

# Veza između inhibicije translezijske sinteze i uspješnije kemoterapije

---

Šimić, Marija

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

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:217:267270>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-22**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET  
BIOLOŠKI ODSJEK

MARIJA ŠIMIĆ

**VEZA IZMEĐU INHIBICIJE TRANSLEZIJSKE SINTEZE I USPJEŠNIJE  
KEMOTERAPIJE**

**INHIBITION OF TRANSLESION SYNTHESIS IN CHEMOTHERAPY**

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, 2021.

Ovaj rad je izrađen na Zavodu za molekularnu biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod voditeljstvom izv. prof. dr. sc. Ivane Ivančić Baće.

# SADRŽAJ

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD .....  | 1  |
| 2. TRANSLEZIJSKA SINTEZA .....   | 1  |
| 2.1. Opće značajke translezijske sinteze i njezin značaj kod ljudi ..... | 1  |
| 2.2. Polimeraze translezijske sinteze .....                              | 2  |
| 2.3. Mehanizam i regulacija translezijske sinteze kod eukariota.....     | 3  |
| 3. ULOGA TRANSLEZIJSKE SINTEZE U RAZVOJU TUMORA I KEMOTERAPIJI .....     | 5  |
| 3.1. Značaj translezijske sinteze u razvoju tumora .....                 | 5  |
| 3.2. Kemoterapija i kemorezistencija .....                               | 6  |
| 3.3. Značaj translezijske sinteze u stjecanju kemorezistencije .....     | 7  |
| 4. INHIBICIJA TRANSLEZIJSKE SINTEZE .....                                | 8  |
| 4.1. Inhibitori katalitičke aktivnosti TLS polimeraza .....              | 8  |
| 4.2. Inhibitori interakcija unutar translesoma .....                     | 10 |
| 4.3. Inhibitori regulacijskih proteina translezijske sinteze .....       | 12 |
| 5. ZAKLJUČAK .....   | 14 |
| 6. LITERATURA .....  | 15 |
| 7. SAŽETAK.....  | 21 |
| 8. SUMMARY .....   | 22 |
| 9. ŽIVOTOPIS .....   | 23 |

## 1. UVOD

Značajan napredak u području onkologije u posljednjem desetljeću uvelike je doprinio većem razumijevanju nastanka i liječenja raka. Otkrivene su promjene u genomu povezane s pojavom i razvojem raka što je omogućilo razvoj novih lijekova i načina liječenja (MacConaill i Garraway 2010). Iako postoje i druge metode, kemoterapija još uvijek ima nezamjenjivu ulogu u liječenju raka. Unatoč tome, učinkovitost kemoterapije je kod mnogih pacijenata manja od očekivane zbog pojave kemorezistencije (Zahreddine i Borden 2013). Neke tipove tumora nije moguće liječiti uslijed njihove intrinzične kemorezistencije, a tumori koji se vraćaju nakon izlječenja često su puno smrtonosniji zbog stečene kemorezistencije. Jedan od glavnih čimbenika koji utječu na postojanje kemorezistencije jest translezijska sinteza (TLS). Polimeraze translezijske sinteze mogu vršiti replikaciju preko DNA lezija i time smanjivati citotoksičnost lijekova, a zahvaljujući njihovoj visokoj stopi pogreške često nastaju mutacije koje mogu biti značajne za stjecanje kemorezistencije (Yamanaka i sur. 2017).

Nakon što je otkriveno da translezijska sinteza ima bitnu ulogu u razvoju raka i pojavi kemorezistencije, inhibitori translezijske sinteze postali su obećavajući potencijalni adjuvansi u kemoterapiji i predmet mnogih istraživanja. U posljednjih deset godina provedeni su brojni uspješni *in vitro* eksperimenti, ali su još potrebna klinička istraživanja prije uporabe u liječenju. Ako se uspješno osmisle učinkoviti i sigurni inhibitori translezijske sinteze, kemoterapija bi mogla biti učinkovitija, broj povrataka tumora smanjen, korištene doze lijekova manje i stope smrtnosti smanjene (Yamanaka i sur. 2017).

## 2. TRANSLEZIJSKA SINTEZA

### 2.1. Opće značajke translezijske sinteze i njezin značaj kod ljudi

Genetički materijal stanice neprekidno je izložen različitim vanjskim i unutarnjim čimbenicima koji uzrokuju oštećenja u DNA. Unutarnji čimbenici uključuju spontanu hidrolizu fosfodieterske i N-glikozidne veze te učestale napade kisikovih radikala koji mogu oštetiti baze i šećernu okosnicu (Prakash i sur. 2005). Još jedan endogeni čimbenik koji može uzrokovati nastanak oštećenja DNA je aktivacija onkogeni (Kotsantis i sur. 2018). Vanjski čimbenici poput Sunčeve svjetlosti i kancerogenih kemijskih spojeva dodatno oštećuju DNA. Iako se lezije u DNA

moгу popraviti ekscizijskim popravkom, ako se popravak ne dogodi lezije predstavljaju prepreku RNA polimerazi u prepisivanju i DNA polimerazi u replikaciji (Prakash i sur. 2005).

Lezije u DNA dovode do zaustavljanja replikacijskih rašlji što uzrokuje replikativni stres. Replikativni stres može prouzročiti nestabilnost genoma koja povećava vjerojatnost pojave raka. Polimeraze translezijske sinteze mogu nastaviti replikaciju preko DNA lezija, smanjujući replikativni stres i nestabilnost genoma u slučaju oštećenja DNA. Doduše, takve polimeraze stvaraju mutacije koje mogu biti evolucijski značajne, ali mogu i doprinijeti razvoju raka (Jansen i sur. 2015). Dakle, ovisno o staničnom kontekstu TLS može potaknuti ili suprimirati razvoj raka.

Važnost translezijske sinteze u zdravlju čovjeka lako je zamijetiti na primjeru pigmentirane kseroderme kože (lat. *xeroderma pigmentosum*). Oboljeli su deficijentni u POL $\eta$ , jednoj od 10 ljudskih DNA polimeraza koje sudjeluju u translezijskoj sintezi. POL $\eta$  ima ulogu u replikaciji preko ciklobutanskih pirimidinskih dimera uzrokovanih UV zračenjem, zbog čega su oboljeli posebno osjetljivi na UV zračenje. Replikaciju preko ciklobutanskih pirimidinskih dimera tada vrše alternativne TLS polimeraze POL $\iota$  i POL $\kappa$  u suradnji s POL $\zeta$ . Navedene polimeraze omogućuju nesmetanu replikaciju u uvjetima oštećenja DNA i time smanjuju citotoksičnost UV zračenja, no sklonije su pogreškama u odnosu na POL $\eta$  i doprinose nakupljanju mutacija u stanici (Ziv i sur. 2009).

## **2.2. Polimeraze translezijske sinteze**

Postoji 10 poznatih ljudskih TLS polimeraza (REV1, POL $\eta$ , POL $\iota$ , POL $\kappa$ , POL $\zeta$ , POL $\mu$ , POL $\lambda$ , POL $\beta$ , POL $\nu$  i POL $\theta$ ) koje se mogu podijeliti u 4 obitelji (Y, B, X i A). Sve su TLS polimeraze sklonije pogreškama u odnosu na replikativne DNA polimeraze, ali zato mogu prelaziti preko DNA lezija ne zaustavljajući replikaciju, čime povećavaju vjerojatnost preživljenja stanice. Unatoč često smanjenoj vjernosti replikacije, pojedine TLS polimeraze mogu prelaziti preko određenih lezija s puno manjom stopom pogreške (Waters i sur. 2009). Primjerice, POL $\eta$  provodi replikaciju preko ciklobutanskih timidinskih dimera pri relativno niskoj stopi pogreške, dok neke druge TLS polimeraze takve lezije prelaze s većom stopom pogreške i nakupljaju više mutacija, kao što je slučaj kod pigmentirane kseroderme kože (Ziv i sur. 2009).

Translezijsku sintezu omogućuju strukturne i biokemijske značajke TLS polimeraza. Za početak, Y porodica TLS polimeraza ima veće i pristupačnije aktivno mjesto koje dozvoljava prelazak preko lezija koje se strukturno razlikuju od pravilno sparenih baza u dvostrukoj zavojnici

DNA. Imaju manje domene palca i prsta čime ostvaruju manje interakcija s DNA i dopuštaju veća odstupanja u strukturi DNA. Također, nedostaje im 3' – 5' egzonukleazna aktivnost (engl. *proofreading*) krivo ugrađenih nukleotida (Yang 2005). Osim strukturnih značajki TLS polimeraza, za translezijsku sintezu ključne su i interakcije TLS polimeraza sa staničnim proteinima. Jedan od takvih proteina je REV1 koji ima potpornu ulogu i ulogu u okupljanju TLS polimeraza na mjesto oštećenja DNA i zaustavljanja replikacije (Yang i Woodgate 2007).

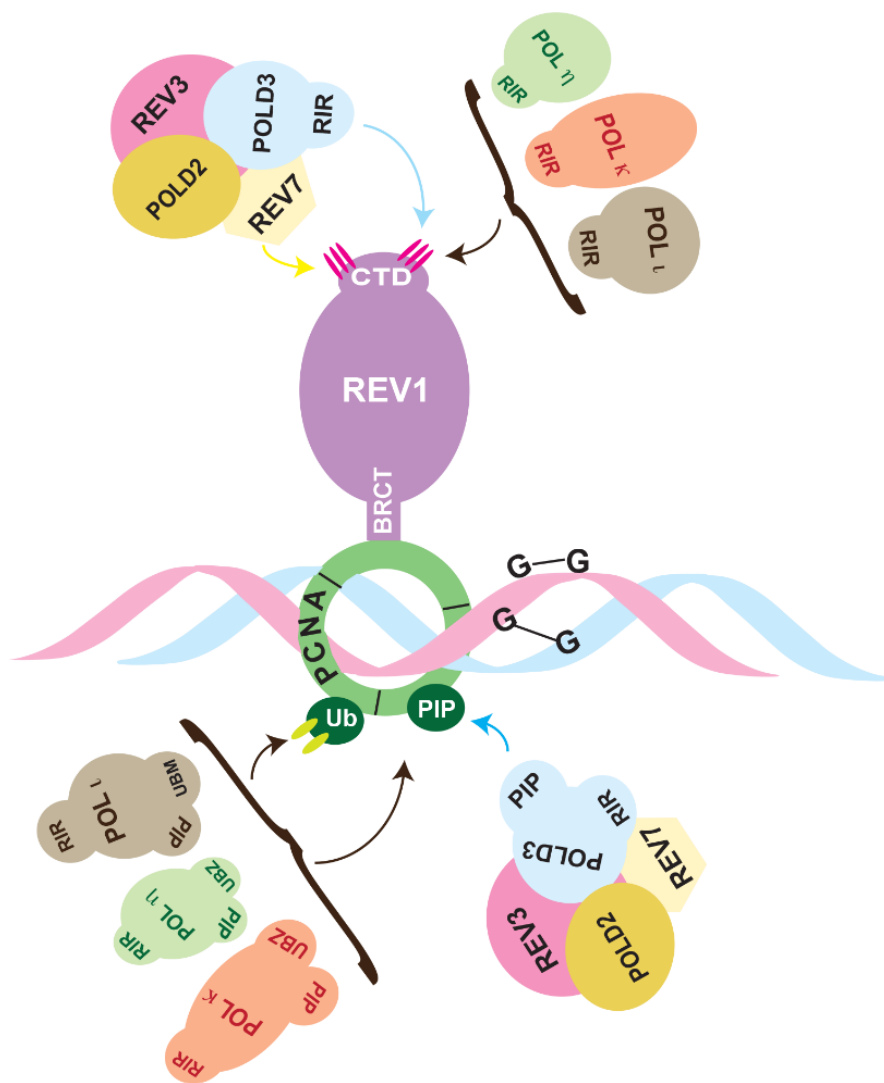
### **2.3. Mehanizam i regulacija translezijske sinteze kod eukariota**

Mehanizam translezijske sinteze kod eukariota moguće je podijeliti na dva koraka: ugradnja nukleotida na mjestu lezije i produljenje lanca. Protein REV1 i polimeraze POL $\eta$ , POL $\iota$  i POL $\kappa$  imaju važnu ulogu u ugradnji nukleotida, dok je POL $\zeta$  važna u koraku produljenja lanca što omogućuje reinicijaciju replikacije. Ako se krivi nukleotid ugradi na mjestu DNA lezije mogu nastati mutacije. Postoje dva puta translezijske sinteze kod eukariota, ovisan o REV1 proteinu i neovisan o REV1 proteinu pri čemu je REV1 ovisan put učestaliji (Yamanaka i sur. 2017). Na Slici 1. prikazane su glavne protein-protein interakcije tijekom translezijske sinteze eukariota.

U REV1 ovisnom putu REV1 protein stupa u interakciju s PCNA (eng. *proliferating cell nuclear antigen*) preko BRCT (eng. *BRCA1 C-terminal*) domene (Pustovalova i sur. 2013). Polimeraze POL $\eta$ , POL $\iota$  i POL $\kappa$  imaju RIR, regiju za interakciju s REV1 (eng. *REV1-interacting region*) kojom mogu stupiti u interakciju s C-terminalnom domenom (CTD) REV1. Polimeraza POL $\zeta$  je holoenzim koji se sastoji od REV3, REV7, POLD2 i POLD3 (Yamanaka i sur. 2017). Navedene polimeraze i proteini tvore višeproteinski kompleks koji se još naziva i translesom (engl. *translesome*) i koji provodi translezijsku sintezu (Shilkin i sur. 2020). Specifičan slijed aminokiselina u REV7 također stupa u interakciju s CTD REV1, ali s drugačijim sučeljem u odnosu na već navedene polimeraze koje sudjeluju u ugradnji nukleotida. Podjedinica POLD3 ima RIR kojom može stupiti u interakciju sa sučeljem CTD REV1 s kojim u koraku ugradnje nukleotida intereagiraju POL $\eta$ , POL $\iota$  i POL $\kappa$  i na taj način označiti konačan prijelaz s početnog koraka ugradnje nukleotida na korak produljivanja lanca pomoću POL $\zeta$  (Yamanaka i sur. 2017).

Put neovisan o REV1 odvija se direktnom interakcijom polimeraza s PCNA. Sve navedene polimeraze, POL $\eta$ , POL $\iota$ , POL $\kappa$  i POL $\zeta$ , intereagiraju s PCNA preko PIP (eng. *PCNA interacting protein*), dok POL $\eta$ , POL $\iota$ , POL $\kappa$  imaju i UBM (eng. *ubiquitin-binding motif*) ili UBZ (eng. *ubiquitin-binding zinc finger*) domene za ubikvitinirani dio PCNA kao što je prikazano na

Slici 1. (Yamanaka i sur. 2017). Ključan događaj u regulaciji ovog puta translezijske sinteze je ubikvitinacija lizina 164 (K164) na PCNA pomoću ubikvitin ligaza RAD18(E3)/RAD6(E2) jer omogućuje preusmjeravanje s replikacijskih na TLS polimeraze (Watanabe i sur. 2004). Jednako bitnu ulogu ima i deubikvitinacijski enzim USP1 (engl. *ubiquitin-specific protease 1*) koji zaustavlja translezijsku sintezu i ponovno pokreće replikaciju (Huang i sur. 2006), ali ima slabu katalitičku aktivnost prije kompleksiranja s UAF1 (engl. *USP1 associated factor 1*) zbog čega je interakcija USP1/UAF1 vrlo važna za pravilnu regulaciju translezijske sinteze (Cohn i sur. 2009).



**Slika 1.** Proteinske interakcije između proteina uključenih u translezijsku sintezu kod eukariota (preuzeto iz Yamanaka i sur. 2017).

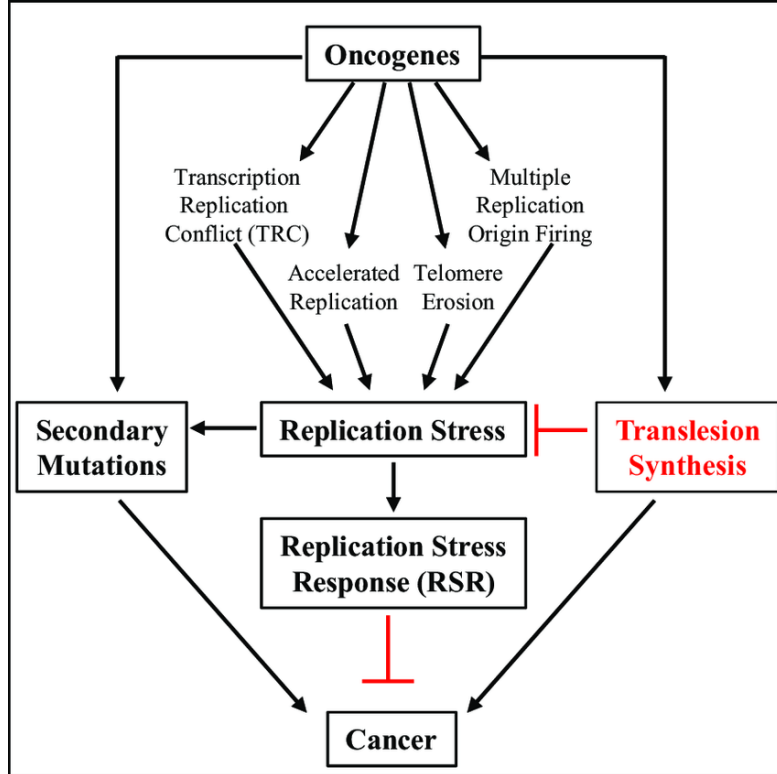


### **3. ULOGA TRANSLEZIJSKE SINTEZE U RAZVOJU TUMORA I KEMOTERAPIJI**

#### **3.1. Značaj translezijske sinteze u razvoju tumora**

Aktivacija onkogeni posljedično dovodi do usporavanja ili ubrzavanja replikacije, induciranja višestrukih izvorišta replikacije, sudara replikacijske i transkripcijske mašinerije i erozije telomera (Kotsantis i sur. 2018). Takve promjene dovode do replikacijskog stresa i nastanka jednolančanih praznina u DNA. Uslijed navedenih staničnih događaja aktivira se RSR, odgovor stanice na replikacijski stres (engl. *replication stress response*). Pri tome se prilagođava dinamika kretanja replikacijskih rašlji (Neelsen i Lopes 2015) i povećava procesivnost popravka što će smanjiti replikacijski stres i omogućiti nastavak proliferacije stanice (Berti i Vindigni 2016). Stanice pod iznimno velikim stresom i s vrlo nestabilnim genomom, poput onih koje bi mogle postati tumorske, pokreću mehanizme stanične smrti (Branzei i Foiani 2010). Zato se postavlja pitanje kako neke stanice uspiju zaobići RSR i nastaviti proliferirati kao tumorske.

Stanica s aktiviranim onkogenima pod replikacijskim stresom može razviti sekundarne mutacije u genima za regulaciju ciklusa i tumor supresorskim genima ili potaknuti translezijsku sintezu (Slika 2.). Aktivacijom translezijske sinteze može se utišati RSR i stanice koje steknu značajke tumorskih stanica ne ulaze u stanje stanične smrti nego se nastavljaju razvijati i dovode do nastanka raka. Sekundarne mutacije također mogu dovesti do poremećaja regulacije ciklusa i funkcije tumor supresorskih gena što također dovodi do pojave raka (Nayak i sur. 2021).



**Slika 2.** Uloga onkogen-induciranog replikacijskog stresa i translezijske sinteze u razvoju raka (preuzeto iz Nayak i sur. 2021).

### 3.2. Kemoterapija i kemorezistencija

Početkom 20. stoljeća radioterapija je bila otkrivena kao učinkovit način liječenja raka. Prvi kemoterapeutici su se počeli koristiti tek 1940 – ih, nakon čega je razvoj kemoterapije doživio uspon i danas je glavna metoda liječenja raka, uz kirurško odstranjivanje i radioterapiju (Chabner i Roberts 2005). Djelovanje većine kemoterapeutika temelji se na zaustavljanju replikacije oštećivanjem DNA u tumorskim stanicama koje se brzo dijele. Ako se ne poprave, oštećenja DNA i zaustavljena replikacija mogu dovesti do stanične smrti. U tu svrhu često se koriste analozi nukleozida, alkilirajuće tvari poput nitrozoureje i derivati platine poput cisplatina (Shilkin i sur. 2020). Replikacijski stres može biti uzrokovan i preuranjenim uvođenjem stanice u S fazu ili stvaranjem sekundarnih struktura u DNA kao što su G kvadripleksi (Bochman i sur. 2012).

Oštećenja DNA onemogućuju rad replikativnih DNA polimeraza, a time i funkcionalnu replikaciju. Stanica može ekscizijskim popravkom popraviti oštećenja u DNA, no u slučaju zasićenja mehanizama popravka aktivira se translezijska sinteza. Translezijska sinteza pomaže u

izvođenju replikacije usprkos DNA lezijama, ali uz veću stopu pogreške što čini izvor velikog broja mutacija (Shilkin i sur. 2020). Obzirom da je primjenom kemoterapeutika stopa oštećenja DNA znatno veća, translezijska sinteza je važan mehanizam za preživljenje tumorskih stanica. Translezijska sinteza smanjuje osjetljivost tumorskih stanica na kemoterapeutike, dok mutacije nastale tijekom translezijske sinteze mogu dovesti do pojave kemorezistencije (Yamanaka i sur. 2017).

Kemorezistencija se može podijeliti na intrinzičnu i stečenu. Neke tumorske stanice imaju intrinzičnu, nasljeđenu toleranciju na određene antitumorske lijekove. Tolerancija na lijekove se često očituje u obliku izbacivanja lijeka iz stanice i procesima detoksifikacije, odnosno smanjivanjem unutarstanične koncentracije lijeka. Stanica također može ublažiti citotoksični učinak lijekova boljim odgovorom na oštećenu DNA ili toleriranjem oštećenja DNA. S druge strane, stečena kemorezistencija posljedica je mutacijskih ili epigenetičkih promjena pri čemu stanica razvije svojstva intrinzično otporne tumorske stanice. Prema tome, sposobnost toleriranja oštećenja DNA prilikom replikacije translezijskom sintezom od velike je važnosti za intrinzičnu kemorezistenciju, dok je veća stopa pogreške polimeraza translezijske sinteze važna za stečenu kemorezistenciju zbog velikog broja mutacija (Yamanaka i sur. 2017). Dakle, translezijska sinteza može dovesti do razvoja tumorskog tkiva smanjivanjem onkogen-induciranog replikacijskog stresa, ali i do kemorezistencije kod već postojećih tumorskih stanica smanjivanjem citotoksičnosti kemoterapeutika i induciranjem mutacija.

### **3.3. Značaj translezijske sinteze u stjecanju kemorezistencije**

Smanjenjem ekspresije (engl. *knock-down*) gena koji su uključeni u translezijsku sintezu i zatim tretiranje tumorskih stanica kemoterapeuticima može biti dobar pokazatelj značaja translezijske sinteze u odgovoru tumorskih stanica na kemoterapiju. Smanjenje ekspresije *POLH* koji kodira za  $POL\eta$  dvostruko smanjuje učinkovitost translezijske sinteze nasuprot lezija uzrokovanih cisplatinom (Shachar i sur. 2009). Otkriveno je da visoke razine ekspresije *POLH* uzrokuju otpornost na cisplatinu kod stanica raka jajnika, pluća i mokraćnog mjehura u kulturi, dok smanjenje njegove ekspresije povećava osjetljivost stanica raka jajnika i pluća na navedeni kemoterapeutik (Srivastava i sur. 2015). Smanjenje ekspresije *POLI* koji kodira za  $POL\iota$  uzrokuje smanjeno preživljenje stanica tretiranih citarabinom (Yoon i sur. 2019), a gubitak funkcije (engl. *loss of function*)  $POL\kappa$  povećava osjetljivost na mitomicin C (Kanemaru i sur. 2017). Niža

ekspresija *REV3L*, katalitičke podjedinice polimeraze POL $\zeta$ , rezultira velikom osjetljivošću tumorskih stanica na kemoterapeutike (Adachi i sur. 2008). Ujedno, povećana ekspresija *REV7*, regulatorne podjedinice POL $\zeta$ , uzrokuje rezistenciju na radioterapiju i lijek rituksimab (Okina i sur. 2015). Još jedan važan sudionik u translezijskoj sintezi je *REV1* protein čija povećana ekspresija uzrokuje otpornost tumorskih stanica jajnika na cisplatin (Okuda i sur. 2005), a smanjena ekspresija pokazuje regresiju raka pločastih stanica glave i vrata nakon tretmana kemoterapijom i radioterapijom (Rusz i sur. 2017). Navedeni rezultati istraživanja ukazuju na usku povezanost između translezijske sinteze i pojave kemorezistencije. U skladu s time, inhibicija translezijske sinteze zaista bi mogla povećati osjetljivost tumorskih stanica na terapiju, a time i učinkovitost kemoterapije.

#### **4. INHIBICIJA TRANSLEZIJSKE SINTEZE**

Kemorezistencija predstavlja veliki problem u liječenju pojedinih vrsta tumora jer smanjuje citotoksični učinak terapije na tumorske stanice. Obzirom da je translezijska sinteza vrlo važan alat tumorskih stanica u pojavi tolerancije na lijekove, njezinom bi inhibicijom stanice mogle postati osjetljivije na terapiju što povećava stopu preživljenja onkoloških bolesnika. U osmišljavanju inhibitora ključno je poznavanje strukture sudionika i mehanizam rada translezijske sinteze. Pronalazak specifičnih inhibitora mutagene translezijske sinteze otežano je činjenicom da TLS i replikativne polimeraze dijele zajedničke supstrate i interakcije s određenim partnerima kao što je PCNA (Bhat i sur. 2015).

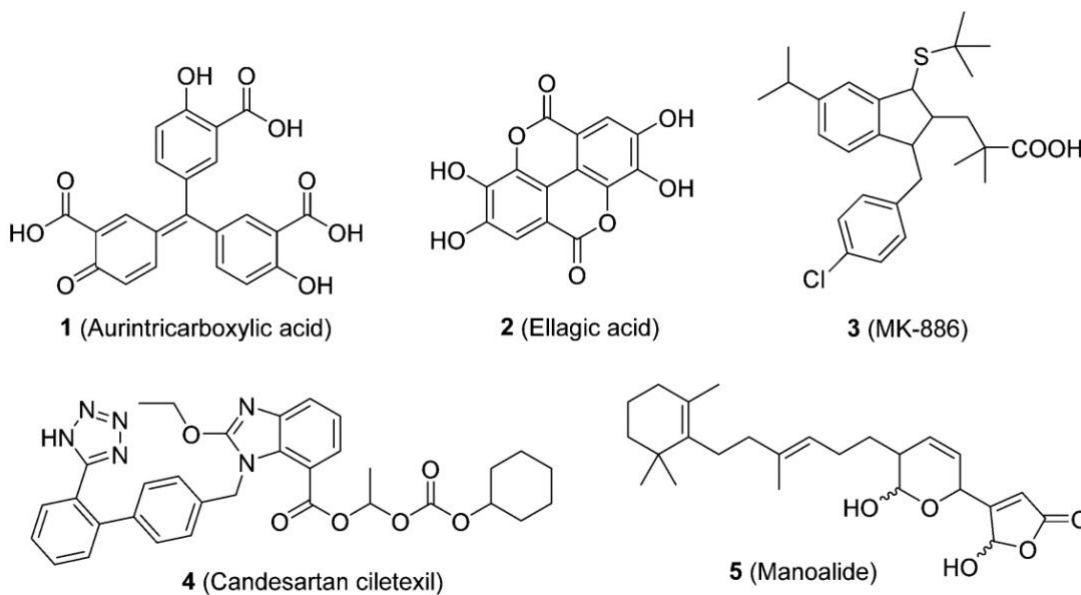
Proučavajući translezijsku sintezu razvile su se tri strategije u dizajnu inhibitora. Inhibitori mogu direktno inhibirati katalitičku aktivnost DNA polimeraza, narušavati ključne protein-protein interakcije između komponenti translesoma (engl. *translesome*), višeproteinskog kompleksa koji sudjeluje u translezijskoj sintezi ili inhibirati neke proteine koji sudjeluju u regulaciji translezijske sinteze poput onih koji ubikvitiniraju ili deubikvitiniraju PCNA (Shilkin i sur. 2020).

##### **4.1. Inhibitori katalitičke aktivnosti TLS polimeraza**

Obzirom da su TLS polimeraze glavni sudionici u translezijskoj sintezi njihovom bi inhibicijom citotoksični učinak kemoterapeutika trebao biti veći i mogućnost nastanka mutacija koje mogu dovesti do kemorezistencije manja. Naime, specifične inhibitore polimeraza

translezijske sinteze nije lako pronaći obzirom da različite DNA polimeraze imaju vrlo slične katalitičke mehanizme. Doduše, strukturna raznolikost aktivnih mjesta TLS polimeraza iz Y-porodice i strukturne razlike u aktivnom mjestu između TLS i replikativnih polimeraza ukazuju da bi specifičnost inhibitora, koji pogađaju upravo TLS polimeraze, mogla biti dovoljno velika za njihovu sigurnu upotrebu (Pata 2010).

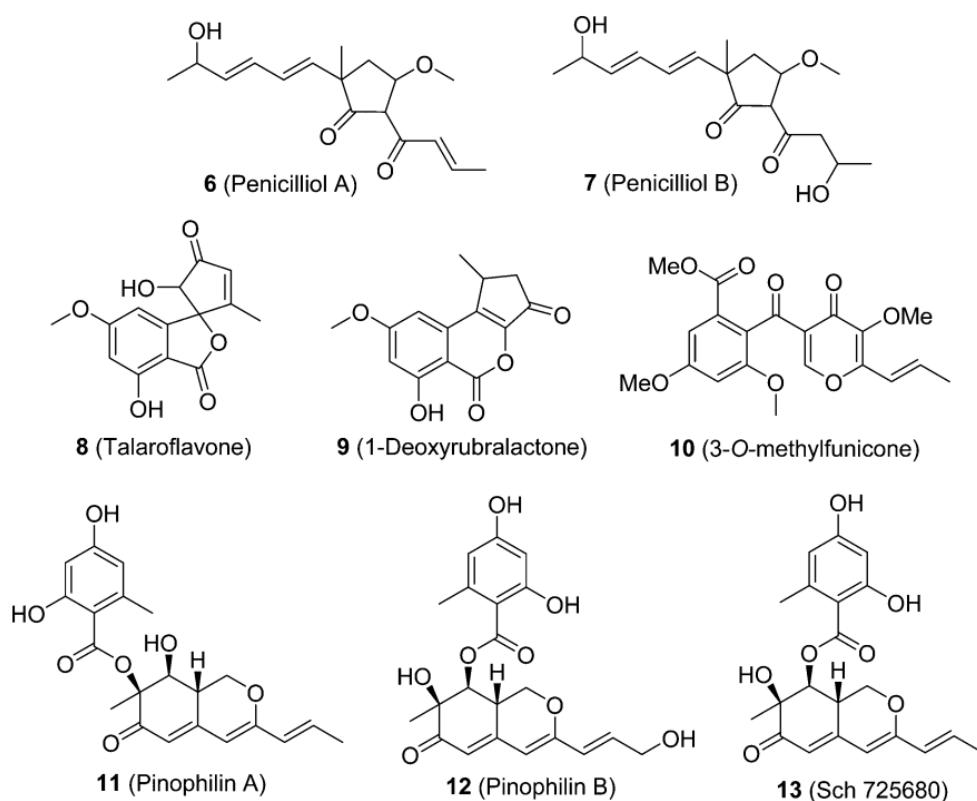
Određene male molekule mogu se ponašati kao inhibitori Y-porodice TLS polimeraza (Slika 3.). Pri tome su aurintrikarboksilna i elagična kiselina otkrivene kao neselektivni inhibitori polimeraza POL $\iota$  i POL $\kappa$  (Dorjsuren i sur. 2009). Također je *in vitro* pokazano da MK-866, kandesartan cileksetil i manoalid mogu umjereno inhibirati POL $\kappa$ . Kandesartan cileksetil je pokazao inhibitorni učinak i na POL $\eta$  i POL $\iota$  (Yamanaka i sur. 2012), a MK-866 može šesterostruko bolje inhibirati POL $\iota$  nego bilo koju polimerazu iz Y-porodice (Ketkar i sur. 2013).



**Slika 3.** Male molekule koje inhibiraju rad TLS polimeraza Y-porodice (preuzeto iz Korzhnev i Hadden 2016).

Pojedini prirodni spojevi također se ponašaju kao neselektivni inhibitori ljudskih TLS polimeraza (Slika 4.). Strukturno slični spojevi peniciliol A i B izolirani iz gljive *Penicillium dalaе* mogu inhibirati ljudske polimeraze POL $\kappa$  i POL $\eta$  te mišju polimerazu POL $\iota$  (Kimura i sur. 2009). Talaroflavon i 1-deoksirubralakton izolirani su iz soja gljive prikupljenog iz uzorka algi iz Japanskog mora te su pokazali umjerenu inhibiciju DNA polimeraza kralježnjaka, no važna razlika u odnosu na peniciliole jest da inhibiraju POL $\beta$  i POL $\lambda$  bolje u odnosu na polimeraze iz Y-porodice (Naganuma i sur. 2008). Osim navedenih, još jedan od prirodnih produkata koji mogu inhibirati

rad DNA polimeraza je 3-O-metilfunikon izoliran iz *Penicillium pinophilum*. Umjereno inhibira POL $\kappa$ , POL $\iota$  i POL $\eta$ , ali može inhibirati i nekoliko polimeraza iz B-porodice (Mizushina i sur. 2009). Iz već spomenute gljive *Penicillium pinophilum* izolirana su još tri spoja – pinofilin A, pinofilin B i Sch 725680 koji su također umjereni inhibitori polimeraza A-, Y- i B-porodice te su pokazali protuproliferativni učinak na nekoliko ljudskih tumorskih staničnih linija (Myobatake i sur. 2012). Pronalazak prirodnih inhibitora DNA polimeraza bitno je jer omogućuju jednostavnija istraživanja u području inhibicije translezijske sinteze obzirom da se mogu izolirati iz prirode i poslužiti kao dobra polazišna točka za razvoj specifičnih sintetskih inhibitora polimeraza translezijske sinteze.



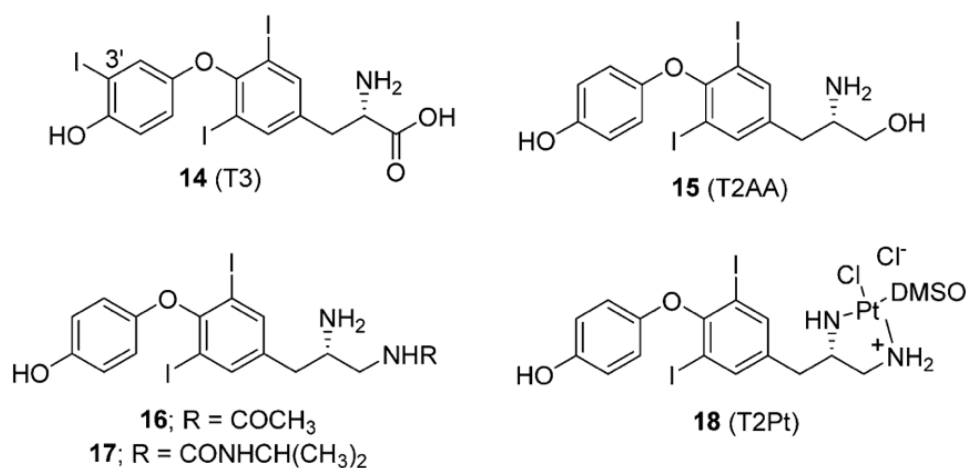
**Slika 4.** Prirodni inhibitori TLS polimeraza Y-porodice izolirani iz gljiva (preuzeto iz Korzhnev i Hadden 2016).

#### 4.2. Inhibitori interakcija unutar translesoma

Inhibicija translezijske sinteze može se postići i narušavanjem protein-protein interakcija koje sudjeluju u regulaciji translezijske sinteze i često se nalaze unutar translesoma. Dovoljno je da se male molekule inhibitora vežu za vruća mjesta interakcijskog sučelja (engl. *hot spots*), odnosno za manji set aminokiselina koji je potreban za ostvarivanje ključnih protein-protein

interakcija (Arkin i Wells 2004). Brojni inhibitori koji ciljaju protein-protein interakcije imaju potencijala postati lijekovima te se ispituju u kliničkim istraživanjima (Arkin i sur. 2014).

PCNA stupa u brojne interakcije s proteinima koji su uključeni u replikaciju DNA i stanični odgovor na oštećenje DNA. Vezno mjesto PIP regije na PCNA potencijalno je vruće mjesto za djelovanje malih inhibitornih molekula. Problem predstavlja činjenica da su PCNA/PIP interakcije potrebne u procesivnoj replikaciji i ostalim odgovorima na oštećenje DNA, a ne samo u translezijskoj sintezi, zbog čega se inhibitori PCNA/PIP interakcija mogu pokazati nedovoljno specifičnim (Moldovan i sur. 2007). Otkriveno je da 3,3',5-trijodtironin T3, važan hormon štitnjače, umjereno inhibira PCNA/PIP protein-protein interakcije (Punchihewa i sur. 2012). Po uzoru na T3, osmišljeni su njegovi analozi s većom specifičnošću inhibicije ciljanih interakcija i bez uobičajene aktivnosti T3 kao hormona štitnjače (Slika 5.). Analog trijodtironina T2AA ne vrši ulogu hormona štitnjače i veže se na PCNA u šupljinu vezanja PIP regije čime onemogućuje vezanje TLS polimeraza za PCNA. Istraživanja su pokazala da povećava osjetljivost HeLa stanica i stanica osteosarkoma U2OS na tretman cisplatinom (Inoue i sur. 2014). Analozi 16 i 17 na Slici 5. dobiveni su uklanjanjem joda s 3' pozicije trijodtironina te zamjenom primarne alkoholne skupine supstituiranom amidnom skupinom. Samostalno primijenjeni nisu imali negativan učinak na proliferaciju U2OS stanica, ali u kombinaciji s cisplatinom stanice su pokazale veću osjetljivost na cisplatinu (Actis i sur. 2013). Po uzoru na analog T2AA osmišljen je T2Pt koji može alkilirati Met40 i His44 PCNA, ključne aminokiseline u PCNA/PIP interakcijama. Samostalno nema značajan učinak, ali može povećati osjetljivost stanice na cisplatinu (Evison i sur. 2014).



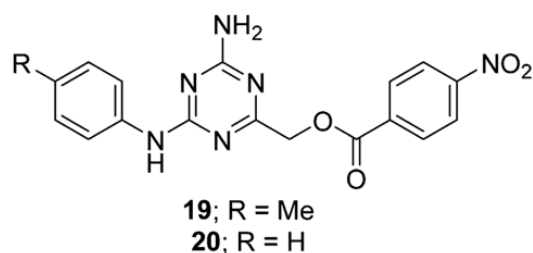
**Slika 5.** Male molekule inhibitora PCNA/PIP interakcija (preuzeto iz Korzhnev i Hadden 2016).

Obećavajuća vruća mjesta za ovakvu vrstu inhibitora mogu se nalaziti i na sučelju C-terminalne domene REV1 proteina koji stvara interakcije s RIR (Dash i sur. 2019) i REV7 (Wojtaszek i sur. 2019). Jedan od najpoznatijih REV1 inhibitora je JH-RE-06 koji blokira REV1-REV7 interakcije. JH-RE-06 se veže za REV1 CTD inducirajući dimerizaciju REV1 proteina na način da inhibitor bude zarobljen između dva protomera. Istraživanjima *in vitro* pokazano je da JH-RE-06 značajno smanjuje sposobnost rasta kolonija tumorskih stanica tretiranih cisplatinom što je potaklo istraživanja njegovog učinka *in vivo*. U *in vivo* eksperimentima u miševe su ubrizgane A375 stanice melanoma čovjeka te su na njima pratili samostalni učinak cisplatine i JH-RE-06, ali i učinak njihove kombinacije. Kombinacija cisplatine i JH-RE-06 rezultirala je skoro potpunom inhibicijom tumorskog rasta (Wojtaszek i sur. 2019). Ovakvi rezultati potvrđuju da REV1 inhibitori mogu biti od velike koristi u učinkovitijem liječenju raka nakon što se provedu klinička istraživanja.

#### 4.3. Inhibitori regulacijskih proteina translezijske sinteze

Regulacija je iznimno važna za normalno funkcioniranje translezijske sinteze. Stoga, inhibicijom proteina koji sudjeluju u regulaciji, poput onih koji ubikvitiniraju i deubikvitiniraju PCNA, moguće je poremetiti rad translezijske sinteze (Huang i D'Andrea 2006). Smanjenjem ubikvitinacije PCNA inhibicijom Rad18/Rad6 onemogućen je pristup TLS polimerazama oštećenoj DNA. S druge strane, smanjenje deubikvitinacije PCNA inhibicijom USP1/UAF1 sprječava nastavak rada replikativnih polimeraza i završetak replikacije (Liang i sur 2014). Enzim USP1 deubikvitinira razne proteine uključene u odgovoru na oštećenja DNA, a ne samo PCNA. Zbog toga bi inhibicija USP1 mogla biti nedovoljno specifična za translezijsku sintezu i utjecati na više staničnih puteva (Huang i D'Andrea 2006).

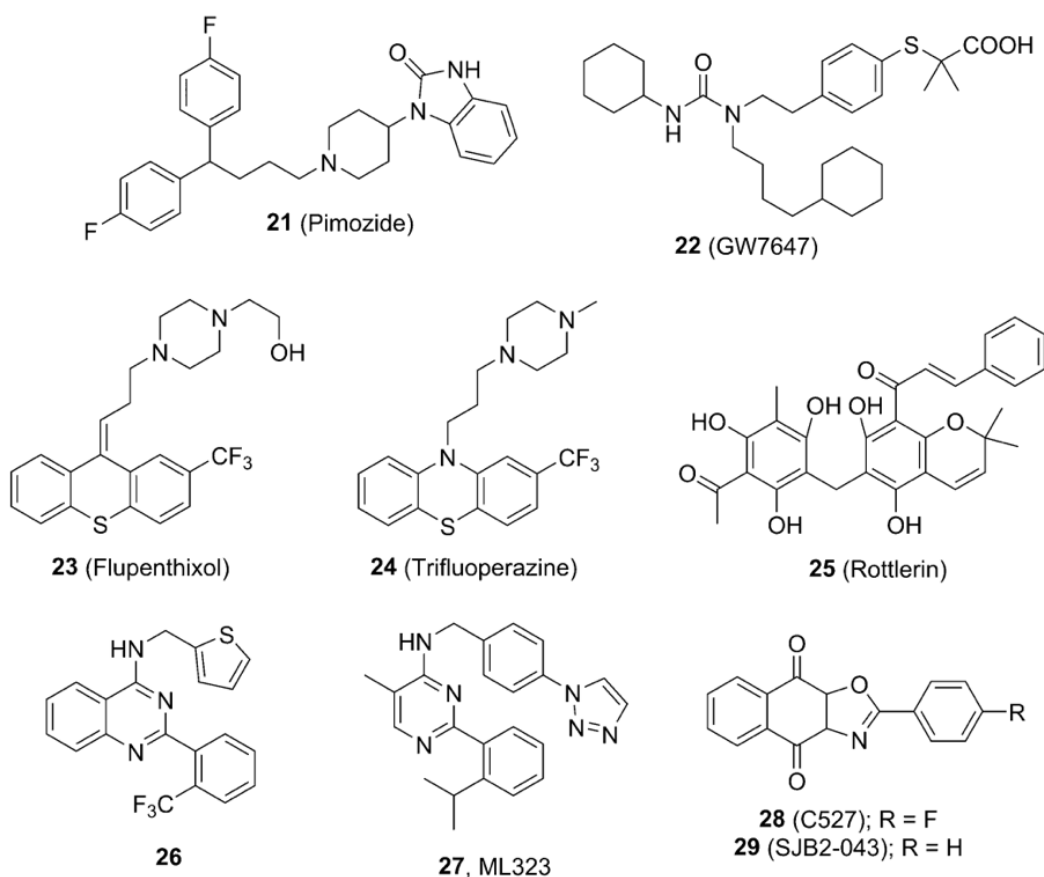
Dva najučinkovitija inhibitora proteina Rad6B su triazini prikazani na Slici 6. Predloženi su različiti dizajni ovakvih inhibitora, no nisu još temeljito istraženi (Sanders i sur. 2013).



**Slika 6.** Male molekule koje inhibiraju Rad6B (preuzeto iz Korzhnev i Hadden 2016).



Za inhibiciju USP1/UAF1 otkriveno je mnogo inhibitora koji su prikazani na Slici 7. Istraživanja su pokazala da pimozid i GW7647 djeluju ako nekompetitivni inhibitori koji mogu samostalno ili u kombinaciji s cisplatinom povećati razinu ubikvitinacije PCNA u stanici (Chen i sur. 2011). Također, inhibitor ML323 pokazao je visoku učinkovitost u inhibiciji USP1/UAF1 i umjerenu stabilnost (Dexheimer i sur. 2014) pri čemu nije aktivan prema drugim deubikvitinazama (Liang i sur. 2014). Samostalno primjenjen smanjuje sposobnost replikacije preko UV-induciranih lezija od strane POL $\eta$  čime je dokazano da inhibicija USP1/UAF1 smanjuje učinkovitost translezijske sinteze. U kombinaciji s cisplatinom smanjuje sposobnost proliferacije tumorskih stanica (Liang i sur. 2014). Time je ustanovljeno da strategija dizajna inhibitora tranlazijske sinteze koja uključuje inhibiciju USP1/UAF1 može biti potencijalno rješenje kemorezistencije u liječenju raka.



**Slika 7.** Male molekule koje inhibiraju USP1/UAF1 (preuzeto iz Korzhnev i Hadden 2016).

## 5. ZAKLJUČAK

Prema dosadašnjim istraživanjima *in vitro*, inhibitori translezijske sinteze pokazuju pozitivan trend u povećavanju osjetljivosti na kemoterapiju. Postoji nekoliko strategija u dizajniranju najučinkovitijih inhibitora – inhibicija TLS polimeraza, inhibicija protein-protein interakcija unutar translesoma i inhibicija interakcija između regulatornih elemenata translezijske sinteze. Pronađeni su i prirodni inhibitori translezijske sinteze koji mogu olakšati istraživanja u ovom području pružajući dobru polazišnu točku za osmišljavanje dizajna inhibitora. Cilj je dobiti vrlo specifičan inhibitor translezijske sinteze koji neće inhibirati ostale puteve u stanici. Potraga je otežana činjenicom da su brojni proteini uključeni u translezijsku sintezu uključeni i u neke druge stanične procese. S vremenom saznajemo sve više o dosad nepoznatim interakcijama uključenima u translezijsku sintezu zbog čega bi se razvoj inhibitora translezijske sinteze mogao odviti neočekivanim smjerovima u budućnosti. Dosad ispitivani inhibitori, koji pokazuju veliki potencijal u eksperimentima *in vitro*, trebaju proći mnoge eksperimente *in vivo* i klinička istraživanja prije njihove upotrebe u liječenju.

## 6. LITERATURA

1. Actis M., Inoue A., Evison B., Perry S., Punchihewa C., Fujii N. (2013): Small molecule inhibitors of PCNA/PIP-box interaction suppress translesion DNA synthesis. *Bioorganic & medicinal chemistry* 21(7): 1972-1977.
2. Adachi M., Ijichi K., Hasegawa Y., Ogawa T., Nakamura H., Yasui Y., Fukushima M., Ishizaki K. (2008): Hypersensitivity to cisplatin after hRev3 mRNA knockdown in head and neck squamous cell carcinoma cells. *Molecular medicine reports* 1(5): 695-698.
3. Arkin M. R., Tang Y., Wells J. A. (2014): Small-molecule inhibitors of protein-protein interactions: progressing toward the reality. *Chemistry & biology* 21(9): 1102-1114.
4. Arkin M. R., Wells J. A. (2004): Small-molecule inhibitors of protein-protein interactions: progressing towards the dream. *Nature reviews Drug discovery* 3(4): 301-317.
5. Berti M., Vindigni A. (2016): Replication stress: getting back on track. *Nature structural & molecular biology* 23(2): 103-109.
6. Bhat A., Wu Z., Maher V. M., McCormick J. J., Xiao W. (2015): Rev7/Mad2B plays a critical role in the assembly of a functional mitotic spindle. *Cell Cycle* 14(24): 3929-3938.
7. Bochman M. L., Paeschke K., Zakian V. A. (2012): DNA secondary structures: stability and function of G-quadruplex structures. *Nature Reviews Genetics* 13(11): 770-780.
8. Branzei D., Foiani M. (2010): Maintaining genome stability at the replication fork. *Nature reviews Molecular cell biology* 11(3): 208-219.
9. Chabner B. A., Roberts T. G. (2005): Chemotherapy and the war on cancer. *Nature Reviews Cancer* 5(1): 65-72.
10. Chen J., Dexheimer T. S., Ai Y., Liang Q., Villamil M. A., Inglese J., Maloney D. J., Jadhav A., Simeonov A., Zhuang Z. (2011): Selective and cell-active inhibitors of the USP1/UAF1 deubiquitinase complex reverse cisplatin resistance in non-small cell lung cancer cells. *Chemistry & biology* 18(11): 1390-1400.
11. Cohn M. A., Kee Y., Haas W., Gygi S. P., D'Andrea A. D. (2009): UAF1 is a subunit of multiple deubiquitinating enzyme complexes. *Journal of Biological Chemistry* 284(8): 5343-5351.
12. Dash R. C., Ozen Z., McCarthy K. R., Chatterjee N., Harris C. A., Rizzo A. A., Walker G. C., Korzhnev D. M., Hadden, M. K. (2019): Virtual Pharmacophore Screening Identifies

- Small-Molecule Inhibitors of the Rev1-CT/RIR Protein-Protein Interaction. *Chem. Med. Chem.* 14(17): 1610-1617.
13. Dexheimer T. S., Rosenthal A. S., Luci D. K., Liang Q., Villamil M. A., Chen J., Sun H., Kerns E. H., Simeonov A., Jadhav A., Zhuang Z., Maloney D. J. (2014): Synthesis and structure-activity relationship studies of N-benzyl-2-phenylpyrimidin-4-amine derivatives as potent USP1/UAF1 deubiquitinase inhibitors with anticancer activity against nonsmall cell lung cancer. *Journal of medicinal chemistry* 57(19): 8099-8110.
  14. Dorjsuren D., Wilson III D. M., Beard W. A., McDonald J. P., Austin C. P., Woodgate R., Wilson S. H., Simeonov, A. (2009): A real-time fluorescence method for enzymatic characterization of specialized human DNA polymerases. *Nucleic acids research* 37(19): e128-e128.
  15. Evison B. J., Actis M. L., Wu S. Z., Shao Y., Heath R. J., Yang L., Fujii N. (2014): A site-selective, irreversible inhibitor of the DNA replication auxiliary factor proliferating cell nuclear antigen (PCNA). *Bioorganic & medicinal chemistry* 22(22): 6333-6343.
  16. Huang T. T., D'Andrea A. D. (2006): Regulation of DNA repair by ubiquitylation. *Nature reviews Molecular cell biology* 7(5): 323-334.
  17. Huang T. T., Nijman S. M., Mirchandani K. D., Galardy P. J., Cohn M. A., Haas W., Gygi S. P., Ploegh H. L., Bernardis R., D'Andrea A. D. (2006): Regulation of monoubiquitinated PCNA by DUB autocleavage. *Nature cell biology* 8(4): 341-347.
  18. Inoue A., Kikuchi S., Hishiki A., Shao Y., Heath R., Evison B. J., Actis M., Canman C. E., Hashimoto H., Fujii N. (2014): A small molecule inhibitor of monoubiquitinated Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) inhibits repair of interstrand DNA cross-link, enhances DNA double strand break, and sensitizes cancer cells to cisplatin. *Journal of Biological Chemistry* 289(10): 7109-7120.
  19. Jansen J. G., Tsaalbi-Shtylik A., de Wind N. (2015): Roles of mutagenic translesion synthesis in mammalian genome stability, health and disease. *DNA repair* 29: 56-64.
  20. Kanemaru Y., Suzuki T., Sassa A., Matsumoto K., Adachi N., Honma M., Numazawa S., Nohmi T. (2017): DNA polymerase kappa protects human cells against MMC-induced genotoxicity through error-free translesion DNA synthesis. *Genes and Environment* 39(1): 1-10.

21. Ketkar A., Zafar M. K., Maddukuri L., Yamanaka K., Banerjee S., Egli M., Choi J. Y., Lloyd R. S., Eoff R. L. (2013): Leukotriene biosynthesis inhibitor MK886 impedes DNA polymerase activity. *Chemical research in toxicology* 26(2): 221-232.
22. Kimura T., Takeuchi T., Kumamoto-Yonezawa Y., Ohashi E., Ohmori H., Masutani C., Hanaoka F., Sugawara F., Yoshida H., Mizushina Y. (2009): Penicillliols A and B, novel inhibitors specific to mammalian Y-family DNA polymerases. *Bioorganic & medicinal chemistry* 17(5): 1811-1816.
23. Korzhnev D. M., Hadden M. K. (2016): Targeting the translesion synthesis pathway for the development of anti-cancer chemotherapeutics. *Journal of medicinal chemistry* 59(20): 9321-9336.
24. Kotsantis P., Petermann E., Boulton S. J. (2018): Mechanisms of oncogene-induced replication stress: jigsaw falling into place. *Cancer discovery* 8(5): 537-555.
25. Liang Q., Dexheimer T. S., Zhang P., Rosenthal A. S., Villamil M. A., You C., Zhang Q., Chen J., Ott C. A., Sun H., Luci D. K., Yuan B., Simeonov A., Jadhav A., Xiao H., Wang Y., Maloney D. J., Zhuang Z. (2014): A selective USP1–UAF1 inhibitor links deubiquitination to DNA damage responses. *Nature chemical biology* 10(4): 298-304.
26. MacConaill L. E., Garraway L. A. (2010): Clinical implications of the cancer genome. *Journal of Clinical Oncology* 28(35): 5219.
27. Mizushina Y., Motoshima H., Yamaguchi Y., Takeuchi T., Hirano K., Sugawara F., Yoshida H. (2009): 3-O-methylfunicone, a selective inhibitor of mammalian Y-family DNA polymerases from an Australian sea salt fungal strain. *Marine drugs* 7(4): 624-639.
28. Moldovan G. L., Pfander B., Jentsch S. (2007): PCNA, the maestro of the replication fork. *Cell* 129(4): 665-679.
29. Myobatake Y., Takeuchi T., Kuramochi K., Kuriyama I., Ishido T., Hirano K., Sugawara F., Yoshida H., Mizushina Y. (2012): Pinophilins A and B, inhibitors of mammalian A-, B-, and Y-family DNA polymerases and human cancer cell proliferation. *Journal of natural products* 75(2): 135-141.
30. Naganuma M., Nishida M., Kuramochi K., Sugawara F., Yoshida H., Mizushina Y. (2008): 1-Deoxyrubralactone, a novel specific inhibitor of families X and Y of eukaryotic DNA polymerases from a fungal strain derived from sea algae. *Bioorganic & medicinal chemistry* 16(6): 2939-2944.

31. Nayak S., Calvo J. A., Cantor S. B. (2021): Targeting translesion synthesis (TLS) to expose replication gaps, a unique cancer vulnerability. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 25(1): 27-36.
32. Neelsen K. J., Lopes M. (2015): Replication fork reversal in eukaryotes: from dead end to dynamic response. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 16(4): 207-220.
33. Okina S., Yanagisawa N., Yokoyama M., Sakurai Y., Numata Y., Umezawa A., Higashihara M., Murakumo Y. (2015): High expression of REV7 is an independent prognostic indicator in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *International journal of hematology* 102(6): 662-669.
34. Okuda T., Lin X., Trang J., Howell S. B. (2005): Suppression of hREV1 expression reduces the rate at which human ovarian carcinoma cells acquire resistance to cisplatin. *Molecular pharmacology* 67(6): 1852-1860.
35. Pata J. D. (2010): Structural diversity of the Y-family DNA polymerases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics* 1804(5): 1124-1135.
36. Prakash S., Johnson R. E., Prakash L. (2005): Eukaryotic translesion synthesis DNA polymerases: specificity of structure and function. *Annu Rev Biochem* 74: 317-353.
37. PUNCHIHEWA C., INOUE A., HISHIKI A., FUJIKAWA Y., CONNELLY M., EVISON B., SHAO Y., HEATH R., KURAOKA I., RODRIGUES P., HASHIMOTO H., KAWANISHI M., SATO M., YAGI T., FUJII N. (2012): Identification of small molecule proliferating cell nuclear antigen (PCNA) inhibitor that disrupts interactions with PIP-box proteins and inhibits DNA replication. *Journal of Biological Chemistry* 287(17): 14289-14300.
38. PUSTOVALOVA Y., MACIEJEWSKI M. W., KORZHNEV D. M. (2013): NMR mapping of PCNA interaction with translesion synthesis DNA polymerase Rev1 mediated by Rev1-BRCT domain. *Journal of molecular biology* 425(17): 3091-3105.
39. RUSZ O., PÁL M., SZILÁGYI É., ROVÓ L., VARGA Z., TOMISA B., FÁBIÁN G., KOVÁCS L., NAGY O., MÓZES P., REISZ Z., TISZLAVICZ L., DEÁK P., KAHÁN Z. (2017): The expression of checkpoint and DNA repair genes in head and neck cancer as possible predictive factors. *Pathology & Oncology Research* 23(2): 253-264.
40. SANDERS M. A., BRAHEMI G., NANGIA-MAKKER P., BALAN V., MORELLI M., KOTHAYER H., WESTWELL A. D., SHEKHAR M. P. (2013): Novel inhibitors of Rad6 ubiquitin conjugating

- enzyme: design, synthesis, identification, and functional characterization. *Molecular cancer therapeutics* 12(4): 373-383.
41. Shachar S., Ziv O., Avkin S., Adar S., Wittschieben J., Reissner T., Chaney S., Friedberg E. C., Wang Z., Carell T., Geacintov N., Livneh Z. (2009): Twopolymerase mechanisms dictate errorfree and errorprone translesion DNA synthesis in mammals. *The EMBO Journal* 28(4): 383-393.
  42. Shilkin E. S., Boldinova E. O., Stolyarenko A. D., Goncharova R. I., Chuprov-Netochin R. N., Smal M. P., Makarova A. V. (2020): Translesion DNA Synthesis and Reinitiation of DNA Synthesis in Chemotherapy Resistance. *Biochemistry (Moscow)* 85(8): 869-882.
  43. Srivastava A. K., Han C., Zhao R., Cui T., Dai Y., Mao C., Zhao W., Zhang X., Yu J., Wang Q. E. (2015): Enhanced expression of DNA polymerase eta contributes to cisplatin resistance of ovarian cancer stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112(14): 4411-4416.
  44. Watanabe K., Tateishi S., Kawasuji M., Tsurimoto T., Inoue H., Yamaizumi M. (2004): Rad18 guides pol $\eta$  to replication stalling sites through physical interaction and PCNA monoubiquitination. *The EMBO journal* 23(19): 3886-3896.
  45. Waters L. S., Minesinger B. K., Wiltout M. E., D'Souza S., Woodruff R. V., Walker G. C. (2009): Eukaryotic translesion polymerases and their roles and regulation in DNA damage tolerance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 73(1): 134-154.
  46. Wojtaszek J. L., Chatterjee N., Najeeb J., Ramos A., Lee M., Bian K., Xue J. Y., Fenton B. A., Park H., Li D., Hemann M. T., Hong J., Walker G. C., Zhou P. (2019): A small molecule targeting mutagenic translesion synthesis improves chemotherapy. *Cell* 178(1): 152-159.
  47. Yamanaka K., Chatterjee N., Hemann M. T., Walker G. C. (2017): Inhibition of mutagenic translesion synthesis: A possible strategy for improving chemotherapy?. *PLoS genetics* 13(8): e1006842.
  48. Yamanaka K., Dorjsuren D., Eoff R. L., Egli M., Maloney D. J., Jadhav A., Simeonov A., Lloyd R. S. (2012): A comprehensive strategy to discover inhibitors of the translesion synthesis DNA polymerase  $\kappa$ . *PLoS One* 7(10): e45032.
  49. Yang W. (2005): Portraits of a Y-family DNA polymerase. *FEBS letters* 579(4): 868-872.
  50. Yang W., Woodgate R. (2007): What a difference a decade makes: insights into translesion DNA synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104(40): 15591-15598.

51. Yoon J. H., Choudhury J. R., Prakash L., Prakash S. (2019): Translesion synthesis DNA polymerases  $\eta$ ,  $\iota$ , and  $\nu$  promote mutagenic replication through the anticancer nucleoside cytarabine. *Journal of Biological Chemistry* 294(50): 19048-19054.
52. Zahreddine H., Borden K. (2013): Mechanisms and insights into drug resistance in cancer. *Frontiers in pharmacology* 4: 28.
53. Ziv O., Geacintov N., Nakajima S., Yasui A., Livneh Z. (2009): DNA polymerase  $\zeta$  cooperates with polymerases  $\kappa$  and  $\iota$  in translesion DNA synthesis across pyrimidine photodimers in cells from XPV patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106(28): 11552-11557.



## 7. SAŽETAK

Translezijska sinteza važna je u smanjivanju citotoksičnosti egzogenih i endogenih čimbenika koji mogu oštetiti DNA. Može smanjiti nestabilnost genoma i replikacijski stres uslijed oštećenja DNA i time suprimirati nastanak raka. S druge strane, smanjivanjem onkogen-induciranog replikacijskog stresa može potaknuti razvoj raka. Dakle, utjecaj translezijske sinteze na pojavu i razvoj raka može biti dvojak i ovisi o staničnom kontekstu. Također, obzirom na smanjenu točnost polimeraza translezijske sinteze, mutacije koje pritom mogu nastati doprinose nastanku stečene kemorezistencije. Stečena kemorezistencija često je prisutna kod tumora koji su se vratili nakon preboljenja i povećava stopu smrtnosti zbog otežanog liječenja. Translezijska sinteza ključna je i u intrinzičnoj kemorezistenciji tolerirajući oštećenja DNA u tumorskim stanicama tretiranim kemoterapeutima. Iz više navedenih razloga inhibitori translezijske sinteze obećavajuće su rješenje u povećanju učinkovitosti kemoterapije. Brojni inhibitori pokazali su izvrsne rezultate u istraživanjima na tumorskim stanicama *in vitro*, no još uvijek nedostaju temeljita istraživanja *in vivo* i klinička istraživanja prije nego li se ovakvi inhibitori krenu koristiti u liječenju raka.

**Ključne riječi:** DNA lezije, Kemorezistencija, Liječenje raka, Mutacije, Replikacija DNA.

## 8. SUMMARY

Translesion synthesis is important in reducing cytotoxicity of the external and internal factors that can damage DNA. It can reduce genome instability and replication stress caused by DNA damage, suppressing cancer development that way. On the other hand, reducing oncogen-induced replication stress can stimulate cancer development. Therefore, translesion synthesis can affect cancer development in both ways, depending on the cellular context. Moreover, translesion synthesis DNA polymerases replicate in a low fidelity manner causing mutations. Mutagenic role of TLS polymerases is central to acquired chemoresistance. Acquired chemoresistance is very likely to be present in the relapsed tumors which is why the treatments get less effective and overall survival rate is much lower for those patients. Bypassing DNA lesions in tumor cells is significant to the intrinsic drug resistance. That being said, TLS inhibitors could be promising solution to the chemoresistance problem in chemotherapy. Many inhibitors have already shown excellent results in experiments *in vitro*, but there are still many *in vivo* experiments and clinical trials required before TLS inhibitors become implemented in the cancer treatments.

**Keywords:** Cancer treatment, Chemoresistancy, DNA lesions, DNA replication, Mutations.

## **9. ŽIVOTOPIS**

Marija Šimić rođena je u Zagrebu gdje je pohađala osnovnu i srednju školu. Završila je opću gimnaziju 2018. godine, nakon čega je upisala preddiplomski sveučilišni studij molekularna biologija na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom preddiplomskog studija sudjelovala je u znanstveno-edukativnim događanjima poput Noći biologije, Noći muzeja u Prirodoslovnom muzeju i Simpozija studenata bioloških usmjerenja.