični antineoplastici .....	5
3.2. Specifični antineoplastici .....	7
4. Karakteristični mehanizmi eliminacije i rezistencije na kemoterapeutike .....	9
4.1. Farmakokinetički čimbenici .....	9
4.2. Citokinetički čimbenici .....	9
4.3. Biokemijski čimbenici .....	11
5. Novi pristupi u dokidanju tumorske rezistencije na kemoterapeutike .....	14
6. Literatura .....	17
7. Sažetak .....	20
8. Summary .....	21

## 1. UVOD

Medicinskim i farmaceutskim postignućima 19. i 20. stoljeća uvelike je produljen prosječni životni vijek osobe te je došlo do intenzivne eliminacije raznih uzroka smrti poput malnutricije, fizičkih ozljeda te infekcija virusima i bakterijama. Kao rezultat te eliminacije i produljenog života uočen je novi statistički trend koji uz kardiovaskularne bolesti postavlja rak kao drugi vodeći uzrok smrti na svijetu. Globalno gledano 1 u 6 smrti su prouzrokovane rakom te godišnje otprilike umre 9 milijuna ljudi ([www.who.int](http://www.who.int)). Također prema sadašnjim projekcijama 39.6% ljudi tijekom života će biti dijagnosticiran rak ([www.cancer.gov](http://www.cancer.gov)). Velika pojavnost je dovela do potrebe razvitka dijagnostičke, farmaceutske i biotehnoške industrije usmjerne prema borbi protiv tumorskih oboljenja. Pri liječenju tih bolesti najčešće korištena sredstva su kemoterapeutici čija primarna funkcija je uništavanje tumorskih stanica kroz razne mehanizme kao što su primjerice blokiranje topoizomeraza, polimeraza, kinaza te kroz induciranje apoptoze ili stanične lize. Vrlo česte manjkavosti kemoterapije očituju se u činjenici da ne pomaže u svim slučajevima, a i kada pomaže neće uvijek dovesti do totalnog uništenja tumora. Također bitno je napomenuti postojanje raznih anatomskih zapreka kao što je krvomoždana barijera koje sprječavaju transport kemoterapeutika do mozga. Najčešći uzroci neučinkovitosti kemoterapeutskog režima je upravo razvijanje otpornosti kod tumorskih stanica kroz hiperprodukciju p-glikoproteina koje djeluju tako da ispumpavaju kemoterapeutik van stanice. Još jedan mehanizam je amplifikacija gena koja dovodi do hiperprodukcije nekog proteina te osigurava nemogućnost kemoterapeutika da inhibira ciljani protein ili smanji njegovu ekspresiju. Sama rezistencija također može proizlaziti iz nagomilanih mutacija u genu za određeni protein koje dovode do smanjenog afiniteta antitumorskog spoja za njega. Upravo zbog takvih mehanizama veliki dio eksperimentalnih onkoloških obrada se odnosi na dokidanje otpornosti takvih rezistentnih stanica.

## 2. TUMORI I TUMORSKE STANICE

Neoplazma ili novotvorina je tkivna promjena nastala abnormalnim procesima rasta koja može i ne mora formirati masu (Cooper, 1992). Prema Medunarodnoj klasifikaciji bolesti i srodnih zdravstvenih problema (engl. *International Statistical Classification of Diseases and Related Health*, ICD-10) od Svjetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organisation*) neoplazme se dijele na četiri glavne skupine: benigne neoplazme, *in situ* neoplazme, maligne neoplazme te neoplazme nepoznatog ili neizvjesnog ponašanja (<http://apps.who.int/classifications/icd10/>).

Benigne neoplazme odnosno benigni tumori su masa stanica kojoj manjka sposobnost invazivnosti okolnog tkiva i metastaziranja što su karakteristike potrebne da bi se tumor definirao kao zloćudan (kancerozan). Njihov rast je usporen te tumorske stanice su dobro diferencirane. Većina takvih tumora nisu opasni po život, ali neki posjeduju potencijal da postanu maligni ili u slučaju da dođe do prevelikog rasta da dovode do kompresijskih oštećenja okolnog tkiva (<http://apps.who.int/classifications/icd10/>)









Karcinomi *in situ* po nekim autorima se klasificira kao rak, dok ga drugi navode pod prekancerozna stanja ili neinvazivne forme raka. Definira se kao lokalizirani fenomen bez potencijala za metastaziranje dok ne dođe do progresije u rak. Sastoji se od nakupine displastičnih stanica koje prolaze kroz procese prekomjerne proliferacije i zamjene originalnih stanica tkiva bez probijanja bazalne membrane i daljnjeg dubljeg širenja. Velik broj *in situ* neoplazmi je poznato po visokoj vjerojatnosti progresije u rak te zbog toga je vrlo često nužno odstranjivanje (<http://apps.who.int/classifications/icd10/>).

Rak odnosno maligne neoplazme su skupina bolesti povezanih s abnormalnim staničnim rastom i visokim potencijalom invazivnosti i metastaziranja odnosno formiranja satelitnih (popratnih) metastatskih tumora. Malignom progresijom normalne i prekancerozne stanice mogu postati stanice raka jednom kada posjeduju sve nužna karakteristična svojstva: angiogeneza, invazivnost, izbjegavanje apoptoze, nekontrolirani rast i dioba, neosjetljivost na signale mitotske inhibicije te biološka besmrtnost (<http://apps.who.int/classifications/icd10/>).

Pod neoplazmama neizvjesnog ponašanja spadaju lezije čije ponašanje nije moguće predvidjeti u trenutku kada su otkrivene. Najčešći razlog tome je jer ne postoje čvrsti histološki indikatori o benignosti odnosno malignosti takvih stanica i nakupina tkiva. Takva pojava je karakteristična za tumore koji prolaze kroz malignu transformaciju u trenutku

biopsije te zbog toga potrebno je kontinuirano praćenje radi uspostave dijagnoze (<http://apps.who.int/classifications/icd10/>).

Da bi došlo do formiranja neoplazije stanice moraju proći kroz razne transformacijske procese poput metaplazije ili displazije prouzrokovane oštećenjem DNA. Ti procesi ne moraju nužno voditi prema neoplaziji, njoj prethodi akumuliranje velikog broja genetskih promjena kroz dugi niz godina (Reece i sur., 2011). Kroz taj vremenski period dolazi do promjene biološkog ponašanja i morfologije zdravih normalnih stanica do stanica raka. Takve stanice posjeduju karakteristična histološka obilježja vezana uz njihov mitotski potencijal, varijacije u veličini i obliku jezgre koja je najčešće velika i nepravilnog oblika, gubitku stanične specijalizacije odnosno dediferencijacije te uništenje normalnog tkivnog ustroja (Slika 1.) (Baba i sur., 2007).

Normalno	Tumorske stanice	
		<b>Velike, raznolikog oblika jezgre</b>
		<b>Velik broj mitotskih stanica, neorganizirani poredak</b>
		<b>Varijacije u veličini i obliku</b>
		<b>Gubitak normalne funkcije</b>

Slika 1. Karakteristične morfološke razlike normalnih i tumorskih stanica (preuzeto i prilagođeno od: [www.phweb.bumc.bu.edu](http://www.phweb.bumc.bu.edu))

Tumorske stanice mogu se klasificirati prema svojoj diferenciranosti i staničnom odnosno tkivnom tipu iz kojega potječu te ih prema tome dijelimo na: karcinome, najčešće epitelnog porijekla, leukemije koje rezultiraju iz hematopoetskih tkiva poput koštane srži, limfoma i mijeloma imunosnog porijekla, sarkoma koji nastaju iz vezivnog tkiva, tumorskih stanica mozga i leđne moždine te mezoteliomi koji nastaju iz mezotela odnosno ovojnice raznih tjelesnih šupljina (<https://www.crs-src.ca/>).

### 3. KEMOTERAPEUTICI I KEMOTERAPIJA

Pojam kemoterapeutici se najčešće rabi za definiranje svih tvari i medikamenata koji su nespecifični unutarstanični toksini čija je svrha ometanje i inhibicija mitoze. Danas takve tvari se svrstavaju pod citostatike ili citotoksične antineoplastike, dok termin 'kemoterapeutici' može se koristiti za tvari koje sudjeluju u borbi protiv mikroba, komenzala probavnog sustava te specifične antineoplastike koji ne moraju nužno imati citostatični učinak.

Kemoterapeutski spojevi se mogu koristiti pojedinačno iako najčešća uporaba jest u kombinaciji s više različitih spojeva koji skupa tvore kemoterapijsku obradu. Priroda takve obrade ovisno o tipu raka, diferenciranost te stadiju može biti kurativna ili palijativna (Airley, 2009).

Najčešći način davanja kemoterapeutika je intravenozni i oralni iako u posebnim slučajevima kao što je rak centralnog živčanog sustava moguć je intratekalni način unosa kemoterapeutika u spinalni kanal ili subarahnoidni prostor. Također, primjenjuje se i izolirana perfuzija organa; dostava visokih doza kemoterapije na određeno mjesto bez sistemskog unosa s ciljem minimaliziranja štete (Corrie i sur., 2008; Moreno-Ramirez i sur., 2010).

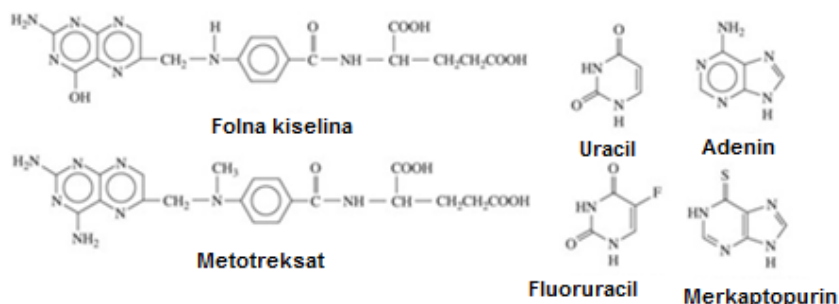
Prema načinu unosa i primjeni različitih kemoterapeutika i samoj svrsi obrade razlikuje se velik broj strategija koji se koriste u današnjoj medicinskoj onkologiji. Neke od tih strategija bit će kurativne s naglaskom na direktnu obradu raka kemoterapeuticima kao što je to slučaj kod indukcijske kemoterapije. U nekim slučajevima kemoterapeutici se koriste kombinirano s resekcijama, radioterapijom i induciranjem hipertermije što se naziva kombinirano liječenje. Kod uspješnog liječenja tijekom remisije da bi se produljilo njeno trajanje te povećale šanse preživljavanja daje se konsolidacijska strategija koju čini isti kemoterapeutik koji je izazvao remisiju. Kao alternativa konsolidacijskoj strategiji postoji intenzifikacijska u kojoj se koristi drugi kemoterapijski spoj od onog koji je bio korišten u indukcijskoj kemoterapiji. U velikom broju slučajeva pacijenti u remisiji moraju biti obrađeni niskodoznom kemoterapijom održavanja u trajanju od 12-18 mjeseci. Nadalje, neoadjuvantna kemoterapija i adjuvantna kemoterapija se primjenjuju prije lokalnih kirurških zahvata odnosno nakon, a njihov cilj je smanjiti primarni tumor ili uništiti potencijalne mikrometastaze. U slučaju terminalnih malignih bolesti koristi se palijativna kemoterapija radi produljenja života i povećanja njegove kvalitete te smanjenja kompresijske boli (Airley, 2009).

### 3.1 Citotoksični antineoplastici

Citotoksični antineoplastici su spojevi čija citotoksičnost je produkt međudjelovanja sa staničnim ciklusom stanica raka. Kao rezultat tog ometanja i izazivanja staničnog stresa i oštećenja može se potaknuti programirana stanična smrt odnosno apoptoza. Citotoksični kemoterapeutici djeluju ne nužno samo na stanice raka nego i na normalne zdrave stanice visokog mitotskog potencijala kao što su primjerice, stanice folikula dlake, sluznica probavnog sustava te koštane srži; što dovodi do karakterističnih nuspojava kemoterapije kao što je mijelo- i imunosupresija, alopecija i mukozitis. Vrlo često takvi spojevi zbog svojeg učinka na leukocite koriste se za modulaciju pretjeranog imunskog odgovora karakterističnog za autoimune bolesti poput sistemskog lupusa eritematozusa, multiple skleroze, reumatoidnog artritisa i slično (Ben-Ari, 2004).

Ovakve spojeve moguće je podijeliti u velik broj skupina prema svojem djelovanju te prema tome ih najčešće dijelimo na alkilirajuće spojeve, antimetabolite, anti-mikrotubulne spojeve te inhibitore topoizomeraza (Corrie i sur., 2008).

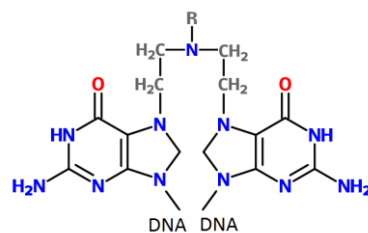
Grupa molekula koje će djelovati ometajuće na enzimatske procese sinteze DNA i RNA molekula se zovu antimetaboliti. Mehanizam njihovog djelovanja proizlazi iz same njihove strukture odnosno sličnosti s uobičajenim metabolitima i prekursorskim molekulama koje su uključene u transformacijske procese sinteze nukleotida (Slika 2.) (Averdano i sur., 2015). Djelovanje se najčešće očituje u visokom afinitetu vezanja za enzime koji sudjeluju u replikaciji DNA ili sintezi nukleotida te ih tako inhibiraju. Također je moguće i inkorporiranje takvih nukleotidnih analoga u samu DNA što djeluje destabilizirajuće na njenu strukturu te daljnju replikaciju. Antimetabolite je najlakše podijeliti prema strukturi i funkciji u nekoliko osnovnih grupa: purinski i pirimidinski (nukleotidni) analozi, nukleozidni analozi, inhibitori reverzne transkriptaze te antifolati (analozi čestog koenzima) (Woolley, 1987).



Slika 2. Prikaz strukturalne sličnosti antimetabolita i metabolita (preuzeto i prilagođeno od: <https://pocketdentistry.com>)



Alkilirajući spojevi su skupina najstarijih kemoterapeutika deriviranih iz iperita 1950-ih. Odlikuju se sposobnošću alkilacije odnosno adicije alkilne skupine ( $C_nH_{2n+1}$ ) na DNA, RNA te proteine iako njihov antitumorski učinak je rezultat primarno napada na DNA molekulu. Kao rezultat tog adicijskog napada dolazi do stvaranja unutarlančanih i međulančanih mostova i poveznica koji tijekom popravka ili replikacije takve promjenjene DNA mogu dovesti do njenog fragmentiranja, odnosno apoptoze (Slika 3.). Zbog svojeg nespecifičnog učinka i djelovanja njihov biološki učinak je neovisan o stadiju staničnog ciklusa te djeluju u bilo kojem trenutku. Mogu se podijeliti na nekoliko podskupina kao što su dušikovi iperiti, derivati nitrozoureje, alkil sulfonati te spojevi koji sadrže platinu (Corrie i sur., 2008).



Slika 3. Izgled interkalirane molekule DNA (preuzeto i prilagođeno od: <https://wiki.org/>)

Diobeno vreteno te strukture koje ga sačinjavaju, mikrotubuli će biti meta anti-mikrotubulnih spojeva koji su vrlo često alkaloidi i slične biljne aktivne tvari. Mikrotubuli su dinamične strukture izgrađene od složenih molekula  $\alpha$ -tubulina i  $\beta$ -tubulina koje si nalaze u konstantnom stanju depolimerizacije i polimerizacije što omogućava njihovu funkciju koordiniranja stanične diobe, formiranja stanične ploče i sudjelovanju u pravilnoj raspodjeli genetskog materijala (Walczak i sur., 2008). Inhibiranjem tih promjena u mikrotubularnim strukturama dolazi do greški i sprječavanja stanične diobe te kao rezultat toga dolazi do apoptoze. Takvi spojevi se dijele prema rodu biljke iz koje su izolirani, a i prema mehanizmu djelovanja na dva tipa. Vinca alkaloidi su skupina anti-mikrotubulina izoliranih iz biljaka porodice Vinca te djeluju tako što sprječavaju polimerizaciju mikrotubula. Taksani su prvotno otkriveni u biljkama roda *Taxus* poput tise, te je riječ o diterpenima koji zbog svojih kemijskih svojstava su slabo topovi u vodenom mediju što otežava njihovu primjenu. Djeluju tako što sprječavaju depolimerizaciju mikrotubula (Malhotra i sur., 2003; Yue i sur., 2010).

Topoizomerazni inhibitori su spojevi koji utječu na enzimatsku aktivnost topoizomeraze I ili topoizomeraze II te tako onemogućuju rješavanje topološkog stresa pri procesima replikacije i transkripcije. Kao rezultat toga dolazi do nemogućnosti pravilnog odmatanja DNA, dvostrukih i jednostrukih lomova te apoptoze (Nitiss, 2009).

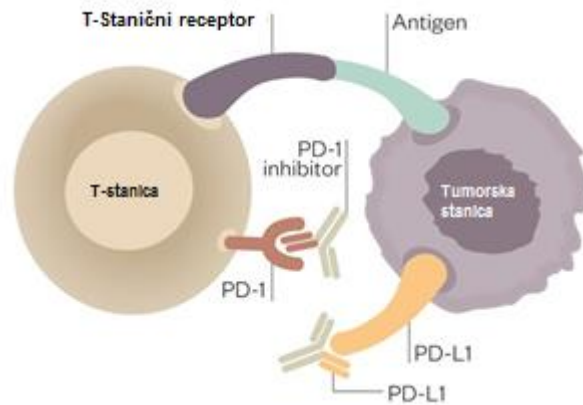
### 3.2 *Specifični antineoplastici*

Specifični antineoplastici su glavno oruđe u molekularnoj ciljanoj terapiji koja predstavlja novu paradigmu i pristup molekularne medicine i pri obradi malignih oboljenja. Za razliku od klasične kemoterapije koja cilja općenito iznimno proliferativne stanice, ciljanoj terapiji specifično napada odnosno izaziva međudjelovanje s određenim molekulama bitnih za karcinogenezu ili daljnji razvitak i progresiju tumora. Kao rezultat toga ciljanoj terapiji je značajno učinkovitija te uzrokuje izrazito manju štetu prema normalnim stanicama. Najuspješniji specifični antineoplastici i terapije će za metu imati jedan tumorski enzim ili protein koji nosi mutaciju ili neku genomsku promjenu koja ga čini specifičnim samo za tumorsko tkivo te se neće moći pronaći nigdje u ostatku tijela (<https://www.cancer.gov>).

Glava podjela takvih specifičnih spojeva je na male molekule i monoklonalna protutijela. Sintagma male molekule u farmakološkom pogledu odnosi se na organske tvari molekularne mase niže od 900 Daltona koje se vežu za specifične biološke mete poput proteina ili nukleinskih kiselina te uzrokuju promjene u funkciji i aktivnosti ili staničnoj signalizaciji. Po svojoj kemijskoj građi mogu biti prirodne ili sintetske molekule koje spadaju pod lipide, terpene, glikozide, alkaloidne, fenole te razne neribosomalne proteine te također mogu biti konjugirane za druge male molekule ili za protutijela. Takve molekule u onkofarmakologiji se mogu svrstati u nekoliko različitih skupina prema svojoj specifičnosti na: tirozin kinazne inhibitore, mTOR inhibitore (mehanističke mete rapamicina), retinoide, imunomodulatorne spojeve te histon deacetilazne inhibitore (Sundberg i sur., 2014).

Terapija monoklonalnim protutijelima je forma imunoterapije koja koristi monoklonalna protutijela specifično proizvedena na određeni protein, enzim ili tip stanice pri čemu uzrokuju stimulaciju pacijentovog imunskog sustava. Modalnost odnosno sposobnost proizvodnje protutijela na praktički bilo koji stanični epitop čini imunoterapiju primjenjivom ne samo za liječenje raka nego i Alzheimerove bolesti, autoimunih bolesti te do sada neizlječivih virusnih infekcija poput HIV-a, Ebole i slično (Rang, 2003). Proizvodnja tih monoklonalnih protutijela najčešće se dobiva iz stanične kulture hibridoma tehnikom koja podrazumijeva fuzioniranje mijelomskih stanica s mišjim stanicama slezene te uzgajanje na mediju selektivnom za hibride. Proizvedena protutijela se pročišćavaju od ostatka uzorka te se mogu po potrebi hibridizirati za razne toksine, citokine, radionuklide, prolijekove, liposome i neke tipove stanica te na taj način postoje različiti tipovi imunoterapija (Carter, 2010). Najčešće ciljane molekule takvih protutijela su CTLA4, CD20, CD33, CD52, VEGF, EGFR, RANKL.

U zadnje vrijeme istražuje se uporaba antitijela koja se vežu na molekule uključene u T-staničnu regulaciju sa svrhom inaktivacije inhibitornih regulatornih staničnih puteva poput PD-1 i PD-L1 (Slika 4.) (Guha, 2014). Monoklonalna antitijela koja ciljaju imunološke kontrolne točke (engl. *immune checkpoints*) djeluju kroz inhibiciju koinhibitornih imunskih puteva ili aktivaciju kostimulacijskih puteva.



Slika 4. Shematski prikaz mehanizma djelovanja „checkpoint“ imunoterapije (preuzeto i prilagođeno od: <http://labiotech.eu/>)

## **4. KARAKTERISTIČNI MEHANIZMI ELIMINACIJE I REZISTENCIJE NA KEMOTERAPEUTIKE**

Antineoplastična rezistencija odnosno otpornost na kemoterapeutike pojednostavljeno je rezistencija neoplastičnih stanica na više različitih spojeva što im daje sposobnost preživljavanja i izrazitu sposobnost proliferacije unatoč kemoterapijskom režimu. Tumorska rezistencija je produkt više različitih čimbenika koji doprinose otpornosti. Glavni među njima su farmakokinetički i citokinetički koji nisu stalni te su svojstvo cijelog tumora odnosno nakupine stanica te djelovanjem općenito na tumor su promjenjivi. Također postoje još biokemijski koji su u pravilu stalno svojstvo pojedinih tumorskih stanica, njihove genske i epigenetske ekspresije, raznih metaboličkih i signalnih puteva te izmjenjenih proteina i enzima. Današnjim metodama moguć je utjecaj te dokidanja tih biokemijskih čimbenika koji vode rezistenciji.

### *4.1 Farmakokinetički čimbenici*

Farmakokinetički čimbenici usko su povezani uz arhitekturu samog tumora te sačinjavaju velik dio cjelokupne rezistencije. Kako tumorske stanice proliferiraju njihova opskrba krvlju često je marginalna. Krvne kapilare nastale angiogenezom vrlo često su nepravilno i jako loše formirane te sinusoidnog oblika što uzrokuje jako usporeni protok krvi. Smanjeni protok krvi dovodi smanjene opskrbe kisikom, nutrijentima te do gomilanja raznih toksičnih metabolitskih produkata. Sve ove stavke vode do smrti stanica te formiranja nekrotičnih tkivnih masa koje mogu uzrokovati komplikacije pri liječenju. Nekrotično tkivo u kombinaciji s manjkavom i slabom krvnom opskrbom vodi do slabog unosa dostatnih količina kemoterapeutika te dolazi do smanjenja učinkovitosti obrade. Farmakokinetička svojstva također su povezana sa absorpcijom, biotransformacijom te eliminacijom tih citotoksičnih tvari koja ovise od pacijenta, dobi i slično (Coppoc, 1985; Garattini, 2007).

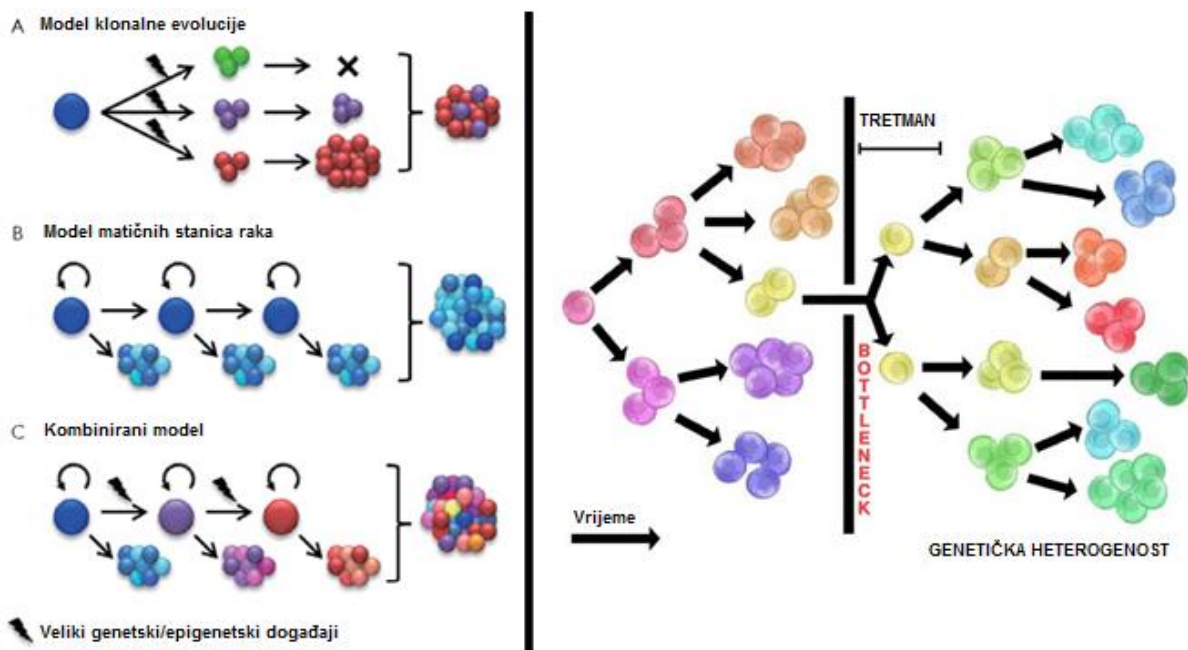
### *4.2 Citokinetički čimbenici*

Citokinetički čimbenici odnose se na ključne čimbenike poput stope brzine rasta i frakcije mitotskih stanica koja je kod rezonovnijih tumora na kemoterapeutike relativno visoka. Većina lijekova su toksični samo za stanice koje prolaze kroz različite faze staničnog ciklusa i to samo u određenim fazama. Iz toga se može zaključiti da mitotski inaktivne stanice odnosno one koje su u G<sub>0</sub>-fazi ili nekoj fazi staničnog ciklusa za koju nisu specifični kemoterapeutici vrlo vjerojatno izbjegavaju veću štetu. Kao rezultat toga određene klase kemoterapeutika ne mogu se dozirati u visokim količinama te očekivati njihov kumulativni

učinak, tek u nižim dozama kroz duži period moguća je učinkovita obrada tumora s heterogenim staničnim ciklusom (Coppoc, 1985).

Tumorska heterogenost nije nužno vezana samo uz stanični ciklus već je riječ o pojmu koji opisuje morfološku i fenotipsku raznolikost koje mogu pokazati tumorske stanice što vodi do različite ekspresije gena, metabolizam, proliferacije te metastatskog potencijala. Riječ je o pojavi koja nastaje kao rezultat nesavršene DNA replikacije te epigenomske i genomske nestabilnosti koja kroz vrijeme dovodi do nastanka raznolike populacije stanica tumora, što čini obradu tumora izazovnom te zahtjeva primjene inovativnih adaptivnih terapija. Dva modela koja opisuju heterogenost tumorskih stanica se zovu model matičnih stanica raka te model klonalne evolucije. Model matičnih stanica raka navodi da unutar populacije tumorskih stanica postoji mali set stanica sa sposobnosti samoobnavljanja te diferencijacije u tumorske i netumorske stanice. Heterogenost tumorskih stanica proizlazi iz epigenetskih razlika, ali i također klonalne evolucije tih matičnih stanica. Po modelu klonalne evolucije tumori nastaju iz pojedinačne mutirane stanice koja akumulira dodatne mutacije te dolazi do nastanka subpopulacija koje se nastavljaju dijeliti i međusobno razilaziti. Ta evolucija i razilaženje mogu nastati kroz dva procesa, linearnu ekspanziju te razgranatu ekspanziju. Linearna ekspanzija nastaje akumulacijom greški na tumor supresorskim genima, enzimima popravka DNA dok razgranata ekspanzija dovodi do nastanka više različitih subklonalnih populacija kroz divergentne mehanizme povećane genomske nestabilnosti nakon svake nove generacije. Oba modela nisu međusobno isključiva te postoje različiti kombinirani modeli (Slika 5.) (Shackleton i sur., 2009).

U skladu s heterogenosti u tumoru mogu se razlučiti različiti tipovi stanica prema senzitivnosti: senzitivne mitotski aktivne stanice, mirujuće privremeno rezistentne stanice, diferencirane 'mrtve' stanice koje nisu rezistentne, problematične ali pridonose tumorskoj masi te rezistentne mirujuće i mitotske stanice. Unos kemoterapeutika vodi do inicijalnog smanjenja tumora kao rezultat odumiranja nerezistentnih stanica. Heterogena tumorska populacija doživljava učinak uskog grla (engl. *bottleneck effect*) gdje nekada preživljava malen udio rezistentnih stanica koje kroz proces razgranate ekspanzije repopuliraju tumor te pridonose heterogenosti te rezistenciji na inicijalnu terapiju; repopulirani tumori vraćaju se mnogo agresivnije. Prema Skipperu i Schabelu (1984) omjer trajno rezistentnih stanica (TR) te senzitivnih stanica (T0) je viši kod sporo rastućih tumora nego brzo rastućih iste veličine. U slučaju da TR:T0 omjer postane veći od 1 zbog umjetne selekcije kemoterapeuticima dolazi do rezistencije na takav režim (Coppoc, 1985).



Slika 5. Shematski prikaz različitih modela heterogenosti te „bottleneck“ učinak tijekom kemoterapeutskih režima (preuzeto i prilagođeno od: <http://web.stanford.edu/>)

#### 4.3 Biokemijski čimbenici

Biokemijski mehanizmi kemoterapeutske rezistencije u nekim pogledima su vrlo slični onima bakterijske rezistencije na antibiotike. U velikom broju slučajeva riječ je o produktu izmijenjenog membranskog transporta, enzimatske deaktivacije kemoterapeutika, promjeni u popravku DNA te promjenjenim i oštećenim signalnim i apoptotičkim staničnim putevima. Takvi mehanizmi nastaju kao produkti epigenomski modifikacija te genomskih poput mutacije, amplifikacije i delecije određenih gena.

Primjerice promjenjeni transport će uzrokovati rezistenciju samo na kemoterapeutike čiji utok u stanicu je vezan uz transportne proteine nosače ili transmembranske kanale. On može nastati kao rezultat smanjenog unosa ksenobiotika kao u slučaju metotreksata, smanjenog unosa nukleozida kod citarabina te povećanog istoka iz stanice karakterističnog za doksorubicin. Smanjeni unos je prouzrokovan smanjenom ekspresijom ili mutacijama u proteinima nosačima kao što je primjerice slučaj kod kolinskog i leucinskog transportnog sustava, manjkavost u određenom sustavu dovodi do rezistencije samo na točno određene kemoterapeutike. Velike probleme u transportu kemoterapeutika proizvode posebni fosforilizirani i glikolizirani membranski transporteri poput p-glikoproteina (CD243) kodirani genom MDR1 (engl. *multidrug resistance*) koji spadaju u skupinu ABC transportera. Njegova funkcija je uz trošak ATP-a ispumpavanje raznih ksenobiotika izvan stanice čime se smanjuje

potencijalna šteta. Vrlo niska specifičnost omogućava učinkovito izbacivanje velikog broja strukturalno raznolikih molekula. Ekspresija MDR1 gena najčešće se povećava pri doticaju s raznim toksičnim tvarima, ali također pri uporabi antibiotika poput rifampicina, kemoterapeutika i drugih lijekova. Povećana ekspresija vodi do subletalnih koncentracija kemoterapeutika. MDR1 je aktiviran preko visokih razina IL-6 ili putem NF- $\kappa$ B koji može postati konstitutivno aktivan zbog mutacije u njegovom ili inhibitornom I $\kappa$ B genu. Inhibicija bilo NF- $\kappa$ B ili MDR1 vodi prema boljem odgovoru na kemoterapeutike (Bentires-Alj i sur., 2003).

Poteškoće u aktivnosti kemoterapeutika mogu nastati također zbog enzimatske neutralizacije i manjkave metabolizacije u slučaju prolijekova odnosno inertnih oblika koje je nužno prethodno aktivirati. To se najčešće ostvaruje kroz prekomjernu ekspresiju metaboličkih enzima koji prevode antineoplastike natrag u inaktivne forme ili stvaraju konjugate koje je potom lakše eliminirati iz stanice. Primjerice povećana ekspresija glutaciona vodi do lakše inaktivacije spojeva kroz vezanje za njih te olakšavanje izlučenja iz sustava. U nekim slučajevima delecija gena ili smanjena ekspresija također mogu voditi prema rezistenciji jer se onemogućava aktivacija prolijeka kao u slučaju uporabe arabinozida, gdje je nužna ekspresija deoksicitidin kinaze koja ga prijevodi u citozin arabinozid trifosfat. Smanjena enzimatska aktivnost citokroma P-450 igra veliku ulogu kod nastanka rezistencije na doksorubicin zbog smanjene stope formacije toksičnih semikinona (Coppoc, 1985; Luqmani, 2005).

Povremeno pri ciljanim terapijama sama molekula meta može proći kroz velik broj promjena što ju čini neprepoznatljivom za spoj ili može doći do velikog pada u njenoj ekspresiji što ju ne čini više učinkovitim metom. To je slučaj kod tubulina i topoizomeraza čije mutacije dovode do prestanka vezanja kemoterapeutika te vodi do rezistencije. Sličan primjer je u slučaju pada ili kompletnog prestanka ekspresije estrogenskog i progesteronskog receptora u slučaju anti-estrogenske obrade raka dojke poput tamoksifena. Drugi tip terapeutika raka dojke cilja receptor humanog epidermalnog faktora (HER2) čija karakteristična mutacija EGFR-T920M nalazi se u 50% pacijenata s rakom pluća (Housman i sur., 2014).

Jedan od mehanizama je i poboljšana sposobnost reparacije DNA koja igra ključnu ulogu u umanjivanju štete prouzrokovane antineoplastcima. Spojevi poput cisplatine i doksorubicina interkaliraju u DNA ili dovode do nastanka križnih (engl. *cross-link*) veza među lancima što uzrokuje mutacije, oštećenje te apoptozu. Nastala šteta se uklanja

povećanom ekspresijom i aktivnošću ligaza u slučaju pucanja lanaca DNA te ERCC-1 (DNA ekscizijski reparacijski protein) koji uklanja kemoterapeutike s DNA (Coppoc, 1985; Youn i sur., 2004).

Genomske promjene poput amplifikacije gena te delecije mogu dovesti do velikih nestabilnosti s različitim fenotipskim učincima. Amplifikacija gena, proces u kojem nastaje višestruki broj kopija određenog gena bilo unutar kromosoma ili u sklopu ekstrakromosomalnih fragmenata. Više kopija gena znači nastanak većeg broja mRNA molekula te njihovu translaciju u proteine. Kao rezultat te povećane koncentracije ciljane molekule dolazi do potrebe za većom koncentracijom kemoterapeutika ili inhibitora za sprječavanje aktivnosti određenog staničnog puta ili enzima. Takav učinak je zamijećen u slučaju aspartat transkarbamoylaze i dihidrofolat reduktaze koji su ciljani enzimi u slučaju metotreksata (Coppoc, 1985) ili kod timidilat sintetaze i 5-fluorouracila. Delecija gena je suprotni proces od amplifikacije gena koji uključuje gubitak kromosomskih regija, najčešće dijelova koji sadrže tumor supresorske gene poput *TP53*. Njegov gubitak dovodi do pogreški u apoptotičkim putevima gdje unatoč oštećenju DNA dolazi do daljnje proliferacije stanice. Sličan učinak nastaje kod amplifikacije i mutacija gena *H-ras* i *Bcl-2* (Youn i sur., 2004).

Antineoplastična rezistencija može nastati kao rezultat epigenetskih remodelacija kromatina koje igraju ključnu ulogu u progresiji karcinoma. Dvije od najčešćih takvih promjena su histonska metilacija i acetilacija te DNA metilacija. Histonske modifikacije poput deacetilacije dovode do utišavanja velikih kromatinskih regija te se mogu postići inaktivacija tumor supresorskih gena. Za DNA metilaciju je već prethodno potvrđeno da je zastupljena u 25-35% pacijenata s rakom jajnika u blizini *hMLH1* gena što vodi do promjene njegove transkripcijske aktivnosti te otpornosti na cisplatinu (Marsh i sur., 2014). Hipometilacija *MDR1* u velikom broju staničnih linija raka vodi do njegove prekomjerne ekspresije (Kantharidis i sur., 1997), dok hipermetilacija *SOCS-3* gena uzrokuje aktivaciju STAT3 proteina te nekontroliranu proliferaciju ili u slučaju *MGMT* gena rezistenciju na nekoliko alkilirajućih spojeva kroz njihovo uklanjanje s DNA molekule (Al-Jamal i sur., 2014).



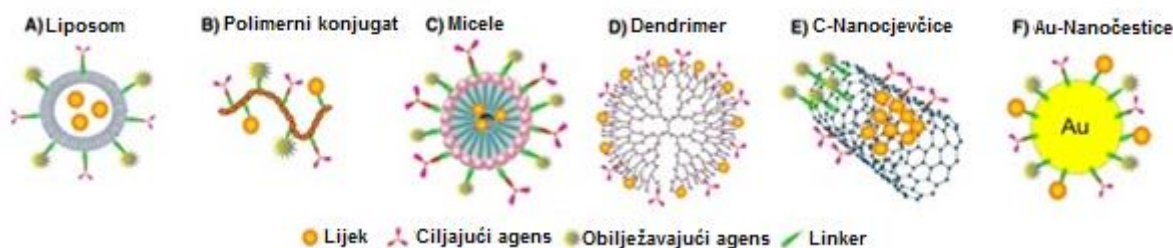
## 5. NOVI PRISTUPI U DOKIDANJU TUMORSKE REZISTENCIJE NA KEMOTERAPEUTIKE

Kao rezultat postojanja rezistencije tumorskih stanica na kemoterapeutsku obradu došlo je do razvitka i istraživanja raznih dodatnih tehnika u kliničkoj onkologiji čija je svrha pojačati senzitivnost i spriječiti rezistenciju. Pristup tih tehnika prema rješavanju problema može biti direktan po djelovanju na ciljani protein, genetički zbog moduliranja ekspresije određenih gena, epigenetički zbog kromatinskog i histonskog remodeliranja te interaktomski zbog utjecaja na razne unutarstanične signalne puteve.

Tumorske stanice pri podraživanju uobičajenim antineoplastcima uz pokazivanje rezistencije simultano poprimaju svojstva matičnih stanica što je upravo razlog te otpornosti. Lijekovi koji uzrokuju stanična oštećenja i apoptozu mogu dovesti do aktivacije specifičnih molekularnih puteva koji vode do te transformacije. Reverzija stanične transformacije i resenzitacija tumora na liječenje je moguća kroz nekoliko postojećih lijekova poput Bortezomib (Wang i sur., 2011).

Sve većim znanjem o kompleksnim signalnim putevima dolazi do sve više kreativnijih zahvata poput uporaba spojeva s učinkom narušavanja gradijenta kalcija u stanicama što utječe na metabolizam, tumorski mikrookoliš te metabolizam. Među njima nalazimo blokatore kalcijevih kanala poput Verapamila i Diltiazema, kalmodulinske inhibitore te kalcijev antagonist perheksilin maleat (Coppoc, 1985).

Razvoji u imunologiji i nanotehnologiji doveli su do inovativnih terapija čiji je naglasak na učinkovitoj dostavi lijekova te specifično djelovanje samo na tumorske stanice. Primjerice, konjugiranje toksina na protutijela ili enkapsuliranje kemoterapeutika u feritinske mikrosfere označene albuminom. Takve mikrosfere se injiciraju izravno u tumor te se snažnim magnetnim poljem lokaliziraju s ciljem da se spriječi odlazak u okolna tkiva i ostatak tijela kroz tumorski krvožilni sustav (Coppoc, 1985). Osim mikrosfera razlikujemo više različitih tipova 'pametnih' nanolijekova te njihovih omotača. Neki od njih su micle, polimerni konjugati, dendrimeri, nanočestice zlata i srebra ugljične nanocjevčice i liposomi (Slika 6.) (Kumari i sur., 2016).

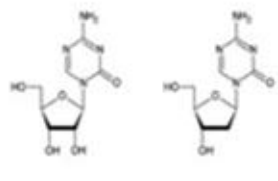
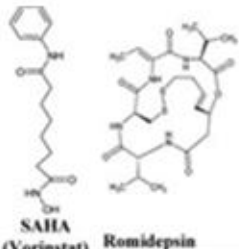
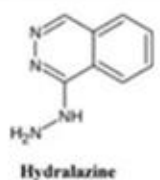
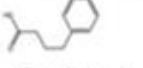
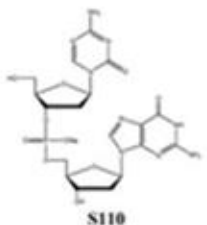
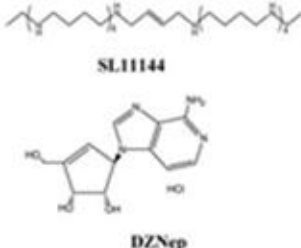


Slika 6. Shematski prikaz različitih nanolijekova i njihovih omotača (preuzeto i prilagođeno od: Kumari i sur., 2016)

Liposomi su sferične vezikule sastavljene od lipidnog dvosloja u čijoj se unutrašnjosti mogu inkorporirati razni lijekovi, one se zbog toga koriste kao sustav za prijenos te zbog njihove toplinske osjetljivosti omogućeno je specifično i kontrolirano otpuštanje tvari u tumoru. Toplinska osjetljivost je razlog zbog kojega primjena liposoma prati hipertermijska terapija da se oslobodi lijek (Kumari i sur., 2016). Za hipertermijsku terapiju također je dokazano da može spriječiti ili dokinuti kemorezistenciju izmjenom tumorskog mikrookoliša te aktivacijom prolijekova što je posebice prethodno dokazano na stanicama rezistentnim na cisplatinu. Uloga hipertermije je također zamijećena pri vraćanju senzitivnosti tumorskih stanica na mitomicin C, BCNU te antracikline. Osim u borbi protiv rezistencije primjena hipertermije je i pri izravnom uništavanju stanica ablacijom odnosno evaporacijom.

Velik broj obrada tumora usmjeren je prema svladavanju rezistencije nastale putem MDR proteina i sličnih drugih prijenosnika ABC obitelji tako što se kemoterapija potpomaže njihovim inhibitorima. Inhibitori aktivnosti poput Osimertiniba pridonose ravnoteži između učinkovitosti i smanjene toksičnosti što osigurava lakšu akumulaciju antineoplastika u tumorskim stanicama bez nanošenja velikih oštećenja zdravim stanicama, što je dokazano na miševima koji nisu pretrpjeli gubitak težine, česti znak toksičnosti (Chen i sur., 2016). Geni *MDR* i sličnih proteina su visoko amplificirani i eksprimirani u raznim genima te izravna inhibicija transkripcije bi također dovela do kemosenzitivnosti i smanjene proliferacije kao što je u slučaju primjene Reversina 121 ili posebnih inženjerski pripremljenih antisense *MDR* mRNA (Hoffman i sur., 2008). Reekspresija divljeg tipa gena *TP53* dovodi do popravka oštećenog apoptotičkog puta te je *in vitro* dokazana da dolazi do prekida staničnog ciklusa i apoptoze u stanicama raka. Transkripcijski čimbenik NF- $\kappa$ B koji je uključen u stanične puteve vezane uz imunosti i brojne druge stanične procese, vrlo često je abnormalno eksprimiran u stanicama raka, te je dokazana njegova povezanost s rezistencijom na kemoterapeutike bazirane na platini. Njegova inhibicija genisteinom vodi do povećane kemosenzitivnosti i stope apoptoze, ali i do nespecifičnih vidljivih učinaka (engl. *off-target effect*) (Li i sur. 2005).

Osim genetskih promjena kroz genske terapije i CRISPR-Cas terapiju koje se trenutno nalaze u povojima bitno je spomenuti epigenetske promjene koji imaju ključnu ulogu u obradi oboljenja. Antineoplastična rezistencija nastala kao rezultat epigenetskih promjena primjerice u slučaju metilacije *hMLH1* gena može se obraditi kombinacijom cisplatina i decitabinea, lijek koji inhibira DNA metilaciju te tako vodi do reverzije epigenetskih promjena te resensitacije tumorskih stanica na kemoterapiju (Marshi sur., 2014). Daljnja klinička istraživanja ukazala su da predobrada epigenetskim inhibitorima poput decitabinea povećava osjetljivost tumorskih stanica na karboplatin u 35% pacijenata, dok inače u prosjeku na njega reagira samo 10% pacijenata. Obrada histon deacetilaznim inhibitorima uzrokuje demetilaciju i ponovnu ekspresiju tumor supresorskih gena što vodi do suzbijanja rezistencije. Korisnost epigenetskih lijekova pokazuje se ne samo u borbi protiv rezistencije već i pri smanjenju vjerojatnosti relapsiranja kao što je pokazano u istraživanju na pacijentima s rakom pluća koji su prethodno tradicionalnim kemoterapeuticima obrađeni s DAC i HDACi (Slika 7.) (Kelly i sur., 2010). Prema tome se može zaključiti da kombinacija konvencionalne kemoterapije i epigenetskih lijekova je učinkovitija u obradi tumora bilo rezistentnih ili ne.

	DNA metilacija	Histonska acetilacija	Histonska metilacija
Predklinički testovi Klinički testovi FDA odobreni	 5-Azacytidine      5-Aza-2'-deoxycytidine	 SAHA (Vorinostat)      Romidepsin	N/A
	 Hyalalazine	 Phenylbutyrate N/A Entinostat (MS-275)	N/A
	 S110	N/A ASHA (e.g. 5c)	 SL11144 DZNep

Slika 7. Prikaz kemijskih struktura nekoliko istraživanih epigenetičkih lijekova (preuzeto i prilagođeno od: Kelly i sur., 2010)

## 6. LITERATURA

Airley R, Cancer Chemotherapy: Basic Science to the Clinic. Wiley-Blackwell. pp.55-59, 2009.

Al-Jamal HAN, Jusoh SAM, Yong AC, Asan JM, Hassan R, Johan MF. Silencing of suppressor of cytokine signaling-3 due to methylation results in phosphorylation of STAT3 in imatinib resistant BCR-ABL positive chronic myeloid leukemia cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* **15**, 4555–4561, 2014.

Baba AI, Cătoi C. Tumor cell morphology U: Comparative Oncology. The Publishing House of the Romanian Academy. 2007.

Ben-Ari ET. Dual purpose: some cancer therapies used to treat autoimmune diseases. *Journal of the National Cancer Institute* **96**, 8, 2004.

Benson EA, Skaar TC, Liu Y, Nephew KP, Matei D. Carboplatin with Decitabine Therapy, in Recurrent Platinum Resistant Ovarian Cancer, Alters Circulating miRNAs Concentrations: A Pilot Study. *PLoS One* **10**, 10, 2015.

Bentires-Alj M, Barbu V, Fillet M, Chariot A, Relic B, Jacobs N, Gielen J, Merville MP, Bours V. NF- $\kappa$ B transcription factor induces drug resistance through MDR1 expression in cancer cells. *Oncogene* **22**, 90–97, 2003.

Carmen A, Menendez JC. Medicinal Chemistry of Anticancer Drugs 2nd Edition. Elsevier Science. 2015.

Carter P . Improving the efficacy of antibody-based cancer therapies. *Nature Reviews Cancer* **1**, 118–29, 2001.

Chen Z, Chen Y, Xu M, Chen L, Zhang X, To KK, Zhao H, Wang F, Xia Z, Chen X, Fu L. Osimertinib (AZD9291) Enhanced the Efficacy of Chemotherapeutic Agents in ABCB1- and ABCG2-Overexpressing Cells In Vitro, In Vivo, and Ex Vivo. *Molecular Cancer Therapeutics* **15**, 1845-1858, 2016.

Cooper GM. Elements of human cancer. Jones and Bartlett Publishers. pp. 16, 1992.

Coppoc GL. Mechanisms of resistance to antineoplastic drugs. 1985.

(<http://c.ymcdn.com/sites/www.aavpt.org/resource/resmgr/imported/Coppoc156-162.pdf>)

Corrie PG, Pippa G. Cytotoxic chemotherapy: clinical aspects. *Medicine* **36**, 24–28, 2007.

Garattini S. Pharmacokinetics in cancer chemotherapy. *European Journal of Cancer* **43**, 271-282, 2007.

Hoffmann K, Bekeredjian R, Schmidt J, Büchler MW, Märten A. Effects of the High-Affinity Peptide Reversin 121 on Multidrug Resistance Proteins in Experimental Pancreatic Cancer. *Tumor Biology* **29**, 351–358, 2008.

Housman G, Byler S, Heerboth S, Lapinska K, Longacre M, Snyder N, Sarkar S. Drug Resistance in Cancer: An Overview. *Cancer*. **6**, 1769–1792, 2014.

<http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2010/en#/D00-D09>

<http://labiotech.eu/pfizer-merck-ovarian-cancer-trial-avelumab-pdl1-immunooncology/>

[http://sphweb.bumc.bu.edu/otlt/mph-modules/ph/ph709\\_cancer/ph709\\_cancer7.html](http://sphweb.bumc.bu.edu/otlt/mph-modules/ph/ph709_cancer/ph709_cancer7.html)

<http://web.stanford.edu/class/cs262/presentations/lecture12.pdf>

<http://www.pharmaceutical-journal.com/news-and-analysis/feature/immune-checkpoint-inhibitors-bring-new-hope-to-cancer-patients/20067127.article>

<http://www.who.int/cancer/en/>

<https://pocketdentistry.com/42-antineoplastic-drugs/>

<https://wiki.org/en/File:Cross-linked DNA by nitrogen mustard.png>

<https://www.cancer.gov/about-cancer>

<https://www.crs-src.ca/sslpage.aspx?pid=1765>

Kantharidis P, El-Osta A, deSilva M, Wall DM, Hu XF, Slater A, Nadalin G, Parkin JD, Zalberg JR. Altered methylation of the human MDR1 promoter is associated with acquired multidrug resistance. *Clinical Cancer Research* **3**, 2025–2032, 1997.

Kumari P, Ghosh B, Biswas S. Nanocarriers for cancer-targeted drug delivery. *Journal of Drug Targeting* **24**, 179-191, 2016.

Luqmani YA. Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy. *Medical Principles and Practice* **14**, 35-48, 2005.

Malhotra V, Perry MC. Classical chemotherapy: mechanisms, toxicities and the therapeutic window. *Cancer Biology & Therapy* **2**, S2–S4, 2003.

Marsh DJ, Shah JS, Cole AJ. Histones and Their Modifications in Ovarian Cancer – Drivers of Disease and Therapeutic Targets. *Frontiers in Oncology* **4**, 144, 2014.

Moreno-Ramirez D, de la Cruz-Merino L, Ferrandiz L, Villegas-Portero R, Nieto-Garcia A. Isolated limb perfusion for malignant melanoma: systematic review on effectiveness and safety. *The Oncologist* **15**, 416–427, 2010.

Nitiss JL. Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer* **9**, 338–350, 2009.

Rang HP. *Pharmacology*. Edinburgh: Churchill Livingstone. pp. 241, 2003.

Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Jackson RB. *The cell cycle U: Campbell biology 10th ed*. Pearson. pp. 247, 2011.

Shackleton M, Quintana E, Fearon ER, Morrison SJ. Heterogeneity in cancer: Cancer stem cells versus clonal evolution. *Cell* **138**, 822–829, 2009.

Skipper HE, Schabel FM. Tumor stem cell heterogeneity: Implications with respect to classification of cancers by chemotherapeutic effect. *Cancer treatment reports* **68**, 43-61, 1984.

Sundberg TB, Xavier RJ, Schreiber SL, Shamji AF. Small-molecule control of cytokine function: new opportunities for treating immune disorders. *Current Opinion in Chemical Biology* **23**, 23–30, 2014.

Walczak CE, Heald R. Mechanisms of Mitotic Spindle Assembly and Function. *International Review of Cytology* **265**, 111–158, 2008.

Wang H, Li Y, Liao A, Fu B, Yang W, Liu ZG, Wang XB. Reversion of Multidrug-Resistance by Proteasome Inhibitor Bortezomib in K562/DNR Cell Line. *Chinese Journal of Cancer Research* **23**, 69–73, 2011.

Woolley DW. *A Study of Antimetabolites*. John Wiley & Sons Inc, Chapman & Hall Ltd. 1987.

Youn CK, Kim MH, Cho HJ Kim HB, Chang IY, Chung MH, You HJ. Oncogenic H-Ras Up-Regulates Expression of ERCC1 to Protect Cells from Platinum-Based Anticancer Agents. *Cancer Research* **64**, 4849–4857, 2004.

Yue QX, Liu X, Guo DA. Microtubule-binding natural products for cancer therapy. *Planta Medica* **76**, 1037–1043, 2010.

## 7. SAŽETAK

Neoplazma ili novotvorina je tkivna promjena nastala abnormalnim procesima rasta koja može i ne mora formirati masu. Da bi došlo do formiranja neoplazmi i neoplastičnih stanica one moraju proći kroz razne transformacijske procese poput metaplazije ili displazije prouzrokovane oštećenjem DNA. Ti procesi sami za sebe ne moraju nužno voditi prema neoplaziji, njoj prethodi akumuliranje velikog broja genetskih promjena kroz dugi niz godina. Takve jednom transformirane tumorske stanice mogu se klasificirati prema svojoj diferenciranosti i staničnom odnosno tkivnom tipu iz kojega potječu. Velika pojavnost takvih oboljenja gdje prema projekcijama 39.6% ljudi tijekom života će biti dijagnosticiran rak dovelo je do iznimne potrebe za razvitkom dijagnostičke, farmaceutske i biotehnološke industrije usmjerne prema borbi protiv tumorskih oboljenja. Pri liječenju tih bolesti najčešće korištena sredstva su kemoterapeutici čija primarna funkcija je uništavanje tumorskih stanica kroz razne mehanizme kao što su primjerice blokiranje replikacijskih enzima, bitnih staničnih signalnih proteina, metaboličkih puteva te kroz izmjenu imunoregulacije ili induciranje apoptoze. Česta manjkavost kemoterapije očituju se u činjenici da nije uspješna u svim slučajevima, a i kada pomaže neće nužno uvijek dovesti do totalnog uništenja tumora. Glavni razlog tog problema kemoterapeutskih režima je razvitak otpornosti kod tumorskih stanica koja se postiže kroz hiperprodukciju raznih zaštitnih proteina primjerice p-glikoproteina i PD-L1, genetički zbog moduliranja ekspresije i amplifikacije određenih gena, epigenetički zbog kromatinskog i histonskog remodeliranja te interaktomski zbog utjecaja na razne unutarstanične signalne puteve. Upravo zbog takvih mehanizama veliki dio eksperimentalnih onkoloških istraživanja se odnosi na dizajniranje inovativnih tretmana za dokidanje otpornosti takvih rezistentnih stanica.



## **8. SUMMARY**

Neoplasm is an abnormal tissue change caused by aberrant growth processes which can sometimes lead to mass formation. For formation of neoplasms and neoplastic cells healthy cells need to undergo transformation such as metaplasia and dysplasia which are caused by DNA damage. These processes by themselves do not necessarily lead to neoplasia, but accumulation of many genetic mutations over long period of time will increase the likelihood. Once transformed tumor cells can be classified by degree of their differentiation and cellular or tissue type they originate from. High occurrence of neoplastic disease where it is projected that 39.6% of general population will be diagnosed with cancer in a lifetime led to significant need for development of diagnostic, pharmaceutical and bioindustries aimed at solving this problem. When treating the most used agents are chemotherapeutics whose primary function is the destruction of tumor cells through many different mechanisms, such as, inhibition of replication enzymes, blocking of cellular and metabolism pathways and immunoregulation or induction of apoptosis. Often chemotherapy is not successful and when it is does not necessarily lead to complete destruction of tumor. Resistance is a major cause of treatment failure in chemotherapeutic drugs which is attained through overproduction of protective proteins such as p-glycoproteins and PD-L1, genetically through modulation of expression and gene amplification, epigenetically through chromatin and histone remodeling and interatomic by influencing cellular pathways. Because of these mechanisms great deal of experimental oncological research is focused on designing innovative treatments for overcoming chemotherapeutic resistance.