

Histon deacetilaze i inhibitori histon deacetilaza u razvoju i terapiji tumora

Gregurić, Korina

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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:217:226313>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-01**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Korina Gregurić

**Histon deacetilaze i inhibitori histon
deacetilaza u razvoju i terapiji tumora**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Korina Gregurić

**Histone deacetylases and inhibitors of histone
deacetylase in tumor development and
therapy**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Prijediplomski studij Biologija na zavodu za animalnu fiziologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Nade Oršolić.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Histon deacetilaze i inhibitori histon deacetilaza u razvoju i terapiji tumora

Korina Gregurić

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Acetilacija histona je epigenetička pottranslacijska modifikacija proteina pri kojoj ne dolazi do promjene u primarnoj strukturi molekule DNA. Sama acetilacija kontrolirana je dvama enzima suprotna djelovanja, acetilazom histona (engl. *histone acetyltransferase*, HAT) i deacetilazom histona (engl. *histone deacetylase*, DHAC). Deacetilaza histona funkcionira na način da reverzibilno uklanja acetilne skupine s proteina utječući tako na transkripciju onkogenih i tumorsupresor gena. Prilikom tumorigeneze neregulirana deacetilacija utječe na brojne procese koji dodatno pomažu u razvoju tumorskih stanica npr. angiogeneza, stanična proliferacija, metastaziranje i brojne druge. Osim histonskih proteina deacetilaze mogu djelovati i na nehistske proteine čime dodatno utječu na regulaciju translacije i kontrolne točke u staničnom ciklusu. Kako bi se riješio problem nekontroliranog rada deacetilaza, znanstvenici su razvili kemijske spojeve koji djeluju kao inhibitori histon deacetilaza. Njihovim hiperacetiliranjem proteina dolazi do ponovnog uspostavljanja acetilacijske homeostaze i normalnog staničnog rasta, sprječavajući tako razvitak tumora.

Ključne riječi: acetilacijska homeostaza, acetilne skupine, proteini, regulacija
(23 stranice, 2 slike, 0 tablica, 65 literaturnih navoda, jezik izvornika: engleski)
Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof. dr. sc. Nada Oršolić

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Histone deacetylases and inhibitors of histone deacetylase in tumor development and therapy

Korina Gregurić

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

Histone acetylation is an epigenetic posttranslational protein modification that does not change the primary structure of the DNA molecule. Acetylation itself is controlled by two enzymes with opposite effects, histone acetylase (engl. histone acetyltransferase, HAT) and histone deacetylase (engl. histone deacetylase, DHAC). Histone deacetylase functions by reversibly removing acetyl groups from proteins, thus affecting the transcription of proteins involved in tumor suppression processes. During tumorigenesis, unregulated deacetylation affects numerous processes that additionally help in the development of tumor cells, for example, angiogenesis, cell proliferation, metastasis and many others. In addition to histone proteins, deacetylases can also act on non-histone proteins, thereby additionally affecting translation regulation and control points in the cell cycle. In order to solve the problem of uncontrolled activity of deacetylases, scientists have developed chemical agents that act as histone deacetylase inhibitors. Their hyperacetylation of proteins leads to re-establishment of acetylation homeostasis and normal cell growth, thus preventing the development of tumors.

Keywords: acetylation homeostasis, acetyl groups, proteins, regulation
(23 pages, 2 figures, 0 tables, 65 references, original in: English)
Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: prof. dr sc. Nada Oršolić

Sadržaj

Uvod	1
1. Mehanizam djelovanja histon deacetilaza	2
2. Poremećena ekspresija HDAC i uloga u tumorigenezi	5
2.1 Inicijacija tumora	6
2.2 Smanjena diferencijacija	6
2.3 Stanični ciklus	7
2.4 Apoptoza	7
2.5 Popravak lomova DNA.....	8
2.6 Metastaziranje.....	9
2.7 Angiogeneza	10
2.8 Autofagija	11
3. Uloga HDAC u reguliranju nehistskih proteina	12
4. HDAC inhibitori u borbi protiv tumora	13
4.1 Neselektivni HDAC inhibitori	14
4.2 Selektivni HDAC inhibitori	14
4.3 Multifarmakološki HDAC inhibitori	14
5. Učinkovitost HDAC inhibitora	15
6. Metode izučavanja aktivnosti HDAC	16
Zaključak	17
Literatura	18
Životopis	24

Uvod

Tijekom zadnjih nekoliko desetljeća dolazi se do brojnih spoznaja kako kovalentne modifikacije histona, kao što su metilacije i acetilacije, mogu biti ključan čimbenik u poticanju tumorigeneze i napredovanju tumora. Acetilacija histona je dobro proučena postranslacijska modifikacija kontrolirana dvama antagonističkim enzimima histon acetilaze (engl. *histone acetyltransferase*, HAT) i histon deacetilaze (engl. *histone deacetylase*, HDAC) koji kataliziraju reverzibilne reakcije acetilacije i deacetilacije (Smith and Denu, 2009). Acetilacija se odnosi na dodavanje acetilne skupine na lizinske ostatke histona, najčešće H3 i H4. Ovakva kovalentna modifikacija neutralizira pozitivan naboj histona čime se smanjuje interakcija histona i DNA te dolazi do formiranja eukromatina – opuštenija forma molekule DNA koja je transkripcijski aktivna (Parbin i sur. 2014). Skup svih acetiliranih mjesta na acetiliranim proteinima u stanici označava se pojmom „acetilom“ (Parbin i sur. 2014).

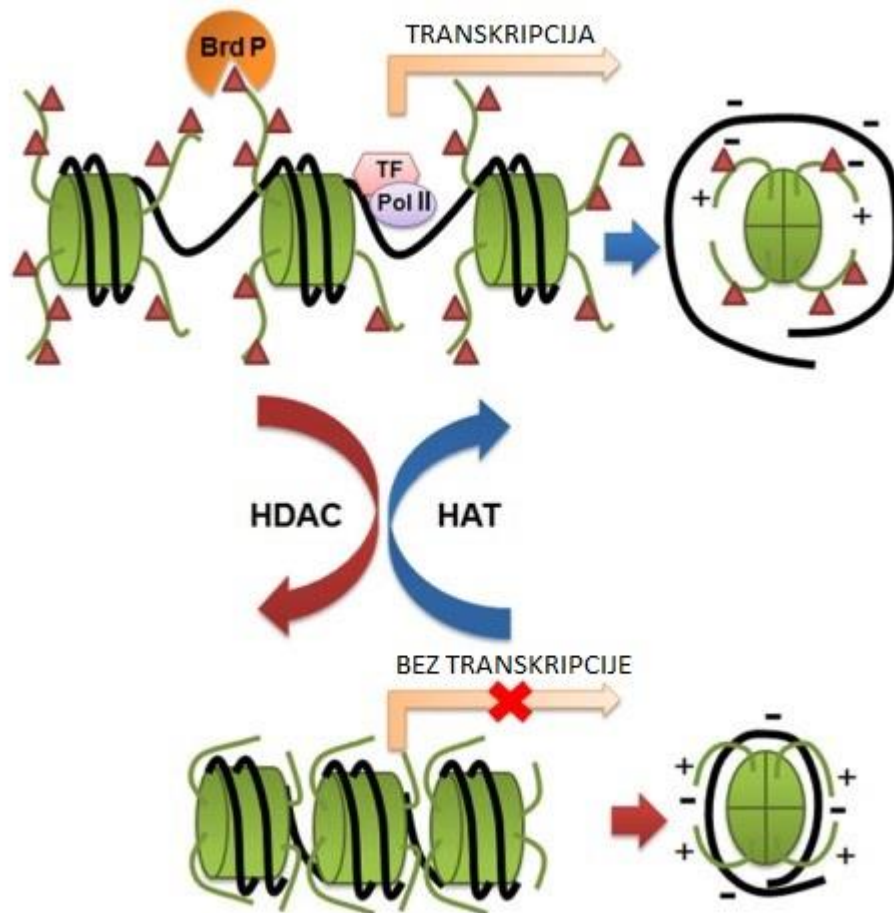
Osim histonskih proteina, acetilom je sačinjen od preko 60 transkripcijskih čimbenika koji imaju ključnu ulogu u popravku i replikaciji DNA, metabolizmu stanice, apoptozi, proliferaciji i mnogim drugim procesima ključnim za normalan razvoj stanice (Yang i Gregoire, 2007). U normalnim staničnim uvjetima, stupanj acetilacije proteina acetiloma je u homeostazi i kao takav predstavlja ključnu odrednicu koja vodi k normalnoj i reguliranoj ekspresiji gena. Prilikom tumorigeneze, s druge strane, status acetilacije je znatno poremećen nereguliranom aktivnošću histon deacetilaza (Parbin i sur. 2014). Uklanjanjem acetilnih skupina, HDAC uzorkuju pojačanu ekspresiju onkogeno te djeluju kao represori tumor supresor gena. Uzevši to u obzir, shvaćamo kako one predstavljaju ključnu točku u procesu stvaranja i napredovanja tumora.

Kao odgovor na to znanstvenici su razvili poseban mehanizam hiperacetiliranja histona i nehistonskih proteina preko inhibitora histon deacetilaza (engl. *HDAC inhibitors*, HDACi) koji dovode do ponovnog uspostavljanja homeostaze i normalne ekspresije gena (Li i Seto, 2016). Uzeći u obzir važnost predstavljenih činjenica, ovaj će se rad baviti razvitkom i progresijom tumorskih stanica kao odgovor na promjenu razine acetilacije histonskih i nehistonskih proteina te regulacijom i liječenjem istih korištenjem najnovijih spoznaja vezanih za inhibitore histon deacetilaza.

1. Mehanizam djelovanja histon deacetilaza

Acetilacijska homeostaza je pojam koji se odnosi na uravnoteženi stupanj acetilacije proteina postignut djelovanjem HAT i HDAC koji prevladava u normalnim stanicama (Saha i Pahan, 2006). Ova dva enzima djeluju na način kovalentnog vezanja, odnosno odstranjivanja, acetilnih skupina s proteina utječući tako na stupanj smatanja kromatina i aktivnost brojnih nehistskih proteina (Li i Seto, 2016).

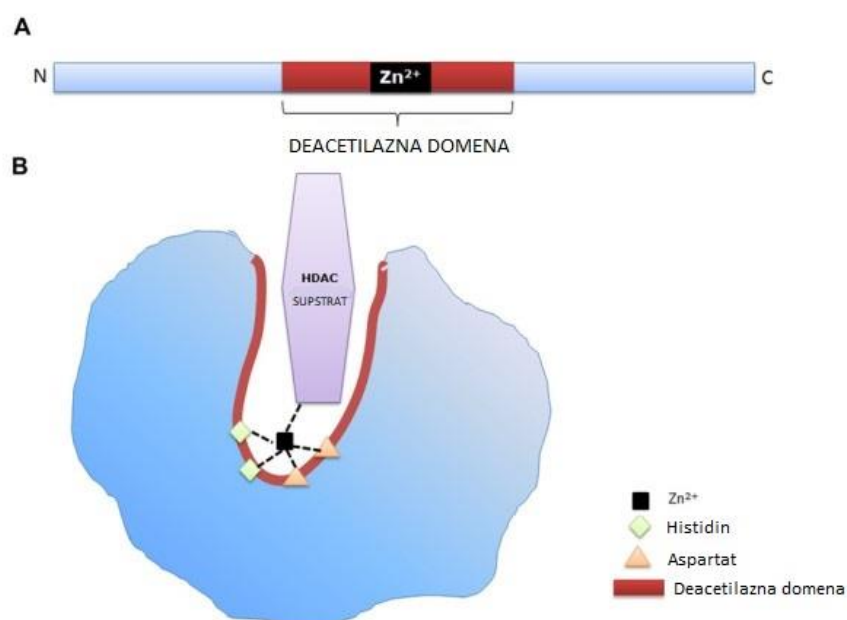
Acetilacija histona temelji se na kovalentnom reverzibilnom vezanju acetilne skupine na ϵ -amino kraj lizinskih ostataka histona (Parbin i sur. 2014). Vezanjem acetilne skupine neutralizira se pozitivan naboj histona čime dolazi do smanjenja ionskih interakcija između histona i negativno nabijene DNA (Slika 1.). Kao odgovor na to dolazi do opuštenijeg smatanja DNA i formiranja eukromatina (Parbin i sur. 2014). Eukromatin svojom strukturom omogućava slobodno vezanje transkripcijskih čimbenika i neometanu transkripciju. Dodatna važnost acetilacije očituje se u činjenici da acetilirani histoni imaju veći afinitet za određene transkripcijske aktivatore što pomaže u regulaciji transkripcije i očuvanju strukture eukromatina (Shogren-Knaak i sur. 2006).



Slika 1. Struktura kromatina u ovisnosti o stupnju acetilacije. Gornji dio slike prikazuje acetilirane histone s eukromatinom koji je pogodan za vezanje transkripcijskih čimbenika i aktivatora transkripcije pri čemu dolazi do inicijacije same transkripcije. Donji dio slike prikazuje deacetilaciju histona uz pomoć HDAC koja uzrokuje gusto namatanje histona i sprječava transkripciju. Slike prikazane desno nakon strelica ukazuju na ionske interakcije histona i DNA prije (dolje) i nakon acetilacije (gore) (preuzeto i prilagođeno prema Parbin i sur. 2014).

Proces suprotan opisanom je deacetilacija histona koja uklanjanjem acetilnih skupina uzrokuje gušće namatanje kromatina i inaktiviranje transkripcije onemogućujući vezanje transkripcijskih čimbenika (Slika 1.) (Parbin i sur. 2014). Histon deacetilaze su, s obzirom na svoju strukturu, način i mjesto djelovanja, podijeljene u četiri razreda (Haberland i sur. 2009). Razred I HDAC su Rpd3 slični enzimi jednostavne strukture i u njih se ubrajaju HDAC 1, 2, 3, i 8. Hda1 slični enzimi, odnosno razred II HDAC, sastoje se od HDAC 4, 5, 6, 7, 9 i 10, i njihova važnost proizlazi iz činjenice da mogu djelovati u jezgri i u citoplazmi deacetilirajući i nehistske proteine (Haberland i sur. 2009). Sirtuini su proteini koji spadaju u razred III HDAC (Parbin i sur. 2014). To su NAD^+ - ovisni enzimi važni za regulaciju staničnog starenja,

metabolizma, odgovora na stres i brojne druge procese (Li i Seto, 2016). Njihova specifičnost temelji se na neosjetljivosti na određene HDACi (Dokmanovic i sur. 2007). Nešto više o samoj ulozi i korištenju sirtuina u borbi protiv tumora bit će razjašnjeno u nastavku. Posljednji, razred IV HDAC je sastavljen od HDAC11 koja je po svojoj DNA sekvenci vrlo slična proteinima iz razreda I i II (Li i Seto, 2016). Razredi I, II i IV su amidohidrolaze ovisne o cinku i osjetljive na spojeve koji vežu cink (Parbin i sur. 2014) (Slika 2.). One djeluju po istom principu radi međusobne sličnosti katalitičkog mjesta koje se sastoji od 4 do 6 ugljikovih lanaca vezanih u cilindričnu strukturu unutar koje je umetnut ion cinka, Zn^{2+} (Parbin i sur. 2014). Ovakva je struktura, zajedno s interakcijom histidina i aspartata u katalitičkom mjestu, ključna za kataliziranje deacetilacije (Lin i sur. 2006; Smith and Denu, 2009) (Slika 2.). Sirtuini, koji se nalaze u razredu III HDAC, imaju potpuno drugačiju strukturu katalitičkog mjesta koje se sastoji od 275 aminokiselina od kojih glavnu ulogu imaju aspart i glicin (Frye, 1999). Zanimljivo je da sirtuini imaju dvojaku ulogu, mogu djelovati kao tumor supresori ili aktivatori onkogeni (Parbin i sur. 2014). Tumor supresorsko djelovanje povezano je s mogućnosti sirtuina da deacetiliraju, a potom i inhibiraju β -catenin, jedan od vodećih transkripcijskih čimbenika, smanjujući tako proliferaciju stanica (Parbin i sur. 2014). Sirtuinska onkogeni uloga temelji se na deacetilaciji i inaktivaciji p53 (Luo i sur. 2001; Vaziri i sur. 2001) pri čemu dolazi do nekontrolirane proliferacije stanica.



Slika 2. (A) Pojednostavljeni shematski prikaz katalitičke domene enzima histon deacetilaze (crveno) s cinkom u svojem središtu (crno). (B) Shematski prikaz katalitičkog mjesta unutar HDAC koji djeluje uz pomoć cinka i ionskih histidin-aspartat interakcija (crne isprekidane linije) (preuzeto i prilagođeno prema Parbin i sur. 2014).

2. Poremećena ekspresija HDAC i uloga u tumorigenezi

Poremećaji u ekspresiji i regulaciji HDAC povezuju se s brojnim neurodegenerativnim i tumorskim bolestima (Li i Seto, 2016). Ukoliko se promijeni status acetilacije proteina prema deacetilaciji, dolazi do abnormalnosti vezanih za proliferaciju, apoptozu, diferencijaciju i brojnih drugih procesa koji potiču nastajanje tumorskih stanica (Parbin i sur. 2014). Zbog utjecaja na veliku količinu raznolikih molekula, djelovanje HDAC može se opisati vrlo raznolikim mehanizmima među kojima su ključni represija ekspresije tumor supresor gena i modifikacija molekula vezanih za onkogeni signalni put (Li i Seto, 2016). Važno je napomenuti kako stvaranje malignih stanica ne mora biti nužno povezano s ekspresijom HDAC, već uzrok može biti i njihovo abnormalno djelovanje (West i Johnstone, 2014). Takav se učinak očituje u povezivanju HDAC za represorske proteine čime se takvi kompleksi mogu vezati na određene gene i djelovati onkogeno (Li i Seto, 2016). Ovakvu raznoliku aktivnost HDAC znanstvenici su pokušali riješiti inhibitorima HDAC, no na tom putu su naišli na određene prepreke. Naime, u određenim slučajevima i inaktivacija HDAC dovodi do tumorigeneze (Li i Seto, 2016). Najbolji primjer za to su mutacije HDAC2 u humanim epitelnim stanicama (Li i Seto, 2016). Zbog mutacije u HDAC2 dolazi do nestabilnosti mikrosatelita i gubitka ekspresije enzima čime stanice s takvim mutacijama postaju otporne na tretman HDACi (Roperio i sur. 2006).

Histon deacetilaze su prisutne u različitim stadijima stvaranja malignih stanica i utječu na brojne stanične procese koje će ovaj rad u nastavku detaljnije obraditi.

2.1 Inicijacija tumora

Uklanjanje acetilnih skupina s proteina ključno je za utišavanje tumor supresor gena uključenih u sprječavanju karcinogeneze (Parbin i sur. 2014). Kako bi normalne stanice postale maligne mora doći do promjena u već prije navedenim procesima kao što su proliferacija, smanjena diferencijacija, angiogeneza, apoptoza i dr. Stanice, da bi krenule u proces tumorigeneze, moraju se pojačano dijeliti, tj. proliferirati. Inicijacija proliferacije zasniva se na utišavanju p21 i p27, koji su inhibitori ciklin ovisnih kinaza (Parbin i sur. 2014).

Nadalje, inicijacija tumora ovisi i o transformirajućem čimbeniku rasta beta (engl. *transforming growth factor-β*, TGF-β) čija je uloga signaliziranje molekula uključenih u inhibiciju rasta (Parbin i sur. 2014). U odnosu na normalne stanice, maligne stanice se očituju smanjenom koncentracijom receptora za TGF-β što je posljedica izrazito kondenziranog kromatina TGF-β promotora (Parbin i sur. 2014). Takva se kondenziranost javlja uslijed male količine acetiliranih mjesta H3 i H4 što najčešće rezultira nekontroliranim rastom stanica i pojavom raka pluća (Osada i sur. 2001). Razlog niske ekspresije TGF-β receptora znanstvenici su pronašli u putu koji povezuje mitogen aktivirane protein kinaze i kinaze regulirane izvanstaničnim signalima (engl. *mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase pathway*, MAPK/ERK) (Halder i sur. 2011). Takav put je aktiviran ili uz pomoć Ras proteina ili epidermalnog čimbenika rasta (engl. *epidermal growth factor*, EGF) koji su pod kontrolom histon deacetilaze (Halder i sur. 2011). Lijek za opisano stanje pronađen je u kemijskom spoju Triostatina A (engl. *Trichostatin-A*, TSA) koji potiče opušteniju formaciju kromatina i ekspresiju TGF-β receptora (Osada i sur. 2001).

2.2 Smanjena diferencijacija

Pravilna regulacija i ekspresija proteina povezanih s diferencijacijom stanica važni su za sprječavanje abnormalnog razvoja stanica. Među njima je i Runx1-ETO, transkripcijski čimbenik nastao traslokacijom 8 i 21 kromosoma (Parbin i sur. 2014). Njegova aktivnost se očituje u poremećenoj regulaciji ekspresije gena važnih za normalnu diferencijaciju i proliferaciju hematopoetskih stanica (Parbin i sur. 2014). Kao posljedica toga dolazi do formiranja malignih stanica i razvitka kronične mijeloične leukemije u čemu, kao posrednik, sudjeluju represorski kompleksi sačinjeni od HDAC (Parbin i sur. 2014). Ovakvi proteini nastali traslokacijom, uzrok su nepravilnih interakcija HDAC i regulatornih regija gena koje dodatno stimuliraju tumorigenezu i pojavu akutnih zdravstvenih stanja (Parbin i sur. 2014).

2.3 Stanični ciklus

Kao što je već prije spomenuto, HDAC predstavljaju važnu kariku u dijeljenju stanica samim time utječući na cjelokupni proces staničnog ciklusa. Učinak HDAC na stimuliranje stanične proliferacije može biti dokinut njihovom inhibicijom (Li i Seto, 2016). Utišavanje rada HDAC postiže se pojačanim izlučivanjem inhibitora ciklin ovisnih kinaza (engl. *cyclin-dependent kinase*, CDK) ili smanjenim izlučivanjem ciklina i CDK, što dovodi do zaustavljanja staničnog ciklusa u G1 fazi (Chun 2015). Neki HDACi funkcioniraju na način da utječu na kontrolne točke sprječavajući prijelaz iz G1 u S fazu ciklusa (Li i Seto, 2016). U liječenju su vrlo korisni inhibitori HDAC1 čime se sprječava prijelaz stanice u M fazu, na taj način se smanjuje omjer stanica koje proliferiraju u odnosu na one u apoptozi (Senese i sur. 2007).

Važno je napomenuti kako HDAC može djelovati na stanični ciklus i putevima neovisnim o transkripciji što je nabolje predstavljeno primjerom HDAC3 (Li i Seto, 2016). HDAC3 uklanja acetilne skupine s H3 što otvara mogućnost povećanoj fosforilaciji Ser10 i uzrokuje odvajanje heterokromatinskog proteina 1β (engl. *heterokromatin protein 1\beta*, HP1 β) s kromosoma ometajući normalno odvijanje mitoze (Li i sur. 2006). S druge strane, smanjenjem HDAC3 dolazi do acetilacije ciklina A i čini ga povoljnim za razgradnju (Li i Seto, 2016). Ovo je još jedan pokazatelj uključenosti HDAC u stanični ciklus jer je ciklin A ključna molekula potrebna za odvijanje S faze i prijelaz stanica iz G2 u M fazu staničnog ciklusa (Vidal-Laliena i sur. 2013). Razmatrajući ovakvu ulogu HDAC vidimo kako je njihova prisutnost u ciklusu stanica koje se moraju brzo dijeliti od ključne važnosti te nije začuđujuće što predstavljaju glavninu interesa u razvoju tretmana protiv takvih procesa.

2.4 Apoptoza

Proteini uključeni u proces apoptoze, programirane stanične smrti, također podliježu učincima deacetilaza. Tumorske stanice, u pravilu, imaju modificirane apoptotske proteine takve da stanica izbjegava ući u apoptozu što je prepoznato kao dobra točka regulacije i sprječavanja tumorigeneze. Metoda liječenja zasniva se na korištenju HDACi koji induciraju apoptozu vanjskim i unutarnjim putevima te pojačavaju osjetljivost same stanice (Li i Seto, 2016).

Vanjski signalni putevi apoptoze temelje se na povećanju koncentracije receptora i liganda koji sudjeluju u signalizaciji stanične smrti (Zhang i Zhong, 2014). Inhibicijom HDAC dolazi do smanjenog izlučivanja antiapoptotskih proteina i povećane koncentracije proapoptotskih proteina što dovodi do aktivacije unutarnjih puteva (Zhang i Zhong, 2014). Takvi anti- i proapoptotski proteini uključeni u unutarnji signalni put pripadaju velikoj skupini Bcl-2 proteina (Zhang i Zhong, 2014). Primjer korištenja Bcl-2 proteina u liječenju tumora pronađen je u stanicama raka pluća u kojima, prilikom inhibicije HDAC2,

dolazi do njihove supresije te aktivacije p53 i Bax proteina čime je rast tumorskih stanica stavljen pod kontrolu (Jung i sur. 2012).

Brojni dokazi upućuju i na neospornu važnost HDAC5 u procesu apoptoze. Naime, HDAC5 nužna je za održavanje strukture heterokromatina koja sprječava ulazak malignih stanica u apoptozu (Parbin i sur. 2014). Iz tog razloga, inhibicijom rada deacetilaze dolazi do narušavanja strukture heterokromatina i povećava se mogućnost oštećenja DNA, glavnog inicijatora stanične smrti (Peixoto i sur. 2012).

2.5 Popravak lomova DNA

Još u prošlim poglavljima je bilo govora o utjecaju HDAC na strukturu kromatina i regulaciji aktivnosti, kako histonskih tako i nehistskih proteina. Po istom principu, regulirajući stupanj acetilacije, HDAC sudjeluju i u popravcima oštećene DNA (engl. *in DNA-damage repair*, DDR) preko specifičnih proteina (Li i Zhu, 2014). Postoji mnogo čimbenika koji uzrokuju DDR, a kada se jedan dogodi stanica pokušava što prije popraviti takav propust. Najčešće u popravcima sudjeluju HDAC1 i HDAC2 deacetilirajući histone H3K56 i H4K16 blizu oštećenog mjesta čime se potiče nehomologno spajanje puknutih krajeva (engl. *nonhomologous end-joining*, NHEJ) (Miller i sur. 2010). Po uzoru na već obrađene uloge HDAC, i ovdje je naglasak na nesmetan rast i prekomjerno dijeljenje tumorskih stanica.

Zbog poremećenih kontrolnih mehanizama, pri proliferaciji tumorskih stanica dolazi do stvaranja brojnih dvostrukih lomova (engl. *double-strand break*, DSB) koje HDAC popravljaju ne uzimajući u obzir smislenost sekvenci DNA nakon popravka (Li i Seto, 2016). HDAC uključene u popravke najčešće pripadaju razredu II, a njihovom inhibicijom bit će inhibirani i procesi popravka DSB stvarajući tako stanicu koja je osjetljivija na ionizirajuće zračenje i tvari koje induciraju apoptozu (Koprinarova i sur. 2011). Kako bi sačuvala cjelovitost, tumorske stanice su razvile način popravka krivo sparenih krajeva DNA preko MutS proteina, jednog od ključnih proteina uključenih u ovakav sustav popravka čiju aktivnost reguliraju HDAC razreda II (Li i Seto, 2016). Regulacija se najčešće odvija preko HDAC6 i HDAC10 koje na različite načine održavaju stabilnost DNA (Li i Seto, 2016). Naime, HDAC6 deacetilira MutS protein čime DNA postaje otpornija na lomove, a samim time je potrebna i manja akumulacija proteina uključenih u njezin popravak (Zhang i sur. 2014). S druge strane, HDAC10 deacetilacijom MutS proteina inducira pojačanu aktivnost proteina uključenih u popravak DNA (Radhakrishnan i sur. 2015).

Sirtuini su, kao vrlo specifična skupina deacetilaza, također prisutni u procesu popravka DNA. Njihova uloga očituje se u signaliziranju oštećenja, samom popravku DNA i induciranju stanične smrti (Gorospe i de Cabo, 2008). Ključan sirtuin je SIRT1 koji deacetilira p53 omogućujući nesmetano odvijanje staničnog ciklusa malignih stanica i nakon loma DNA (Luo i sur. 2001; Vaziri i sur. 2001). U odgovoru na oštećenja DNA, SIRT1 podliježe forforilaciji i ubikvinizaciji što znatno utječe na njegovu deacetilaznu aktivnost (Li

i Seto, 2016). Forforilacija je, kao postranslacijska modifikacija, ključna jer nakon nje dolazi do inaktivacije deacetilazne aktivnosti SIRT1 na p53, što dovodi aktiviranja apoptotičke aktivnosti samog p53 (Conrad i sur. 2015). Sukladno tome, u ubikvitinizaciji sudjeluje MutS protein MDM2 koji remeti aktivnost SIRT1 u procesu popravka DNA (Peng i sur. 2015). Regulirajući popravke nakon izrezivanja baza, SIRT6 također pridonosi stabilnosti DNA (Mostoslavsky i sur. 2006). Uzevši u obzir specifičnost sirtuina i njihovu uključenost u brojne stanične putove oni predstavljaju ključnu kariku u tretmanu protiv tumorigeneze.

2.6 Metastaziranje

Ključ prema normalnom razvijanju i dijeljenju stanica je njihova interakcija s vanstaničnim prostorom te sa stanicama koje ih okružuju. Tijekom tumorigeneze dolazi do poremećaja ovakvih interakcija što za posljedicu ima metastaziranje (Parbin i sur. 2014), odnosno nekontrolirano širenje malignih stanica dalje od mjesta nastanka tumora. Znanstvenici su pronašli brojna mjesta regulacije ovog procesa, uzimajući u obzir ključne molekule vezane za staničnu invaziju, koja će u nastavku biti razjašnjena.

Prvo valja spomenuti cistatin, čija je uloga inhibitora peptidaza jedna od ključnih meta HDAC1 (Parbin i sur. 2014). Njihova deacetilazna aktivnost inhibira djelovanje citostatina, omogućujući nekontrolirano metastaziranje (Parbin i sur. 2014). Tretmani u borbi protiv ovakvih procesa temelje se na inhibiciji HDAC1 što dovodi do pojačane sinteze citostatina i inhibicije metastaze (Whetstone i sur. 2005).

Sljedeća važna sastavnica, uključena u adheziju stanica, je E-kadherin (engl. *epithelial cadherin*, CDH1) čijom se inhibicijom inicira proces pretvorbe epitelnih u mezenhimske stanice (engl. *epithelial-to-mesenchymal transition*, EMT) (Parbin i sur. 2014). Inhibicija CDH1 odvija se indirektno djelovanjem HDAC na proteine uključene u utišavanje transkripcije (Parbin i sur. 2014), točnije njezinim vezanjem na CDH1 promtor i deacetiliranjem H3 i H4 histona (Li i Seto, 2016). Liječenje ovakvih abnormalnosti zasniva se na korištenju HDACi panobinostat koji potiče pojačano izlučivanje CDH1 i sprječava metastaziranje stanica, primjerice raka dojke (Li i Seto, 2016).

Važnost mobilnosti same stanice povezana je s aktivnosti brojnih proteina kao što su tubulini. U normalnim stanicama prevladavaju hiperacetilirani mikrotubuli, što vrlo brzo može biti poremećeno preizraženom aktivnosti HDAC6 (Parbin i sur. 2014). Takav poremećaj u acetilacijskoj homeostazi dovodi do povećanja dinamičnosti mikrotubula i nekontroliranog širenja stanica (Matsuyama i sur. 2002).

Za razjašnjavanje uloge sirtuina u procesu metastaziranja, važno je definirati vrstu tumorskih stanica (Li i Seto, 2016). Uzmemo li za primjer stanice raka prostate, sirtuini će inducirati prekomjerno širenje stanica raka u suradnji s ZEB1 proteinima, transkripcijskim supresorima, utišavajući transkripciju CDH1 (Byles i sur. 2012). Suprotno tome, djelovanje SIRT1 u stanicama raka dojke je pod negativnom kontrolom

onokgena miR-200a što znači da smanjenim djelovanjem miR-200a dolazi do povećane aktivnosti SIRT1 i supresije ETM (Eades i sur. 2011).

2.7 Angiogeneza

Isto kao i normalne stanice, tumorske stanice također trebaju nutrijente i kisik za rast i razvoj. Zbog povećanog staničnog metabolizma i proliferacije, dopremanje istih mora biti povećano, što je omogućeno stvaranjem novih krvnih žila, tj. procesom angiogeneze (Parbin i sur. 2014). Nove krvne žile stvaraju se kao odgovor na hipoksične uvjete u tumorskim stanicama i prevelike koncentracije CO₂ (Parbin i sur. 2014), a takvo je stanje najčešće povezano s deacetilanim aktivnostima HDAC1, 2 i 3 (Kim i sur. 2001; Kim i sur. 2007).

Regulator signaliziranja hipoksičnih uvjeta je protein zvan inducibilni faktor hipoksije-1 α (engl. *hypoxia inducible factor-1 α* , HIF-1 α) i kao takav, pri normalnim uvjetima, biva acetiliran i spreman za degradaciju (Parbin i sur. 2014). U trenutku hipoksije, HIF-1 α je potrebno stabilizirati deacetilacijom uz pomoć HDAC1 i 3, pri čemu dolazi do povećane aktivnosti samog HIF-1 α i pojačanog stvaranja endotelnog čimbenika rasta uključenog u angiogenezu (engl. *vascular endothelial growth factor*, VEGF) (Kim i sur. 2007). Za razliku od njih, HDAC5 i HDAC6 ne djeluju direktno na sami HIF-1 α , već njegovu stabilnost reguliraju deacetilacijom njegovih šaperona (Kong i sur. 2006; Chen i sur. 2015). Iz ovoga se, ponovno, može jasno vidjeti kako poremećaji u radu HDAC uvode snažni disbalans u normalnim stanicama pretvarajući ih tako u maligne, tumorske stanice. Naime, neregulirana povećana ekspresija HDAC dovodi do utišavanja, već dobro poznatog, p53 i utišava procese razgradnje HIF-1 α , čime se povećava signalizacija hipoksičnih uvjeta i stimulacija VEGF, a posljedično dolazi i do povećane angiogeneze (Kim i sur. 2001; Yang i sur. 2006).

Liječenje ovakvih promjena u biokemiji stanice zasniva se na korištenju HDACi koji mogu povratiti aktivnost p53, HIF-1 α i VEGF na normalnu razinu, sprječavajući razvoj i uznapredovanje tumorskih stanica (Parbin i sur. 2014).

2.8 Autofagija

Autofagija, na određene načine, pomaže u borbi protiv tumorskih stanica, ali i u njihovom razvijanju. Njezina se uloga najčešće povezuje s uklanjanjem oštećenih stanica i organela, utječući tako na supresiju čimbenika koji mogu potaknuti tumorigenezu (Li i Seto, 2016). S druge strane, autofagija je od iznimne važnosti u tumorskim stanicama jer sudjeluje u uklanjanju stvari korištenih u borbi protiv tumora, čime stanice postaju otporne na tretmane (Zhi i Zhong, 2015).

Histon deacetilaze razreda II vrlo su važne u regulaciji citoplazmatskih proteina povezanih s autofagijom (Koenke i sur. 2015), to se može vidjeti na primjeru HDAC6 koja čini poveznicu između ubikvitin proteasom sustava (engl. *ubiquitin proteasome system*, UPS) i autofagije (Li i Seto, 2016). Ukoliko dođe do stvaranja kompleksa ubikvitina i proteasoma, HDAC6 deacetilira brojne proteine i aktivira se autofagija (Pandey i sur. 2007).

Osim deacetilaza razreda II, važnu ulogu u autofagiji predstavljaju i sirtuini. SIRT1 deacetiliraju brojne proteine koji će zatim aktivirati autofagiju potaknutu gladovanjem stanice (Li i Seto, 2016). S druge strane, SIRT1 u embrijskim stanicama inducira autofagiju uzrokovanu oksidacijskim stresom (Li i Seto, 2016). Još je jedan sirtuin zaslužan za autofagiju i od iznimne je važnosti u zaštiti stanica od toksičnih učinaka stresa i poremećene homeostaze (Papa i Germain, 2014). Radi se o SIRT3, deacetilazi mitohondrija koja inducira autofagiju u odgovoru na oštećenja uzrokovana oksidativnim stresom (Tseng i sur. 2013; Webster i sur. 2013).

3. Uloga HDAC u reguliranju nehistskih proteina

U ovom poglavlju bit će nešto više govora o nehistskim proteinima koji su pod utjecajem histon deacetilaza i kao takvi sudjeluju u staničnim procesima vezanima za stanični ciklus, transkripciju i brojne druge. Reverzibilno uklanjanje acetilnih skupina u ovisnosti o određenim staničnim uvjetima ključno je za regulaciju nehistskih proteina uključenih u transkripciju i održavanje homeostaze. Ključni proteini pod ovakvom regulacijom su transkripcijski čimbenici, a način same deacetilacije lizinskih ostataka opisan je ranije u radu. Ovo poglavlje temeljit će se na aktivnosti proteina ključnih za procese povezane tumorigenezom.

Jedan od takvih je i p53, tumor supresor koji se aktivira acetilacijom kako bi zaštitio stanicu od nekontrolirane proliferacije u stanju staničnog stresa (Luo i sur. 2004). On funkcionira po principu povećanja afiniteta vezanja za oštećenu DNA, posljedično i vezanja ostalih transkripcijskih čimbenika ubrzavajući proces popravka (Prives i Manley, 2001; Luo i sur. 2004). Kako bi prevladala tumorigeneza nad staničnom kontrolom, potrebno je utišati aktivnost p53 deacetilacijskom aktivnosti HDAC čime dolazi do slabljenja afiniteta za DNA (Luo i sur. 2000; Juan i sur. 2000). Po sličnom principu utvrđeno je djelovanje HDAC2 u raku dojki gdje se deacetiliranjem p53 sprječava i njegova sposobnost aktivacije proteina p21, uključenog u antiproliferacijski proces (Parbin i sur. 2014).

Sljedeći u nizu važnih transkripcijskih čimbenika je i GATA1 koji u acetiliranom stanju posreduje u diferencijaciji hematopoetskih stanica (Lamonica i sur. 2006). Poremeti li se acetilacijska homeostaza, HDAC5 vrši prekomjernu deacetilaciju GATA1 proteina (Watamoto i sur. 2003) što dovodi do smanjene diferencijacije stanica te nakupljanja i proliferacije takvih nediferenciranih hematopoetskih stanica od koji nastaju hematološki tumori (Parbin i sur. 2014).

Osim transkripcijskih čimbenika, za napredovanje razvoja malignih stanica od iznimne su važnosti i proteini uključeni u metabolizam stanice koji su također supstrat za brojne deacetilaze (Parbin i sur. 2014).

4. HDAC inhibitori u borbi protiv tumora

Sagledavši sve obrađene uloge histon deacetilaza vidimo kako je njihova regulacija od iznimne važnosti jer i najmanjim poremećajem homeostaze može doći do pogubnih posljedica. Vodeće molekule koje sudjeluju u takvoj regulaciji nazivaju se inhibitorima histon deacetilaza. Ključ njihove uloge temelji se na odupiranju poremećajima acetilacijskog statusa proteina koji se javlja u malignim stanicama na način da pospješuju transkripciju tumor supresor gena uvodeći stanicu u proces apoptoze i pojačane diferencijacije (Li i Seto, 2016). Iako je njihova uloga već prije spominjana, ovo poglavlje će se detaljnije dotaknuti njihove klasifikacije i primjene.

Najprije je potrebno razjasniti mehanizam kojim djeluju. Osnovni princip povezan je s vezanjem inhibitora za cink koji se nalazi na katalitičkom mjestu HDAC (Parbin i sur. 2014), inhibirajući tako njihovu enzimatsku funkciju (Finnin i sur. 1999). Nakon toga potrebno je inducirati acetilaciju proteina kako bi se potaknuo staničan odgovor koji može vratiti acetilacijsku homeostazu u normalu (Parbin i sur. 2014). To je omogućeno interakcijom HDACi i HAT, pri čemu dolazi do acetilacije deacetiliranih lizinskih ostataka histona i vraćanja transkripcije u ravnotežu (Vaissiere i sur. 2008).

Svi inhibitori koji se trenutno koriste kao tretmani ili su u procesu istraživanja mogu se podijeliti u tri grupe: neselektivni HDACi, selektivni HDACi i multifarmakološki HDACi (Li i Seto, 2016).

4.1 Neselektivni HDAC inhibitori

Upotreba neselektivnih inhibitora otvorila je brojna vrata u vidu liječenja tumorskih bolesti jer su na tim inhibitorima provedena najiscrpnija istraživanja (Li i Seto, 2016). Prvi prirodni HDACi bio je Trihostatin A (engl. *Trichostatin-A*, TSA) koji je pokazivao inhibitorna svojstva prema HDAC razredu I, no zbog svojih citotoksičnih svojstava izbačen je iz upotrebe (Vanhaecke i sur. 2004). Kao odgovor na to znanstvenici su počeli koristiti varinostat, prvi odobren inhibitor histon deacetilaza korišten u liječenju T-staničnog limfoma (Li i Seto, 2016). Brojnim testiranjima utvrđeno je kako varinostat inducira programiranu staničnu smrt, utišava staničnu proliferaciju i metastaziranje (Li i Seto, 2016) te čini maligne stanice podložnijima liječenju kemoterapijom (Shi i sur. 2014).

4.2 Selektivni HDAC inhibitori

Selektivni inhibitori, kao što su romidepsin, etinostat i panobinostat (Li i Seto, 2016), djeluju na specifično određene HDAC što ih čini izrazito učinkovitima u liječenju raznih bolesti (Su i sur. 2008). Mogu se podijeliti ovisno o supstratima na koje djeluju, pa tako definiramo selektivne HDACi razreda I i selektivne HDACi razreda II.

HDACi razreda I inhibiraju HDAC1 i HDAC2 u stanicama neuroblastoma izazivajući diferencijaciju i apoptozu stanica (Frumm i sur. 2013). Ciljanjem više različitih HDAC može se postignuti veći spektar posljedica za tumorske stanice. Tako inhibicijom HDAC3 dolazi do prekida replikacije DNA (Wells i sur. 2013), a inhibicijom HDAC8 se povećava stanična selektivnost (Li i Seto, 2016).

Inhibitori HDAC razreda II puno su veća nepoznanica znanstvenicima zbog još nerazjašnjenih mehanizama djelovanja (Li i Seto, 2016). Najproučavanija aktivnost ovih inhibitora vezana je uz HDAC6 pri čemu su se razvili inhibitori tubacin i tubastatin A, no nedovoljno specifični rezultati ovakvih istraživanja onemogućavaju njihovu daljnju uporabu u borbi protiv tumora (Li i Seto, 2016).

4.3 Multifarmakološki HDAC inhibitori

Još jedna metoda koja ima vrlo visok potencijal je multifarmakološko inhibiranje HDAC. Metoda se temelji na korištenju inhibitora koji će simultano djelovati i na HDAC i na brojne druge stanične molekule kao što su proteinski receptori (Li i Seto, 2016), topoizomeraze (Guerrant i sur. 2013), metiltransferaze (Shukla i sur. 2015) i brojne druge. Neki od primjera ovakvih lijekova su CUDC-101 čija su meta tumori dojke, jetre i pluća te romidepsin koji ciljano djeluje na T-stanični limfom (Li i Seto, 2016).

5. Učinkovitost HDAC inhibitora

Kada je riječ o učinkovitosti ovakvih terapija u borbi protiv tumora postoji niz različitih ishoda i tvrdnji, no za sada predstavljaju vrlo dobro rješenje u liječenju hematoloških tumora (Li i Seto, 2016). Znanstvenici još nisu uspjeli pronaći obrazloženje činjenice da HDACi nisu toliko učinkovite u suzbijanju solidnih tumora (Li i Seto, 2016). Jedni predlažu da je to posljedica kratkog vremena djelovanja inhibitora na maligne stanice, pri čemu se oni ne mogu dovoljno dobro raspodjeliti u solidnim tumorima (Li i Seto, 2016). Drugi pak tvrde kako je to zbog neosjetljivosti solidnih tumora na takve inhibitore (Li i Seto, 2016).

Samo uvođenje HDACi u proces liječenja vrlo je složeni proces koji na svome putu od sinteze do korištenja nailazi na brojne prepreke. Prvi problem predstavljen je toksičnim učinkom inhibitora koji se očituje u ranim fazama liječenja (Li i Seto, 2016). Nadalje, inhibicijom HDAC ne utječe se samo na tumor supresore, već i na mnoštvo drugih proteina što može imati opasne posljedice na pacijenta (Guha 2015). Kako bi se spriječile sve negativne posljedice i poboljšalo liječenje tumorskih bolesti, brojni znanstvenici rade na razvijanju novih HDACi s boljim ishodima liječenja, stavljajući naglasak na veću specifičnost i manju toksičnost (Li i Seto, 2016).

6. Metode izučavanja aktivnosti HDAC

Porastom zanimanja za enzime histon deacetilaza, postalo je neophodno razviti nove metode istraživanja njihove aktivnosti (Parbin i sur. 2014). Zastarjele metode se nastoje izbaciti iz uporabe zbog svoje kompliciranosti i korištenja radioaktivno obilježenih histona, najčešće uzimanih iz pilećih retikulocita (Kolle i sur. 1998). Osim zbog korištenja radioaktivnih tvari, ovakve metode su teško izvedive jer se koriste stanični proteini živih organizama koji mogu imati nepredvidive aberacije, npr. anemija, utječući tako na ishod cijelog istraživanja (Parbin i sur. 2014). Uz to, u pitanje se dovodi i moralnost ovakvih postupaka zbog žrtvovanja živih organizama u svrhu istraživanja (Parbin i sur. 2014).

Alternativna metoda pronađena je u korištenju zamjene za histone, odnosno ([3H])-acetiliranih aminosekvenci oligopeptida histon peptidne sekvence (Taunton i sur. 1996). Njihova se deacetilazna aktivnost temelji na brojanju otpuštene [3H]-metilne kiseline koja ima svojstva scintilatora (Parbin i sur. 2014). Iako ova metoda ne koristi radioaktivne tvari, vrlo je dugotrajna i za njezino odvijanje potrebno je imati vrlo napredne laboratorijske uređaje što onemogućava široku primjenu (Parbin i sur. 2014).

Sljedeća metoda razvijena u svrhu praćenja aktivnosti HDAC je homogena analiza histon deacetilaza (engl. *histone deacetylase assay-homogenous*, HDASH) (Parbin i sur. 2014) koja funkcionira po principu utišavanja fluorescentnih signala deacetiliranih supstrata naftalen dikarboksialdehidom (engl. *naphthalene dicarboxaldehyde*, NDA), ostavljajući tako mogućnost praćenja acetiliranih fluorescentnih supstrata (Heltweg i Jung, 2003). Ovakva metoda jedna je od najkorištenijih za nadziranje aktivnosti HDAC razreda I i II, no nedostatak je pronađen u tome što nije pogodna za izučavanje sirtuina zbog njihove neosjetljivosti na NDA (Parbin i sur. 2014).

Zaključak

Istraživanje reverzibilno kovalentno modificiranih histonskih i nehistonskih proteina, u zadnjih je nekoliko godina doseglo svoj vrhunac. Zanimanje brojnih znanstvenika za ovo područje proizašlo je iz mogućnosti liječenja jednih od najakutnijih procesa za zdravlje čovjeka - tumorigeneze. Tumorske se bolesti javljaju kao odgovor na brojne inicijacijske procese koji su pod kontrolom mutiranih ili pojačano eksprimiranih histon deacetilaza. Razjašnjenje i definiranje principa djelovanja katalitičkog mjesta ovih enzima dovelo je do zaključka da se deacetiliranjem histona direktno utječe na strukturu kromatina čineći ga gušće pakiranim i nedostupnim za transkripcijske čimbenike. S druge strane deacetiliranjem nehistonskih proteina utječe se na njihovu aktivnost te posljedično, ponovno, abnormalnu transkripciju gena. Ovakvo važna funkcija koja ima utjecaj kako na cijelu stanicu, tako i na cijeli organizam, nije mogla proći bez da se ne pronade način njezine regulacije u slučaju aberacija. Iz tog se razloga znanstvenici trude razviti što bolji način inhibicije deacetilaza u slučaju njihove prekomjerne aktivnosti. Razvojem kemijskih spojeva kao što su trihostatin A, romidepsin, etinostat, panobinostat i brojnih drugih inhibitora, uspjeli su djelovati na katalitičko mjesto enzima, stoga su takve tvari prozване inhibitori histon deacetilaza. One su jedna od vodećih nada prema rješavanju po život opasnih problema povezanih s tumorima. Iako ima još jako puno nepoznanica u istraživanjima na ovu temu, neiscrpan rad brojnih znanstvenika daje obećavajuće rezultate koji svakim danom daju sve više doprinosa u razvitku boljeg života brojnih ljudi.

Literatura

1. Byles V, Zhu L, Lovaas JD, Chmielewski LK, Wang J, Faller DV, Dai Y. 2012. SIRT1 induces EMT by cooperating with EMT transcription factors and enhances prostate cancer cell migration and metastasis. *Oncogene* 31: 4619–4629
2. Chun P. 2015. Histone deacetylase inhibitors in hematological malignancies and solid tumors. *Arch Pharm Res* 38:933–949
3. Conrad E, Polonio-Vallon T, Meister M, Matt S, Bitomsky N, Herbel C, Liebl M, Greiner V, Kriznik B, Schumacher S, Kriehoff-Henning E, Hofmann TG 2015. HIPK2 restricts SIRT1 activity upon severe DNA damage by a phosphorylation-controlled mechanism. *Cell Death Differ* 23: 110–122
4. Dokmanovic M, Clarke C, Marks PA. 2007. Histone deacetylase inhibitors: overview and perspectives. *Mol Cancer Res* 5:981-989
5. Eades G, Yao Y, Yang M, Zhang Y, Chumsri S, Zhou Q. 2011. miR-200a regulates SIRT1 expression and epithelial to mesenchymal transition (EMT)-like transformation in mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 286: 25992–26002
6. Finnin MS, Donigian JR, Cohen A, Richon VM, Rifkind RA, Marks PA, Breslow R, Pavletich NP. 1999. Structures of a histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors. *Nature* 401:188-193
7. Frumm SM, Fan ZP, Ross KN, Duvall JR, Gupta S, VerPlank L, Suh BC, Holson E, Wagner FF, Smith WB, Paranal RM, Bassil CF, Qi J, Roti G, Kung AL, Bradner JE, Tolliday N, Stegmaier K. 2013. Selective HDAC1/HDAC2 inhibitors induce neuroblastoma differentiation. *Chem Biol* 20: 713–725.
8. Gorospe M, de Cabo R. 2008. AsSIRTING the DNA damage response. *Trends Cell Biol* 18: 77–83
9. Guerrant W, Patil V, Canzoneri JC, Yao LP, Hood R, Oyelere AK. 2013. Dual-acting histone deacetylase-topoisomerase I inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett* 23: 3283–3287.
10. Guha M. 2015. HDAC inhibitors still need a home run, despite recent approval. *Nat Rev Drug Discov* 14: 225–226.
11. Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. 2009. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy. *Nat Rev Genet* 10:32-42
12. Halder SK, Cho YJ, Datta A, Anumanthan G, Ham AJ, Carbone DP, Datta PK. 2011. Elucidating the mechanism of regulation of transforming growth factor beta Type II receptor expression in human lung cancer cell lines. *Neoplasia* 13:912-922.

13. Heltweg B, Jung M. 2003. A homogeneous nonisotopic histone deacetylase activity assay. *J Biomol Screen* 8:89-95
14. Juan LJ, Shia WJ, Chen MH, Yang WM, Seto E, Lin YS, Wu CW. 2000. Histone deacetylases specifically downregulate p53-dependent gene activation. *J Biol Chem* 275:20436-20443.
15. Jung KH, Noh JH, Kim JK, Eun JW, Bae HJ, Xie HJ, Chang YG, Kim MG, Park H, Lee JY, Nam SW 2012. HDAC2 overexpression confers oncogenic potential to human lung cancer cells by deregulating expression of apoptosis and cell cycle proteins. *J Cell Biochem* 113: 2167–2177.
16. Kim MS, Kwon HJ, Lee YM, Baek JH, Jang JE, Lee SW, Moon EJ, Kim HS, Lee SK, Chung HY, Kim CW, Kim KW. 2001. Histone deacetylases induce angiogenesis by negative regulation of tumor suppressor genes. *Nature Med* 7:437-443.
17. Kim SH, Kim KW, Jeong JW. 2007. Inhibition of hypoxia-induced angiogenesis by sodium butyrate, a histone deacetylase inhibitor, through hypoxia-inducible factor-1 α suppression. *Oncol Rep* 17:793-797.
18. Koeneke E, Witt O, Oehme I. 2015. HDAC family members intertwined in the regulation of autophagy: A druggable vulnerability in aggressive tumor entities. *Cells* 4: 135–168
19. Kolle D, Brosch G, Lechner T, Lusser A, Loidl P. 1998. Biochemical methods for analysis of histone deacetylases. *Methods* 15:323-331.
20. Kong X, Lin Z, Liang D, Fath D, Sang N, Caro J. 2006. Histone deacetylase inhibitors induce VHL and ubiquitin-independent proteasomal degradation of hypoxia-inducible factor 1 α . *Mol Cell Biol* 26: 2019–2028
21. Koprinarova M, Botev P, Russev G. 2011. Histone deacetylase inhibitor sodium butyrate enhances cellular radiosensitivity by inhibiting both DNA nonhomologous end joining and homologous recombination. *DNA Repair (Amst)* 10: 970–977.
22. Lamonica JM, Vakoc CR, Blobel GA. 2006. Acetylation of GATA-1 is required for chromatin occupancy. *Blood*. 108:3736-3738.
23. Li Y, Kao GD, Garcia BA, Shabanowitz J, Hunt DF, Qin J, Phelan C, Lazar MA. 2006. A novel histone deacetylase pathway regulates mitosis by modulating Aurora B kinase activity. *Genes Dev* 20: 2566–2579.
24. Li Z, Zhu WG. 2014. Targeting histone deacetylases for cancer therapy: from molecular mechanisms to clinical implications. *Int J Biol Sci* 10: 757–770.
25. Lin HY, Chen CS, Lin SP, Weng JR, Chen CS. 2006. Targeting histone deacetylase in cancer therapy. *Med Res Rev.* 26:397-413.
26. Luo J, Li M, Tang Y, Laszkowska M, Roeder RG, Gu W. 2004. Acetylation of p53 augments its site-specific DNA binding both in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.*101:2259-2264.

27. Luo J, Nikolaev AY, Imai S, Chen D, Su F, Shiloh A, Guarente L, Gu W. 2001. Negative control of p53 by Sir2a promotes cell survival under stress. *Cell* 107: 137–148.
28. Luo J, Su F, Chen D, Shiloh A, Gu W. 2000. Deacetylation of p53 modulates its effect on cell growth and apoptosis. *Nature* 408: 377-381.
29. Matsuyama A, Shimazu T, Sumida Y, Saito A, Yoshimatsu Y, Seigneurin-Berny D, Osada H, Komatsu Y, Nishino N, Khochbin S, Horinouchi S, Yoshida M. 2002. In vivo destabilization of dynamic microtubules by HDAC6-mediated deacetylation. *EMBO J.* 21:6820-6831.
30. Mostoslavsky R, Chua KF, Lombard DB, Pang WW, Fischer MR, Gellon L, Liu P, Mostoslavsky G, Franco S, Murphy MM, Mills KD, Patel P, Hsu JT, Hong AL, Ford E, Cheng HL, Kennedy C, Nunez N, Bronson R, Frendewey D, Auerbach W, Valenzuela D, Karow M, Hottiger MO, Hursting S, Barrett JC, Guarente L, Mulligan R, Demple B, Yancopoulos GD, Alt FW. 2006. Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6. *Cell* 124:315–329
31. Muller BM, Jana L, Kasajima A, Lehmann A, Prinzler J, Budczies J, Winzer KJ, Dietel M, Weichert W, Denkert C. 2013. Differential expression of histone deacetylases HDAC1, 2 and 3 in human breast cancer—overexpression of HDAC2 and HDAC3 is associated with clinicopathological indicators of disease progression. *BMC Cancer* 13:215.
32. Osada H, Tatematsu Y, Masuda A, Saito T, Sugiyama M, Yanagisawa K, Takahashi T. 2001. Heterogeneous transforming growth factor (TGF)-beta unresponsiveness and loss of TGF-beta receptor type II expression caused by histone deacetylation in lung cancer cell lines. *Cancer Res* 61:8331-8339.
33. Pandey UB, Nie Z, Batlevi Y, McCray BA, Ritson GP, Nedelsky NB, Schwartz SL, DiProspero NA, Knight MA, Schuldiner O, Padmanabhan R, Hild M, Berry DL, Garza D, Hubbert CC, Yao TP, Baehrecke EH, Taylor JP. 2007. HDAC6 rescues neurodegeneration and provides an essential link between autophagy and the UPS. *Nature* 447: 859–863.
34. Papa L, Germain D. 2014. SirT3 regulates the mitochondrial unfolded protein response. *Mol Cell Biol* 34: 699–710. Parbin S, Kar S, Shilpi A, Sengupta D, Deb M, Rath SK, Patra SK. 2014. Histone deacetylases: A saga of perturbed acetylation homeostasis in cancer. *J Histochem Cytochem* 62:11–33.
35. Parbin S, Kar S, Shilpi A, Sengupta D, Deb M, Rath SK, Patra SK. 2014. Histone deacetylases: A saga of perturbed acetylation homeostasis in cancer. *J Histochem Cytochem* 62: 11–33.
36. Parbin S, Kar S, Shilpi A, Sengupta D, Deb M, Rath SK, Patra SK. 2014. Histone deacetylases: A saga of perturbed acetylation homeostasis in cancer. *J Histochem Cytochem* 62:11–33.

37. Peixoto P, Castronovo V, Matheus N, Polese C, Peulen O, Gonzalez A, Boxus M, Verdin E, Thiry M, Dequiedt F, Mottet D. 2012. HDAC5 is required for maintenance of pericentric heterochromatin, and controls cell-cycle progression and survival of human cancer cells. *Cell Death Differ* 19:1239-1252
38. Peng L, Yuan Z, Li Y, Ling H, Izumi V, Fang B, Fukasawa K, Koomen J, Chen J, Seto E. 2015. Ubiquitinated sirtuin 1 (SIRT1) function is modulated during DNA damage-induced cell death and survival. *J Biol Chem* 290: 8904–8912.
39. Prives C, Manley JL. 2001. Why is p53 acetylated? *Cell* 107:815-818.
40. Radhakrishnan R, Li Y, Xiang S, Yuan F, Yuan Z, Telles E, Fang J, Coppola D, Shibata D, Lane WS, Zhang Y, Zhang X, Seto E. 2015. Histone deacetylase 10 regulates DNA mismatch repair and may involve the deacetylation of MutS homolog 2. *J Biol Chem* 290: 22795–22804.
41. Ropero S, Fraga MF, Ballestar E, Hamelin R, Yamamoto H, Boix-Chornet M, Caballero R, Alaminos M, Setien F, Paz MF, Herranz M, Palacios J, Arango D, Orntoft TF, Aaltonen LA, Schwartz S, Esteller M. 2006. A truncating mutation of HDAC2 in human cancers confers resistance to histone deacetylase inhibition. *Nat Genet* 38: 566–569.
42. Saha RN, Pahan K. 2006. HATs and HDACs in neurodegeneration: a tale of disconcerted acetylation homeostasis. *Cell Death Differ.* 13:539-550.
43. Senese S, Zaragoza K, Minardi S, Muradore I, Ronzoni S, Passafaro A, Bernard L, Draetta GF, Alcalay M, Seiser C, Chiocca S. 2007. Role for histone deacetylase 1 in human tumor cell proliferation. *Mol Cell Biol* 27: 4784–4795.
44. Shi W, Lawrence YR, Choy H, Werner-Wasik M, Andrews DW, Evans JJ, Judy KD, Farrell CJ, Moshel Y, Berger AC, Bar-Ad V, Dicker AP. 2014. Vorinostat as a radiosensitizer for brain metastasis: A phase I clinical trial. *J Neurooncol* 118: 313–319.
45. Shogren-Knaak M, Ishii H, Sun JM, Pazin MJ, Davie JR, Peterson CL. 2006. Histone H4-K16 acetylation controls chromatin structure and protein interactions. *Science.* 311:844-847.
46. Shukla S, Khan S, Kumar S, Sinha S, Farhan M, Bora HK, Maurya R, Meeran SM. 2015. Cucurbitacin B alters the expression of tumor-related genes by epigenetic modifications in NSCLC and inhibits NNK-induced lung tumorigenesis. *Cancer Prev Res (Phila)* 8: 552–562.
47. Smith BC, Denu JM. 2009. Chemical mechanisms of histone lysine and arginine modifications. *Biochim Biophys Acta* 1789:45-57.
48. Smith BC, Denu JM. 2009. Chemical mechanisms of histone lysine and arginine modifications. *Biochim Biophys Acta* 1789:45-57.
49. Taunton J, Hassig CA, Schreiber SL. 1996. A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p. *Science* 272:408-411.

50. Tseng AH, Shieh SS, Wang DL. 2013. SIRT3 deacetylates FOXO3 to protect mitochondria against oxidative damage. *Free Radic Biol Med* 63: 222–234.
51. Vaissiere T, Sawan C, Herceg Z. 2008. Epigenetic interplay between histone modifications and DNA methylation in gene silencing. *Mutat Res* 659:40-48.
52. Vanhaecke T, Papeleu P, Elaut G, Rogiers V. 2004. Trichostatin A-like hydroxamate histone deacetylase inhibitors as therapeutic agents: toxicological point of view. *Curr Med Chem* 11:1629-1643.
53. Vaziri H, Dessain SK, Ng Eaton E, Imai SI, Frye RA, Pandita TK, Guarente L, Weinberg RA. 2001. hSIR2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell* 107:149–159
54. Watamoto K, Towatari M, Ozawa Y, Miyata Y, Okamoto M, Abe A, Naoe T, Saito H. 2003. Altered interaction of HDAC5 with GATA-1 during MEL cell differentiation. *Oncogene*. 22:9176-9184.
55. Webster BR, Scott I, Han K, Li JH, Lu Z, Stevens MV, Malide D, Chen Y, Samsel L, Connelly PS, Daniels MP, McCoy Jr JP, Combs CA, Gucek M, Sack MN. 2013. Restricted mitochondrial protein acetylation initiates mitochondrial autophagy. *J Cell Sci* 126: 4843–4849.
56. Wells CE, Bhaskara S, Stengel KR, Zhao Y, Sirbu B, Chagot B, Cortez D, Khabele D, Chazin WJ, Cooper A, Jacques V, Rusche J, Eischen CM, McGirt LY, Hiebert SW. 2013. Inhibition of histone deacetylase 3 causes replication stress in cutaneous T cell lymphoma. *PLoS ONE* 8:e68915.
57. West AC, Johnstone RW. 2014. New and emerging HDAC inhibitors for cancer treatment. *J Clin Invest* 124: 30–39
58. Whetstine JR, Ceron J, Ladd B, Dufourcq P, Reinke V, Shi Y. 2005. Regulation of tissue-specific and extracellular matrix-related genes by a class I histone deacetylase. *Mol Cell*. 18:483-490.
59. Yang FC, Tan BC, Chen WH, Lin YH, Huang JY, Chang HY, Sun HY, Hsu PH, Liou GG, Shen J, Chang CJ, Han CC, Tsai MD, Lee SC. 2013. Reversible acetylation regulates salt-inducible kinase (SIK2) and its function in autophagy. *J Biol Chem* 288: 6227–6237
60. Yang QC, Zeng BF, Shi ZM, Dong Y, Jiang ZM, Huang J, Lv YM, Yang CX, Liu YW. 2006. Inhibition of hypoxia-induced angiogenesis by trichostatin A via suppression of HIF-1 α activity in human osteosarcoma. *J Exp Clin Cancer Res* 25:593-599
61. Yang XJ, Gregoire S. 2007. Metabolism, cytoskeleton and cellular signalling in the grip of protein Nepsilon – and O-acetylation. *EMBO Rep*. 8:556-562
62. Yixuan Li and Edward Seto. 2016. HDACs and HDAC Inhibitors in Cancer Development and Therapy. George Washington University Cancer Center, Department of Biochemistry and Molecular Medicine, George Washington University, Washington, DC 20037
63. Zhang J, Zhong Q. 2014. Histone deacetylase inhibitors and cell death. *Cell Mol Life Sci* 71: 3885–3901

64. Zhang M, Xiang S, Joo HY, Wang L, Williams KA, Liu W, Hu C, Tong D, Haakenson J, Wang C, Zhang S, Pavlovicz RE, Jones A, Schmidt KH, Jinfu Tang 1, Dong H, Shan B, Fang B, Radhakrishnan R, Glazer PM, Matthias P, Koomen J, Seto E, Bepler G, Nicosia SV, Chen J, Li C, Gu L, Li GM, Bai W, Wang H, Zhang X. 2014. HDAC6 deacetylates and ubiquitinates MSH2 to maintain proper levels of MutSa. *Mol Cell* 55: 31–46.
65. Zhi X, Zhong Q. 2015. Autophagy in cancer. *F1000Prime Rep* 7: 18.

Životopis

Rođena sam u Zagrebu 05.02.2002. godine. Nakon završene Osnovne škole Većeslava Holjevca, 2016. godine, upisujem Prirodoslovnu školu Vladimira Preloga smjer prirodoslovna gimnazija. Maturirala sam 2020. godine prilikom čega upisujem preddiplomski studij Biologija na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu. Zahvaljujući uspjesima na ispitima državne mature, u akademskoj godini 2020./2021. dobivam STEM stipendiju Ministarstva znanosti i obrazovanja. Pravo na stipendiju ostvarujem i naredne akademske godine 2021./2022. zbog uspjeha na fakultetu. Tijekom treće godine svojeg fakultetskog obrazovanja volontiram na Danu karijera PMF-a (WISE) te sudjelujem u radionicama povodom Dana i noći PMF-a. Uz fakultet profesionalno se bavim plesom, a svoje slobodno vrijeme volim iskorištavati radeći i stječući nova znanja i vještine.