

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:344172>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-02**



Repository / Repozitorij:

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



SVEU ILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO - MATEMATI KI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

NOVI LIJEKOVI U KEMOTERAPIJI TUMORA

NEW DRUGS IN CANCER CHEMOTHERAPY

SEMINARSKI RAD

Nikolina Hanži

Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: Prof. dr. sc. Nada Oršoli

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. NANO ESTICE	11
4. GENSKI LIJEKOVI	13
4.1. Pt LIJEKOVI	13
4.2. MiRNA	14
4.3. βGMP	16
5. LITERATURA	17
6. SAŽETAK	19
7. SUMMARY	19

1. UVOD

Rije 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, alkiliraju ih agensa, dima cigareta, kemijskih elemenata: arsen, azbest, kadmij, krom, nikal...) ili kao posljedica spontanijih 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 šire i se u okolna zdrava tkiva preko krvožilnog sustava, dok benigni tumori ne stvaraju metastaze. Rak (*lat. cancer* = neizljepljiva 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 toksičnih 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 onkogeni i inaktivacijom protuonkogeni.

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 imbenika, dok u većem dijelu ovisi o količini imbenika koji izazivaju inicijaciju, (3) progresije, ireverzibilnog procesa praćenog uočenjivim genomskim promjenama i stvaranjem primarnog tumora i (4) metastaziranja, proširivanja malignih stanica po organizmu (Štraus, 1995, Ittoigawa, 2001).

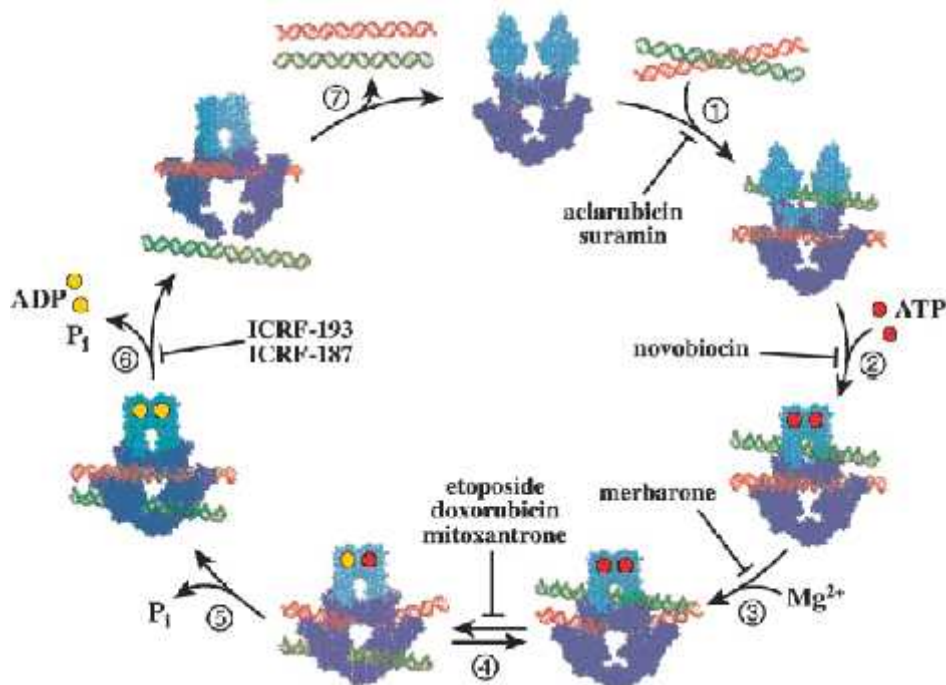
Lijekovi koji se koriste u kemoterapiji tumora imaju za cilj izazvati apoptozu tumorskih stanica uz minimalnu kolateralnu štetu. Iako su tumorske stanice osjetljivije od normalnih stanica na kemoterapijske lijekove, lijekovi nisu selektivni i mogu izazvati oštećenje normalnog tkiva (Haley, 2008). To 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-angiogeni lijekovi i NSADIs. S druge strane, u genske lijekove spadaju ove velike skupine lijekova: Pt lijekovi, βGMP i miRNA.

3. PAMETNI LIJEKOVI

3.1. INHIBITORI TOPOIZOMERAZE

DNA topoizomeraze su jezgri stani ni enzimi koji izazivaju lomove u molekuli DNA. Topoizomeraza I izaziva jednolan ane lomove ime izaziva prezavijanje molekule DNA, dok topoizomeraza II izaziva dvolan ane lomove u molekuli DNA i omogu uje dvolan anoj DNA da pro e kroz urez u DNA ime se doga a 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 kataliti kom ciklusu topoizomeraze II (slika 1).



Slika 1. Kataliti ki ciklus topoizomeraze II i potencijalni inhibitori topizomeraze II. Preuzeto iz Larsen i sur 2003.

Aklarubicin je jak DNA interkaliraju i agens koji spre ava vezanje topoizomeraze II na DNA molekulu. Uz to on može inhibirati i topoizomerazu I, ali ovisno o koncentraciji. Visoke koncentracije akklarubicina izazivaju stvaranje kovalentnog kompleksa DNA i topoizomeraze I, dok u normalnim koncentracijama akklarubicin spre ava vezanje

topoizomeraze I na DNA. Ošte enje DNA izazvano aklarubicinom doga a se u S fazi jer je tu topoizomerazna aktivnost potrebna kako bi relaksirala superzavojnice ispred replikacijskih vilica. Suramin je polianionski spoj. On inhibira kataliti ku aktivnost topoizomeraze II tako što spre ava 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 kataliti ku aktivnost topoizomeraze II, ali ima i slabu aktivnost prema topoizomerazi I. On je inhibitor cijepanja koje ovisi o enzimu tj. izaziva formiranje jednolan anih DNA molekula, usporavanje S i G2 faze. Etopozid spre ava topoizomerazu II da ponovno ligira pocijepanu DNA molekulu. Etopozid zatim preobradi topoizomerazu II u otrov koji uvodi visoke koli ine privremenih lomova u genom tretirane stanice. Tenipozid je analog etopozida. Mehanizam djelovanja tenipozida sli an je etopozidu. Oba lijeka ošte uju DNA tako što stvaraju interakciju s topoizomerazom II kako bi formirale cijepaju i kompleks koji spre ava ponovnu ligaciju DNA dvolan anih lomova. Antraciklinski antibiotici su esto korišteni kao antitumorski lijekovi. Oni inhibiraju topoizomerazu II tako što njihov planarni aglikonski dio interkalira izme u parova DNA i formira jednolan ane ili dvolan ane lomove u DNA. Antraciklini koji se koriste u lije enju su: doksorubicin, daunorubicin, epirubicin i idarubicin. Modificiraju sposobnost jezgrinih helikaza da disociraju dupleks DNA u jednolan ane lance. ICRF i bisdioksipiperazonski derivati inhibiraju kataliti ku aktivnost topoizomeraze II, ali ne utje u na topoizomerazu I. Inhibiraju topoizomerazu II stabiliziraju i 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

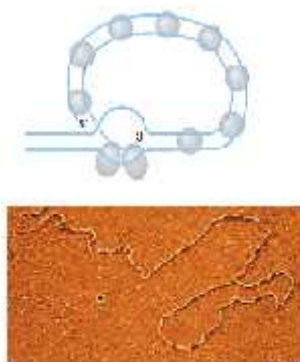
Replikacija DNA je semikonzervativna te nastaju 2 molekule DNA s roditeljskim i novosintetiziranim lancem. Replikacija se odvija tako da se jedan lanac sintetizira kontinuirano, a drugi uz Okazaki fragmente. Lanac koji se replicira Okazaki fragmentima je nešto kra i od originalnog lanca jer ne postoji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

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



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

Telomerna hipoteza je ideja da je progresivno skra ivanje telomera mitoti ki 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 izme u razli itih kromosoma i štiti telomere od prepoznavanja tih krajeva kao lomova DNA molekule. Telomeraza je reverzna transkriptaza jer dodaje heksamerna ponavljanja na krajeve kromosoma ime produžuje telomere i omogu uje 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 marker za rak jer skoro svi ljudski tumori pokazuju pozitivnu aktivnost telomeraze. Stanice u ljudskim tkivima nisu besmrtna jer one u svakom ciklusu replikacije skra uju svoje telomere, dok s druge strane tumorske stanice imaju neograni en kapacitet jer se telomere ne skra uju. Inhibitori telomeraza u tumorskim stanicama pojavljuju se na razli itim razinama regulacije. Ve ina metoda temelji se na skra ivanju telomera. Taj proces je jako spor pa se za lije enje koristi u kombinaciji s raznim kemoterapeutcima. Krajnji cilj inhibicije telomeraza je izazivanje apoptoze u stanicama tumora.



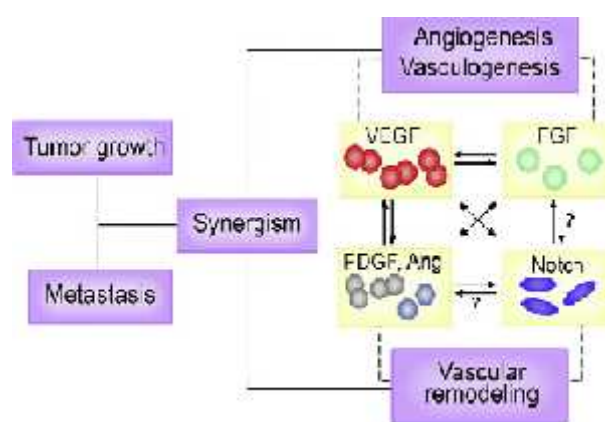
Slika 3. T-petlja. Preuzeto iz Nelson & Cox 2008.

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 „hammerhead“ ribozimima koji katalitički cijepaju mRNA molekule. Cijepanje mRNA proteinske podjedinice zaustavlja rast tumora i izaziva apoptozu. Nadalje, krajevi kromosoma se sastoje od dvolanane DNA molekule konzervirane s 3' jednolananom 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 telomerazu 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 zacjeljivanju rana.

Razliiti tumori mogu eksprimirati različite tipove angiogenih faktora koji im omogućuju rast. Da bi to bilo moguće potrebna je hipoksija u tumorskom tkivu. Hipoksija u tumorskom tkivu određuje stupanj ekspresije angiogenih faktora, ali i međudjelovanje između njih. Unakrsno djelovanje VEGF (vaskularnog endotelnog faktora rasta), PDGF (trombocitno doveden faktor rasta), FGF (fibroblastni 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).



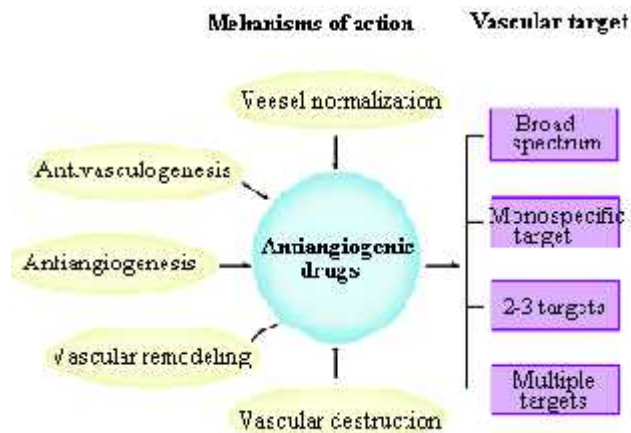
Slika 4. Međudjelovanje angiogeneze, vaskulogeneze i vaskularnog remodeliranja u rastu tumora.

Preuzeto iz Cao i sur. 2009.

S druge strane, rast tumora može biti suprimiran anti-angiogenom 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 antiangiogeni 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 spreavaju i razvoj endotelnih stanica, dok inhibitori COX-1 ne inhibiraju angiogenezu.

Anti-angiogeni lijekovi se mogu podijeliti u 5 kategorija. Prvi su anti-angiogeni faktori. To je skupina koja inhibira angiogenezu ciljajući različite korake u angiogenom putu. Druga su normalizirajući vaskularni agensi. Toj skupini pripada anti-VEGF. Treća skupina su antivaskularni agensi. Oni inhibiraju integraciju endotelnih stanica u tumorske angiogene žile i smanjuju tumorski rast. Četvrta skupina obuhvaća vaskularno preurene inhibitory (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). Antiangiogeni lijekovi dijele se i prema terapijskim ciljevima u 4 kategorije. Prva je monospecifični antiangiogeni lijekovi koji neutraliziraju samo jedan ligand. Druga su lijekovi koji ciljaju 2-3 različita liganda pa mogu blokirati funkcije 2-3 liganda zato jer se receptori faktora rasta mogu vezati na nekoliko liganda. Treća su višestruki lijekovi (npr inhibitori tirozin kinaza koji mogu blokirati nekoliko tirozin kinaznih receptora koji su posrednici u angiogenezi). Četvrti su inhibitori širokog spektra koji direktno blokiraju angiogene puteve (slika 5).



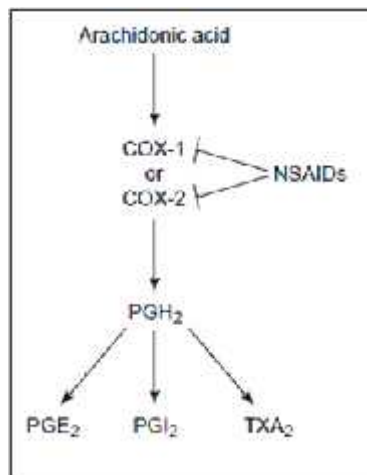
Slika 5. Antiangiogeni lijekovi i mehanizam djelovanja. Preuzeto i prilagođeno prema Cao i sur. 2009.

3.4. NSAIDs

NSAIDs (Ne-Steroidni Anti Inflammatorni lijekovi) su lijekovi koji imaju ulogu u inhibiranju enzima ciklooksigenaze (COX) i time 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 mo ni analgetici, antipiretici i anti-upalni lijekovi.

Enzim COX katalizira stvaranje prostaglandina (PG) iz arahidronske kiseline (slika 6). Taj enzim se pojavljuje u dva izomorfna oblika COX-1 i COX-2. Oni su veoma sli ni jer imaju istu unutarstani nu regulaciju, ali se razlikuju u svojoj kataliti koj aktivnosti. Enzim COX-1 sintetizira prostaglandine koji imaju ulogu u uvanju stanice i on je konstitutivno eksprimira. COX-2 je, s druge stane, loš jer sintetizira prevelike koli ine prostaglandina. On nije u konstitutivnoj ekspresiji kod normalnih tkiva, ali se brzo inducira uz pomo upalnih citokinina, onkogena i promotora tumora. COX-1 nalazi se u malim koli inama i u zdravom i tumorskom tkivu, dok se COX-2 ne nalazi u normalnim tkivima, ve samo u tumorskim. To pokazuje kako je COX-2 odgovaran za kancerogenezu. Dakle, COX-2 izaziva razli ite tumore, a NSAIDs su lijekovi koji to spre avaju.



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

Indukcija COX-2 se najvjerojatnije doga a uz pove anu transkripciju COX-2 gena ili kroz regulaciju translacije. Ova druga mogu nost 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. To an mehanizam kako ekspresija i kataliza COX-2 izaziva stvaranje tumora nije poznat. No, misli se kako je mogu e da kataliza COX-2 mi e zaštitni agens i proizvodi onkogeni agens. Druga mogu nost je da produkti formirani uz enzimatsku aktivnost COX-2 mijenjaju stani ni rast, apoptozu, angiogenezu ili neke druge korake koji dovode do tumora. Ve ina 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 uopće na tumore kojima COX-2 nedostaje.

3.5. NANO ESTICE

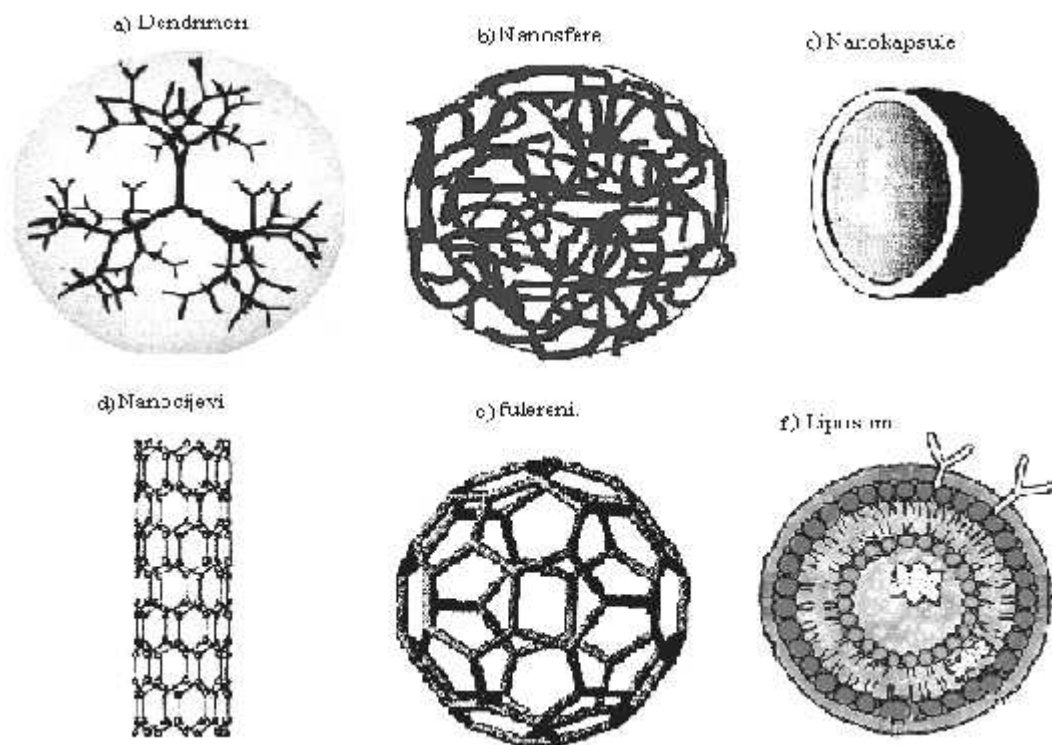
Nano estice su konstruirani sustavi veličine 10^{-9} m. Napravljeni su sa svrhom da prolaze kroz pore na tumorskoj endotelnoj membrani krvnih žila koje su veličine 100-780 nm, dok kroz endotelne membrane normalnih krvnih žila ne mogu prolaziti jer su one široke 5-10 nm. Isto tako, nužno je da estice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

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

Unos nano estica u stanicu može biti aktivan ili pasivan. Pasivni unos podrazumijeva transport nano estica 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 nano estice tako da ligand interagira sa receptorom na ciljanoj tumorskoj stanici. Primjer aktivnog ciljanja je vezanje folata na pegilirane nano estice koje se potom interagiraju sa folatnim receptorom na tumorskim stanicama. Estica konjugirana s folatom ulazi endocitozom u citoplazmu stanice i tada se terapijski lijek koji je vezan za nano esticu otpušta i izaziva apoptozu tumorske stanice.

Dendrimeri (slika 7a) su razgranate trodimenzionalne strukture koje slične 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 pri vrstenoj funkcionalne grupe na površini dendrimera ili u dendritičnim kanalima u unutrašnjosti. Te estice mogu primati različite prenosive molekule

bilo hidrofилne ili hidrofobne. Micele su sferne ili globularne strukture koje se formiraju kada se molekule sa hidrofилnom glavom i hidrofobnim repom približe i formiraju središnju srž u vodenom mediju. Hidrofилni krajevi molekule su u kontaktu sa vodenim okolišem i formiraju i ogrta, 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 sferne strukture građene od sustava matriksa izmeđuju kojeg se nalazi pri vršen 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 koju 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 obitelji 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.

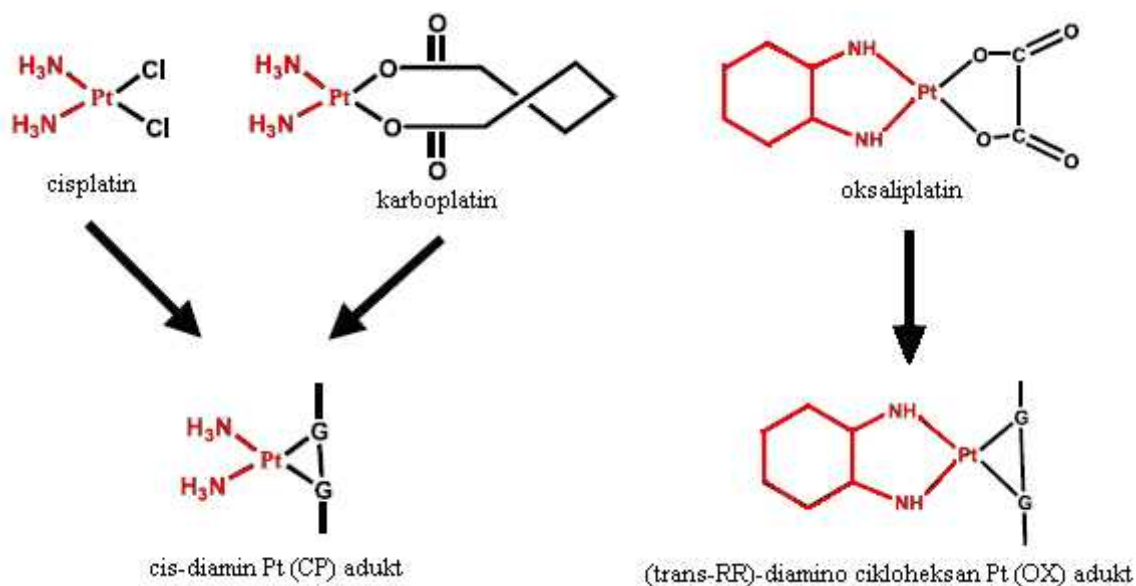


Slika 7. Različiti oblici nanoestica. Preuzeto iz Haley i sur 2008.

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 prihvatljiva za sve Pt lijekove. Dakle, svi Pt lijekovi prolaze kroz koordinaciju DNA koja dovodi do savijanja DNA strukture za $35^\circ - 40^\circ$ 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 prilagođeno 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, 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 =

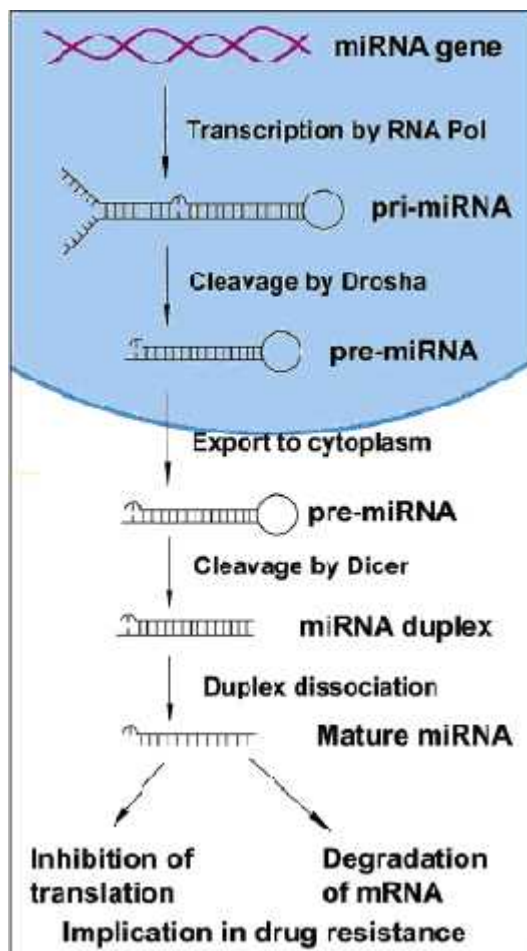
human serum albumin) i transferinima (TF) cijepaju i njihove disulfidne veze. Vezanje Pt lijeka sa albuminom je u omjeru 4:1 (Pt : HSA = 4:1), a vezanje Pt lijeka sa transferinom je u omjeru 1:1 (Pt : TF = 1:1). Ti kompleksi nemaju antitumorsku aktivnost. Pt lijekovi, osim što se vežu na proteine, vežu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

4.2. miRNA

Mikro RNA je grupa malih RNA molekula koje su jednolanane 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 ovjeka 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 i 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 maternih 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 tisućna 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 dvolananim RNA veznim proteinom TRBP cijepa pre-miRNA ukosnicu i stvara miRNA dupleks od 22 nukleotida. Zatim, posredstvom Ago2, miRNA dupleks disocira na 2 jednolanana lanca. Jedan lanac je vodeći lanac "guide strand" koji je zapravo odrasla miRNA molekula i

komplementaran je ciljanoj mRNA. Drugi lanac je prolazni lanac “passenger strand” koji se degradira. Odrasla miRNA regulira gensku ekspresiju vezuju i se na 3' netranslantiranu regiju (3' UTR) ciljane mRNA izazivaju i 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 na ene 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 strane, na ene 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

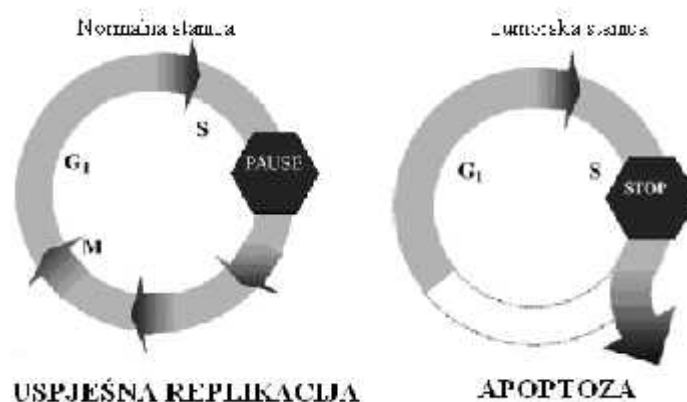
stanica raka ili poveća osjetljivost stanica raka na kemoterapiju. Strategije reguliranja ekspresije miRNA u tumorima uključuju inaktivaciju onkogenih miRNA i aktivaciju tumorsupresorskih miRNA.

4.3. βGMP

βGMP (β 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 znano kako prolazi kroz delecije i translokacije u brojnim tumorskim stanicama. βGBP 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 1.3×10^{14} i 1.3×10^{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 βGBP-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. βGBP negativno regulira stanični ciklus u normalnim stanicama, a u tumorskim stanicama izaziva obustavu ciklusa i apoptozu. βGBP obustavlja rast u kasnoj S fazi i inducira apoptozu u tumorskim stanicama. S druge strane, kod normalnih stanica rast je zbog βGBP-a obustavljen i ne uzrokuje apoptozu, već samo pauzu u staničnom ciklusu prije početka mitoze (slika 10).



Slika 10. Utjecaj βGMP 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 (β GBP). *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.