

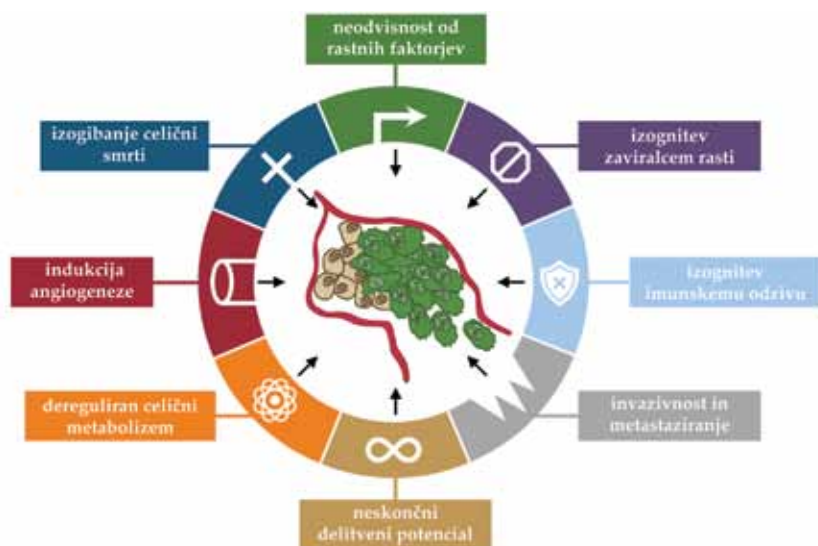
# Vloga proteinov na površini rakavih celic pri odkrivanju in zdravljenju rakavih obolenj

*Aljaž Gaber, Uroš Prešern, Špela Konjar, Miha Pavšič*

Rakava obolenja so v sodobni družbi zelo pogosta – za rakom umre vsak šesti človek na Zemlji (Roth, 2018). V letu 2018 je to pomenilo 9,6 milijona ljudi na leto, kar je več, kot jih je umrlo za aidsom, tuberkulozo in malarijo skupaj (Ferlay, Colombet, Soerjomataram, Mathers, Parkin, Piñeros, Znaor, Bray, 2019). Tudi številke za prihodnost niso obetavne. V Veliki Britaniji ocenjujejo, da bo za rakom zbolel vsak drugi človek, rojen po letu 1960 (Cancer Research UK). A dobra novica je, da se umrljivost zaradi raka niža. V Veliki Britaniji poročajo, da več kot deset let od diagnoze preživi že polovica ljudi, kar je dvakrat toliko kot pred štiridesetimi leti (Cancer Research UK). Podobne trende glede naraščanja števila obolelih za rakom in nižanja umrljivosti je mogoče opaziti tudi v Sloveniji (Zadnik in sod., 2017). Večje število odkritih obolenj

in višjo stopnjo preživetja so omogočili novi diagnostični in terapevtski pristopi, ključ do teh pa je napredek v razumevanju procesov, povezanih z nastankom in razvojem rakavih obolenj.

Medtem ko so v preteklosti obstajale različne bolj ali manj nenavadne teorije o vzroku za nastanek raka, danes vemo, da je njegov nastanek povezan z različnimi okoljskimi in dednimi dejavniki, do neke mere pa vseh potencialnih dejavnikov oziroma njihove kombinacije še ne znamo pojasniti (Tomasetti, Vogelstein, 2015). Rakavo obolenje nastane, ko naše lastne celice naberejo zadostno število sprememb dednine, imenovanih mutacije, ki jim omogočajo nenadzorovano deljenje in kasneje razraščanje. Pomembno je, kje se mutacije nahajajo – najbolj problematične mutacije so v genih, ki skrbijo



*Slika 1:  
Lastnosti  
rakavih celic.  
Prirejeno po  
Hanaban,  
Weinberg, 2011.*

za regulacijo celičnega cikla in odpravljanje napak v dednini. Do mutacij sicer naključno prihaja ves čas, tudi v idealno zdravem okolju, nezdravi način življenja (na primer kajenje, nezdrava prehrana, preveč intenzivno sončenje) pa dodatno prispeva k povečanemu številu mutacij in s tem povišani verjetnosti za nastanek neugodnega skupka mutacij. Kadar govorimo o dednih dejavnikih, želimo poenostavljeno povedati, da ima posameznik nekatere neugodne mutacije že v svojem dednem zapisu.

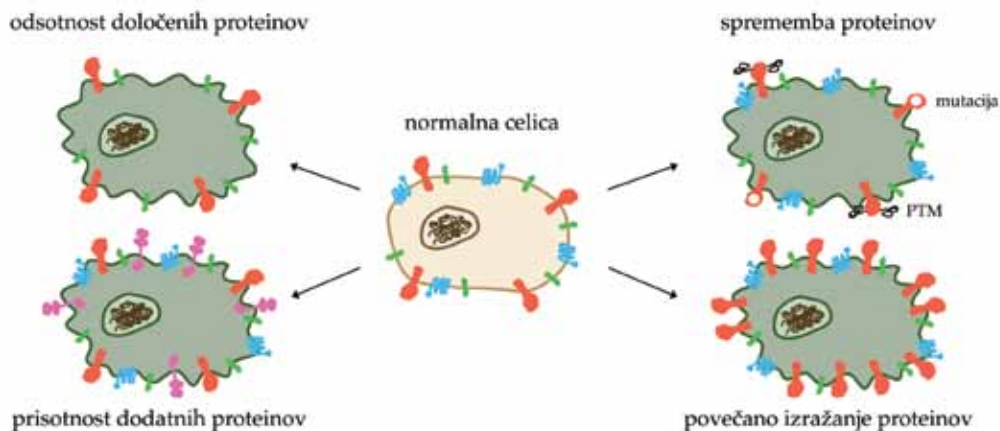
Katere pa so pravzaprav tiste lastnosti, ki jih mora celica pridobiti, da lahko nastane rakavo obolenje? Znanstveniki so opredelili osem lastnosti, ki so skupne celicam v večini rakastih tvorbov (slika 1) (Hanahan, Weinberg, 2011): lastna proizvodnja molekul, ki spodbujajo rast; neobčutljivost za molekule, ki zavirajo rast; reprogramiranje celičnega metabolizma; izogibanje celični smrti (apoptozi ali avtofagiji); izogibanje odzivu imunskega sistema; sposobnost neomejenega podvajanja; zmožnost tvorbe žil znotraj tumorja in vraščanje v okolno tkivo ter sposobnost tvorbe zasevkov (metastaz). Vrstni red pridobivanja teh lastnosti je lahko različen, kljub temu pa lahko proces razvoja rakavih obolenj razdelimo v nekaj stopenj oziroma stadijev. Rakava obolenja so v prvem stadiju tako manjša in omejena na tkivo, v katerem so nastala. V drugem stadiju so rakava obolenja že večja, še vedno omejena na mesto nastanka, v nekaterih primerih pa se ta obolenja razširijo tudi na bezgavke v bližini. V tretjem stadiju se rakavo obolenje začne razraščati v tkiva v svoji okolici, pri čemer so rakave celice tudi v bezgavkah. V zadnjem, četrtem stadiju pride do tvorbe zasevkov in nastanka sekundarnih rakavih obolenj drugod po telesu. Stadij, v katerem rakavo obolenje odkrijemo, je za možnost ozdravitve ključnega pomena. Na primer, bolnica ima kar devetdeset odstotkov možnosti, da bo po odkritju raka na dojki v zgodjem stadiju živela vsaj še pet let, v primeru kasnejšega odkritja že napredovanega obolenja pa je

ta verjetnost zgolj pet- do petnajstodstotna (Cancer Research UK). Pomembno je torej, da rakavo obolenje odkrijemo čimprej, ključ do tega pa je podrobno poznavanje značilnosti rakavih celic, saj jih le tako lahko zanesljivo in dovolj zgodaj prepoznamo in bolezen primerno zdravimo z ustreznimi tarčnimi terapijami.

### Proteini na površini rakavih celic

Ocenjujejo, da petindvajset do trideset odstotkov genov nosi zapis za membranske proteine, od katerih je približno polovica takih, ki se nahajajo na površini celic (Bausch-Fluck, Goldmann, Müller, van Oostrum, Müller, Schubert, Wollscheid, 2018). Nekateri so takšni, ki so skupni večini celic, spet drugi pa so značilni samo za določeni tip celic. Tako se med diferenciacijo/dediferenciacijo nabor in količina izraženih proteinov na površini rakavih in normalnih celic razlikujeta. Na površini rakavih celicah se lahko pojavijo novi proteini, ki za normalno celico sicer niso značilni, prav tako lahko ni nekaterih proteinov, značilnih za izvorni tip celice, lahko pa se zgolj poveča število nekaterih proteinov na površini ali pa pride do mutacij proteina oziroma se spremenijo njihove postranslacijske modifikacije: to so kemijske modifikacije aminokislinskih ostankov, do katerih pride po prevedbi dednega zapisa v aminokislinsko zaporedje (slika 2). Spremembe ravni izražanja ali posttranslacijske modifikacije proteinov na površini rakavih celicah v primerjavi z zdravimi celicami uporabljajo tako za diagnostiko kot tudi za zdravljenje raka.

Glede na funkcijo lahko proteine na površini celic razdelimo v več skupin. Najbolj raziskana skupina so transmembranski receptorji, ki celici omogočajo komunikacijo z okoljem. Za rakave celice so posebnega pomena receptorji za različne rastne dejavnike, ki so na površini rakavih celic bodisi pretirano izraženi ali pa so spremenjeni tako, da so aktivni tudi v odsotnosti rastnega dejavnika, kar vodi do zvišane stopnje



*Slika 2: Shematski prikaz sprememb proteinov na površini rakavih celic (celice označene s sivo barvo). Različne vrste proteinov na površini so prikazane z različno obliko in barvo. Lahko pride do spremembe količine nekaterih proteinov na celici ali pa zgolj do njihove spremembe v smislu spremenjenih posttranslacijskih modifikacij (PTM) ali mutacij.*

celičnih delitev. Primer takega receptorja je receptor za epidermalni rastni dejavnik (EGFR), katerega izražanje ali delovanje sta pogosto deregulirana pri različnih tipih raka (Sigismund, Avanzato, Lanzetti, 2018). Mehanizem delovanja receptorja za epidermalni rastni dejavnik temelji na interakciji med dvema proteinoma receptorja za epidermalni rastni dejavnik - dimerizaciji receptorja po vezavi zunajceličnega rastnega dejavnika, temu pa sledi avtofosforilacija (proces prenosa fosforilne skupine na aminokislinske ostanke istega proteina, ki katalizira reakcijo) znotrajcelične domene in sprožitve signalne kaskade, ki vodi v rast in delitev celic, zaviranje celične smrti in povečanje celične gibljivosti. Ob vezavi rastnega dejavnika se lahko receptor za epidermalni rastni dejavnik poveže tudi z ostalimi tremi receptorji iz iste družine – najbolj poznan tovrstni partner je receptor HER2, ki je mutiran ali pretirano izražen v približno petindvajsetih odstotkih primerov raka dojke (Ishikawa, Ichikawa, Shimizu, Sasaki, Tanabe, Chishima, Takabe, Endo, 2014). Tako receptor za epidermalni rastni dejavnik kot receptor HER2 spadata med receptorske tirozin ki-

naze, saj njuni znotrajcelični regiji vsebujeta kinazno domeno, ki fosforilira tirozinske ostanke. Vloga te skupine receptorjev pri razvoju raka je do sedaj ena izmed najbolj preučenihi, vendar pa trenutne raziskave kažejo tudi na pomembno vlogo receptorjev iz drugih skupin, kot so receptorske serin/treonin kinaze (na primer receptor za TGF- $\beta$ ), receptorji, sklopljeni s kinazami Janus (na primer receptor za eritropoetin), z G-proteini sklopljeni receptorji ter receptorji signalnih poti Wnt, Notch, Hedgehog in tako dalje.

Pomembno vlogo pri razvoju raka imajo tudi adhezijski proteini, ki sodelujejo pri tvorbi celičnih stikov in pritrjevanju celic na zunajcelični matriks, saj je njihova (de)regulacija povezana z invazivnostjo ter napredovanjem rakavih celic v okolna in tudi bolj oddaljena tkiva. Pomembni predstavniki adhezijskih proteinov so proteini iz razreda integrinov (Bianconi, Unseld, Prager, 2016). Ti tvorijo heterodimere, ki se na zunajcelični strani pritrjujejo na različne komponente zunajceličnega matriksa, na notranji strani celic pa na citoskelet (notranje celično ogrodje). Sodelujejo tudi pri prenosu signalov iz okoli-

ce v notranjost celic in obratno, pri čemer lahko celica z različnimi mehanizmi vpliva na njihovo sposobnost pritrjevanja, s tem pa uravnava lastno gibljivost in premikanje. Zanimiv primer je tudi epitelijska celična adhezijska molekula (EpCAM), ki je, v primerjavi z normalnimi epitelijskimi celicami, prisotna v povečani količini na površini večine rakavih celic epitelijskega izvora (karcinomov). Dolgo časa je veljalo, da tudi epitelijska celična adhezijska molekula sodeluje pri tvorbi celičnih stikov, vendar se je pred kratkim pokazalo, da temu ni tako. Vloga epitelijske celične adhezijske molekule v raku je verjetno bolj povezana z njeno funkcijo pri celičnem signaliziranju, saj epitelijska celična adhezijska molekula oziroma njeni posamezni deli sodelujejo v različnih signalnih poteh (Gaber, Lenarčič, Pavšič, 2020).

Z invazivno naravo rakavih celic in sposobnostjo metastaziranja so poleg adhezijskih molekul povezani tudi številni encimi, ki delujejo na površini celic, pri čemer gre v glavnem za različne tipe proteaz (na primer proteaze iz družine ADAM), ki z remodeliranjem zunajceličnega matriksa omogočajo celicam pobeg iz lokalnega okolja (Rakashanda, Rana, Rafiq, Masood, Amin, 2012). Hkrati je njihovo proteolitično delovanje povezano z razvojem krvnih žil v tumorju (angiogeneza), sodelujejo pa tudi pri sproščanju rasti dejavnikov iz površine celic in s komponentami zunajceličnega matriksa, kar dodatno pripomore k povečani proliferaciji celic.

Pomembni značilnosti rakavih celic sta tudi deregulirani celični metabolizem in s tem povezano spremenjeno izražanje različnih transportnih proteinov, udeleženih pri vnosu hranil in iznosu za celico neželjenih snovi. Rakave celice imajo namreč visoke energijske zahteve, kar je posledica pospešene rasti in z njo povezane sinteze različnih celičnih komponent. Na primer, pogosto imajo na površini neobičajno veliko količino prenašalcev iz družine GLUT, ki omogočajo vnos glukoze v notranjost celic.

Drugi tip prenašalcev, ki pomembno vplivajo na potek zdravljenja raka, so nekateri predstavniki družine prenašalcev ABC (na primer MRP1), ki prek aktivnega transporta odstranjujejo citostatike iz notranjosti celic, posledično pa je njihovo povečano izražanje povezano z zmanjšanim učinkom kemoterapije (Zhang, Wang, Gupta, Chen, 2015).

### **Vloga proteinov na površini pri odkrivanju in spremljanju rakavih obolenj**

Kljub omenjenim značilnostim rakavih celic je razlikovanje med njimi in normalnimi, zdravimi celicami pogosto težko, vsekakor pa bistveno težje in manj zanesljivo, kot je človeškemu organizmu zaznavanje tujih proteinov na površini bakterij in virusov. Dodatne težave so še razmeroma majhno število rakavih celic v zgodnjem stadiju in odsotnost simptomov, ko so obeti za ozdravitev še dobri, in pa tudi sama dostopnost/izpostavljenost rakavih celic. Najlažje je zaznavati celice v krvnem obtoku, kjer je površina celic zelo dobro izpostavljena, prav tako pa je odvzem vzorca enostaven in neinvaziven. Celice, ki jih lahko zaznavamo na tak način, imenujemo krožeče tumorske celice (angleško *circulating tumor cells*, CTC). To so celice, ki so se odcepile od tumorja in so povezane z nastankom zasevkov, njihovo zaznavanje pa omogoča ne samo sklepanje na prisotnost in izvor rakave bolezni, temveč nam njihovo število in značilnosti nudijo vpogled v napredovanje bolezni ter spremljanje odziva na zdravljenje (Paoletti, Hayes, 2016).

Velik izziv pri analizi krožečih tumorskih celic je, da so te celice zelo redke – v desetih mililitrih krvi lahko pričakujemo le do deset takih celic (Jesenko, Grašič - Kuhar, Čemažar, 2018). Krožeče tumorske celice iz krvi običajno ulovimo s protitelesi, ki prepoznajo nekatere proteine na njihovi površini. Trenutno je za uporabo v diagnostiki Ameriška agencija za hrano in zdravila (FDA) odobrila zgolj en tovrstni sistem, imenovan CELLSEARCH (Riethdorf, O'Flaherty,

Hille, Pantel, 2018). Temelji na zaznavanju celic, ki na površini izražajo prej omenjeni tumorski označevalni protein EpCAM. Ta je značilen za normalne epitelijske celice in za številne rake epitelijskega izvora – karcinome. Če uporabimo druga protitelesa, lahko ulovimo tudi celice, ki imajo na površini druge označevalce, značilne za druge vrste rakov. Tak primer je lovljenje celic s protitelesi proti OB-kadherinu, ki je prisoten na površini rakastih celic mezenhimskega izvora, to so celice, ki sestavljajo mehka tkiva in kosti.

### **Vloga proteinov na površini pri zdravljenju rakavih obolenj**

Za rakave celice značilni površinski proteini niso uporabni zgolj za zaznavanje takih celic – izkoristimo jih lahko tudi kot označevalce mesta za dostavo terapevtske učinkovine. Ključna komponenta tovrstnih sistemov so protitelesa, ki te proteine prepoznajo, hkrati pa imajo pripeto tudi neko funkcionalno učinkovino. Zaradi visoke specifičnosti protiteles lahko dosežemo, da je delovanje terapevtske učinkovine omejeno na območje rakastega tkiva, kar je bistvena prednost pred klasičnimi kemoterapijami. Pri teh namreč kemoterapevtiki – zaviralci celične rasti in/ali povzročitelji poškodb DNA – delujejo tako na rakaste kot tudi normalne celice, kar ima za posledico številne stranske učinke, posebej na hitro deleče se krvne celice, celice črevesja in podobno. Do sedaj je bilo prepoznanih že precej površinskih proteinov, značilnih za rakaste celice, proti katerim so že bila pripravljena terapevtska protitelesa (tabela 1).

Terapevtiki na osnovi protiteles lahko delujejo na različne načine (slika 3). Najbolj enostaven mehanizem delovanja je že sama vezava protitelesa na protein na površini rakave celice – to lahko vpliva na delovanje proteina in s tem zavira napredovanje rakavega obolenja (slika 3A). Na tak način delujeta zdravila Trastuzumab in Cetuximab, ki se vežeta na receptor Her2 oziroma na

receptor za epidermalni rastni dejavnik in s tem preprečita njegovo aktivacijo. Drug pristop predstavljajo protitelesa z vezanim »tovorom« – v najpreprostejši izvedbi je na protitelo vezana citotoksična spojina, ki po internalizaciji (vnosu kompleksa protein-protitelo v celico) povzroči njeno odmrtnje (slika 3B). Primer takega zdravila je Trastuzumab emtazin, prva tarčna kemoterapija za raka dojke. Tretji pristop so kompleksnejša večfunkcionalna terapevtska protitelesa, ki lahko pomagajo imunskemu sistemu prepoznati in uničiti rakasto celico (slika 3C). Tak primer je zdravilo Catumaxomab, ki je bilo prvo trifunkcionalno protitelo in hkrati prvo odobreno zdravilo za zdravljenje rakavih celic v trebušni vodenici, katere so pogosto povezane z epitelijskimi raki. Catumaxomab je hibridno protitelo, ki se hkrati veže na protein epitelijske celične adhezijske molekule EpCAM na površini rakastih celic in se hkrati veže preko receptorja CD3 na celice T, s tem pa sproži aktivacijo adaptivnega imunskega odgovora. To protitelo lahko aktivira tudi naravni imunski sistem, in sicer z vezavo na receptor za konstantno regijo protiteles, ki se nahaja na površini makrofagov, naravnih celic ubijalk in dendritskih celic. Na ta način lahko torej z umetno pripravljenimi protitelesi usmerimo nam lastni imunski sistem na želeno mesto in ga aktiviramo.

Kljub temu da predstavljajo tarčne terapije sodobnejši način zdravljenja in da je njihovo delovanje ciljno usmerjeno, pa niso brez neželenih stranskih učinkov. Že omenjeno zdravilo Catumaxomab je bilo leta 2017 umaknjeno s trga, k temu pa je domnevno pripomoglo prav dejstvo, da je bilo zdravilo premalo učinkovito, neželenih stranskih učinkov pa je bilo preveč (sproščanje signalnih proteinov citokinov in toksičnost za jetrne celice). V nekaterih primerih se vsi proteini na površini celic, ki se povečano izražajo pri rakavih celicah, pojavljajo tudi na površini (nekaterih) normalnih celic drugod v telesu. Konkretno, epitelijska celična ad-

Protein	Izvor rakavih celic	Terapevtsko protitelo
integrin $\alpha v \beta 3$	endotelijske celice	Etaracizumab
CAIX	debelo črevo	Girentuximab
CEA	debelo črevo	Labetuzumab, Arcitumomab, Besilesomab, Altumomab
CD44, v6	glava in vrat	Bivatuzumab
CXR4	dojke	BMS-936564
EGFR	glava in vrat, dojke	Cetuximab, Imgatuzumab, Panitumumab, Nimotuzumab, Matuzumab, Futuximab, Necitumumab, Zalutumumab
ErbB-2, Her2	dojke	Trastuzumab, Pertuzumab, Ertumaxomab
Emmprin	pankreas	Metuximab, Gabilimomab
Endoglin	endotelijske celice	TRC105
EpCAM	debelo črevo	Adecatumumab, Edrecolomab, Citatuzumab, Opportuzumab, Solitomab, Tucotuzumab, Catumaxomab
EphA2	jajčniki in melanomi	MEDI-547, Dasatinib, KB004
FAP- $\alpha$	s fibroblasti povezani raki	Sibrotuzomab, F19
Folat R	jajčniki	FARLETUZEMAB
GRP78	endotelijske celice	PAT-SM6
IGF-1R	debelo črevo	Cixutumumab, Figitumumab
Mezotelin	mezoteliom	Amatuximab
cMet/HGFR	pljuča	Rilotumumab, Onartuzumab, Ficlaturuzumab
Muc-1	dojke	Cantuzumab, Clivatuzumab
PSCA		AGS-1C4D4
PSMA	prostata	Capromab, J591
uPAR	debelo črevo	ATN-658

Tabela 1: Pregled za rakaste celice značilnih proteinov, proti katerim so bila pripravljena terapevtska protitelesa (Boonstra, De Geus, Prevoo, Hawinkels, Van De Velde, Kuppen, Vahrmeijer, Sier, 2016).

hezijska molekula (EpCAM) se tako v večji meri izraža tudi na sicer normalnih epiteljskih celicah, predvsem na površini celic v prebavnem traktu in ščitnici. Podobna težava je povezava z uporabo Trastuzumaba, ki prepozna receptor Her2 in se uporablja pri zdravljenju raka dojk – tarčni protein

Her2 se nahaja tudi na celicah srčne mišice, kar je neposredno povezano s kardiotoksičnostjo omenjenega protitelesa (Sandoo, Kitas, Carmichael, 2015). Dodatne težave predstavljajo heterogenost na ravni tumorjev ter celic samih in njihovega mikrookolja (med- in znotraj tumorska heterogenost),



Slika 3: Različni načini delovanja tarčnih protiteles.

slaba penetracija proteinskih terapevtikov v rakasto tkivo ter dejstvo, da se izražanje proteinov na površini celic med nastankom in napredovanjem rakavega obolenja spreminja (časovna heterogenost). Če spet za primer vzamemo epitelijsko celično adhezijsko molekulo (EpCAM), se ta povečano izraža na začetku razvoja karcinoma in na tumorskih matičnih celicah, po epitelijsko-mezenchimskem prehodu, povezanim z začetkom

metastaziranja, pa s površine rakastih celic izgine (Gires, Pan, Schinke, Canis, Baeuerle, 2020). Drug primer predstavlja uporaba terapevtskih protiteles Cetuximab in Panitumumab, usmerjenih proti receptorju za epidermalni rastni dejavnik (EGFR), kjer ne glede na videz optimalni izbor primernih bolnikov pride do pojava precejšnje odpornosti nekaterih rakavih celic zaradi znotraj-tumorske heterogenosti in pojava genetskih sprememb ravno kot posledica selekcijskega pritiska proti receptorju za epidermalni rastni dejavnik (EGFR) usmerjene terapije (Neves, Kwok, 2015). Za uspešen spopad z rakom je tako ključnega pomena podrobna opredelitev rakastega tkiva in njegove heterogenosti na začetku kot tudi neprestano spremljanje med zdravljenjem ter ustrezne prilagoditve terapevtskega pristopa, najbolje, podobno kot rakasto tkivo, zasnovanega heterogeno.

### Novejši načini zdravljenja s ciljanjem proteinov na površini

Zaradi želje po učinkovitejših pristopih zdravljenja raka je ogromno truda vloženega v iskanje novih in izboljšanih pristopov, pri čemer pa so številni šele v začetnih stopnjah testiranja in je tako kljub njihovi zmogljivosti težko napovedati, ali se bodo pokazali za učinkovite. Tak primer je nadgradnja opisanih terapij s protitelesi, imenovana AD-PET, kjer je na protitelo pritrjen encim, ki pretvarja zdravilno učinkovino iz neaktivne v aktivno obliko (Sharma, Bagshawe, 2017). Tako protitelo se veže na površino rakavih celic, nato pa v krvni obtok bolnika vnese neaktivno obliko zdravilne učinkovine, ki se aktivira šele v rakavem tkivu in uniči rakave celice. S tem dosežemo povečano selektivnost in zmanjšanje stranskih učinkov, saj zdravilna učinkovina ne uniči celic v normalnih tkivih.

Pri trdnih tumorjih, kjer težavo predstavlja razdalja med žilami v tumorju ter sam zunajcelični matriks, ki otežuje prehajanje molekul po tumorskem tkivu, je posebej

izrazit problem penetracije globlje v tkivo. S tem problemom se ukvarja več raziskav, med drugim tudi nedavna, v kateri avtorji opisujejo usmerjene magnetne nanobote z lastnim pogonom (Andhari, Wavhale, Dhobale, Tawade, Chate, Patil, Khandare, Banerjee, 2020). Nanobote so sestavili tako, da so spojili nanodelce iz magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) s protitelesi proti epitelijski celični adhezijski molekuli (EpcAM) ter nanocevkami iz ogljika, v te pa naložili tovor – kemoterapevtik doksorubicin. Nanodelci iz železovega oksida katalizirajo pretvorbo vodikovega peroksida, ki ga proizvajajo tumorske celice, v vodo in kisik, kar predstavlja gonilno silo, hkrati pa omogočajo vodenje nanobota z magnetom. S protitelesi proti epitelijski celični adhezijski molekuli (EpcAM) je doseženo ciljanje tumorskih celic, kjer po vezavi na epitelijsko celično adhezijsko molekulo (EpcAM) na njihovi površini pride do vnosa kompleksa v celico, kislo okolje lizosomov pa povzroči odprtje posebnih vratc nanocevk in s tem omogoči sprostitvev kemoterapevtika doksorubicina iz njihove notranjosti. Ta preko zaviranja prepisovanja genov in podvojevanja DNA deluje citotoksično. Kombinacija vseh navedenih komponent se je pokazala vsaj dvakrat bolj učinkovita kot le delne kombinacije ali posamezne komponente pri uničenju trdnega tumorja. Raziskava je bila sicer opravljena na modelnem sistemu, vsekakor pa kaže na velik potencial nanotehnologije pri razvoju novih terapevtskih pristopov.

Ciljanje proteinov na površini celic za ustrezno dostavo zdravnih učinkovin je neizogibno tudi pri povsem novih dostavnih sistemih in mehanizmih zdravljenja. Tak primer je uporaba bakterijskih minicelic, neživih sto do štiristo nanometrov velikih veziklkih, ki nastanejo pri abnormalni delitvi bakterijskih celic. Gre za zanimiv dostavni sistem, ker se minicelice niso sposobne deliti in zato ne morejo povzročiti okužbe, hkrati pa so še vedno metabolno aktivne in vsebujejo vse potrebne komponente za pre-

pisovanje in prevajanje genskega zapisa. Minicelice za dostavo terapevtskih učinkovin pripravljajo iz bakterij *Salmonella enterica*, serotip *Typhimurium* (*S. Typhimurium*) (MacDiarmid, Brahmabhatt, 2011). Za tarčno zdravljenje z minicelicami uporabljajo bispecifična protitelesa, ki hkrati prepoznajo protein na površini minicelic in protein na površini rakastih celic. Tak dostavni sistem uporablja zdravilo *TargomiR* (Reid, Kao, Pavlakis, Brahmabhatt, MacDiarmid, Clarke, Boyer, van Zandwijk, 2016), ki v minicelicah dostavlja mimetično mikroRNA (miRNA), ki posnema skupino mikroRNA miR-15/107, protitelo pa prepozna receptor za epidermalni rastni dejavnik (EGFR). Uporaba mimetikov mikroRNA sodi med novejšje mehanizme zdravljenja, temelji pa na tem, da z vnosom mimetikov mikroRNA popravlja v rakastih celicah porušeno uravnavanje izražanja proteinov z mikroRNA. Ena od sodobnejših terapij v zdravljenju raka je tudi zdravljenje s celično terapijo CAR-T. Pri tem umetno spremenimo bolnikove lastne celice T tako, da izražajo himerni antigenski receptor (CAR), ta pa prepoznava specifične proteine na površini rakavih celic. Celična terapija CAR-T ima precejšen potencial v zdravljenju rakavih obolenj, kot so na primer kronična limfocitna levkemija in B-celični limfomi, kaže pa se tudi, da za nekatere bolnike z rakom celična terapija CAR-T učinkuje le kratkoročno in jo je treba kombinirati z ostalimi že uveljavljenimi metodami (Dreger in sod., 2018).

### Zaključek

Kljub napredku v odkrivanju, spremljanju in zdravljenju rakavih obolenj ta še vedno predstavljajo veliko uganko. Proteini na površini celic zagotovo pomenijo pomembni del sestavljanke, saj so zaradi svoje izpostavljenosti tudi dobra tarča usmerjenih terapij. Njihove pomanjkljivosti pa ne gre pripisati lastnostim proteinov na površini celic kot takih, temveč dejstvu, da je rak izredno kompleksna in dinamična bolezen. Z



napredkom pri raziskavah, ki odkrivajo temeljne lastnosti rakavih obolenj na molekularni ravni, tako genetski kot na ravni RNA in proteinov, ter razvojem in uporabo diagnostičnih pristopov spremljanja razvoja rakavih obolenj ob pomoči umetne inteligence bo v prihodnosti mogoče te pomanjkljivosti odpraviti, in sicer s prilagajanjem zdravljenja vsakemu bolniku in vsakemu rakavemu obolenju posebej.

#### Literatura:

- Andhari, S. S., Wavhale, R. D., Dbohale, K. D., Tawade, B. V., Chate, G. P., Patil, Y. N., Khandare, J. J., Banerjee, S. S., 2020: *Self-Propelling Targeted Magneto-Nanobots for Deep Tumor Penetration and pH-Responsive Intracellular Drug Delivery*. *Scientific Reports*, 10: 4703.
- Bausch-Fluck, D., Goldmann, U., Müller, S., van Oostrum, M., Müller, M., Schubert, O. T., Wollscheid, B., 2018: *The in silico human surfaceome*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115: E10988–E10997.
- Bianconi, D., Unsel, M., Prager, G. W., 2016: *Integrins in the spotlight of cancer*. *International Journal of Molecular Sciences*, 17 (12): 2037.
- Boonstra, M. C., De Geus, S. W. L., Prevoo, H. A. J. M., Hawinkels, L. J. A. C., Van De Velde, C. J. H., Kuppen, P. J. K., Vahrmeijer, A. L., Sier, C. F. M., 2016: *Selecting Targets for Tumor Imaging: An Overview of Cancer-Associated Membrane Proteins*. *Biomark. Cancer*, 8: BIC.S38542.
- Cancer Research UK. Dostopno: <https://www.cancerresearchuk.org/health-professional/cancer-statistics-for-the-uk>.
- Dreger, P., in sod., 2018: *High-risk chronic lymphocytic leukemia in the era of pathway inhibitors: integrating molecular and cellular therapies*. *Blood*, 132: 892–902.
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Mathers, C., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., Bray, F., 2019: *Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods*. *International Journal of Cancer*, 144: 1941–1953.
- Gaber, A., Lenarčič, B., Pavšič, M., 2020: *Current View on EpCAM Structural Biology*. *Cells*, 9: 1361.
- Gires, O., Pan, M., Schinke, H., Canis, M., Baeuerle, P. A., 2020: *Expression and function of epithelial cell adhesion molecule EpCAM: where are we after 40 years?* *Cancer and Metastasis Reviews*, 39: 969–987.
- Hanahan, D., Weinberg, R. A., 2011: *Hallmarks of cancer: The next generation*. *Cell*, 144: 646–674.
- Ishikawa, T., Ichikawa, Y., Shimizu, D., Sasaki, T., Tanabe, M., Chishima, T., Takabe, K., Endo, I., 2014: *The role of HER-2 in Breast Cancer*. *Journal of Surgery Science*, 2: 4–9.
- Jesenko, T., Grašič - Kubar, C., Čemažar, M., 2018: *Tekoćinska biopsija pri raku*. *Onkologija*, 22 (2): 26–31.
- MacDiarmid, J. A., Brahmabhatt, H., 2011: *Minicells: Versatile vectors for targeted drug or si/shRNA cancer therapy*. *Current Opininion in Biotechnology*, 22: 909–916.
- Neves, H., Kwok, H. F., 2015: *Recent advances in the field of anti-cancer immunotherapy*. *BBA Clinical*, 3: 280–288.
- Paoletti, C., Hayes, D. F., 2016: *Circulating Tumor Cells. v Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)* 1692, 235–258.
- Rakashanda, S., Rana, F., Rafiq, S., Masood, A., Amin, S., 2012: *Role of proteases in cancer: A review*. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 7: 90–101.
- Reid, G., Kao, S. C., Pavlakis, N., Brahmabhatt, H., MacDiarmid, J., Clarke, S., Boyer, M., van Zandwijk, N., 2016: *Clinical development of TargomiRs, a miRNA mimic-based treatment for patients with recurrent thoracic cancer*. *Epigenomics*, 8: 1079–1085.
- Rietdorf, S., O'Flaherty, L., Hille, C., Pantel, K., 2018: *Clinical applications of the CellSearch platform in cancer patients*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 125: 102–121.
- Roth, G. A., in sod., 2018: *Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017*. *Lancet*, 392: 1736–1788.
- Sandoo, A., Kitas, G., Carmichael, A., 2015: *Breast cancer therapy and cardiovascular risk: focus on trastuzumab*. *Vascular Health and Risk Management*, 11: 223.
- Sharma, S. K., Bagshawe, K. D., 2017: *Antibody Directed Enzyme Prodrug Therapy (ADEPT): Trials and tribulations*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 118: 2–7.
- Sigismund, S., Avanzato, D., Lanzetti, L., 2018: *Emerging functions of the EGFR in cancer*. *Molecular Oncology*, 12: 3–20.
- Tomasetti, C., Vogelstein, B., 2015: *Variation in cancer risk among tissues can be explained by the number of stem cell divisions*. *Science*, 347: 78–81.
- Zadnik, V., in sod., 2017: *Rak v Sloveniji 2017*.
- Zhang, Y. K., Wang, Y. J., Gupta, P., Chen, Z. S., 2015: *Multidrug Resistance Proteins (MRPs) and Cancer Therapy*. *AAPS Journal*, 17: 802–812.