

MOLEKULARNA MEDICINA

Bakterije uzrokuju zgrušavanje krvi

Već dugo je poznata pojava pojačanog zgrušavanja krvi tijekom sepse ili bakterijskih infekcija. Smatra se da je to posljedica odgovora imunološkog sustava domaćina na upalu, odnosno bakterijama posredovanog aktiviranja čimbenika koji potiču zgrušavanje krvi. Međutim, potkraj 2008. godine je pokazano da bakterije mogu i izravno uzrokovati zgrušavanje krvi, procesa za koji se smatra da se izgubio tijekom evolucije vertebrata. Otkriće će pomoći znanstvenicima u razumijevanju pojave pojačanog zgrušavanja krvi tijekom bakterijskih infekcija i, možda, pridonijeti liječenju teških medicinskih stanja kao što su sepsa i antraks.



Dosadašnju metodu cistoskopije u otkrivanju ranih stadija karcinoma mokraćnog mjehura uskoro bi mogla zamijeniti neinvazivna metoda, tzv. NMP22-test.

Nakon što se stvori, ugrušak može rasti. Iako stvaranje ugruška može pomoći sprječavanju širenja bakterija organizmom domaćina, ono često uzrokuje ozbiljna oštećenja krvnih žila. Ključno za stvaranje ugruška je smještaj bakterija, a ne njihov broj, odnosno koncentracija. Drugim riječima, zgrušavanje će se dogoditi samo ako se bakterije nakupe na određenome mjestu i ako se u okolini bakterija nakupi dovoljno proteaza koje aktiviraju zgrušavanje. U specifičnom slučaju, tj. upotrebom patogena koji uzrokuje antraks,

kazano je da se radi o Zn-metaloproteinazi InhA1, koja izravno (a ne putem faktora XII ili tkivnim čimbenicima zgrušavanja) aktivira protrombin i faktor X-zgrušavanja.

Brzo otkrivanje karcinoma mjehura s NMP22 specifičnim testom

Konačna potvrda postojanja karcinoma mokraćnog mjehura može se dobiti jedino ispitivanjem tkiva mokraćnog mjehura. Trenutačno je najčešća metoda postavljanja dijagnoze cistoskopija (vizualno ispitivanje unutrašnjosti mokraćnog mjehura upotrebom endoskopa koji se uvodi u oboljelu osobu kroz ureter). Međutim, pronađena je nova neinvazivna metoda identifikacije najranijih stadija karcinoma mokraćnog mjehura, tzv. NMP22-test.

NMP je protein koji se nalazi u jezgri svih stanica. Većina zdravih ljudi ima u urinu veoma male količine NMP22. Međutim, stanice karcinoma mokraćnog mjehura otpuštaju dodatne količine NMP22 u urin, gdje ga se može detektirati spomenutim testom. Protein se može detektirati u najranijim stadijima razvitka tumora, što ga čini idealnim biljekom rane dijagnoze ovog tumora. Test se provodi ambulantno, a rezultati su dostupni već nakon 30 minuta.

Kako bakterije izbjegavaju imunološki nadzor

Potkraj 2008. godine objavljen je članak (El Kasmi KC i sur, Nature Immunology, DOI 10.1038/ni.1671) kojim je objašnjeno kako neke bakterije (tzv. unutarstanični patogeni) izbjegavaju imunološki nadzor domaćina. Radi se o bakterijama koje žive i dijele se unutar makrofaga, stanica koje su prva linija obrane od patogena. U većini slučajeva makrofagi „proždiru“ patogen i razaraju ga u lizosomima specifičnim molekulama, kao što je npr. slobodni dušikov radikal (NO). Nakon toga prezentiraju antigene patogena na svojoj membrani čime se, nakon prepoznavanja antigena limfocitima T_H, pokreće specifična imunološka reakcija. Očito je da ove unutarstanične bakterije na neki način izbjegavaju ubojito djelovanje NO-a. U prirod-



Unutarstanične bakterije, *Mycobacterium tuberculosis*, izbjegavaju ubojito djelovanje NO-a unutar makrofaga povećavanjem razine arginaze

nim su uvjetima količina i djelovanje NO-a regulirani inhibitorom NO-a, arginazom, koja razgrađuje supstrat potreban za stvaranje NO-a.

Autori spomenutog članka su pokazali da unutarstanične bakterije, *Mycobacterium tuberculosis*, povećavaju razinu arginaze u makrofagima i tako smanjuju stvaranje NO-a koji bi ih uništio. Pokusi su provedeni na arginaza „nock out“ miševima (miševi čiji makrofagi ne stvaraju arginazu). Nakon infekcije ovakvih životinja s *M. tuberculosis* opažena je smanjena prisutnost bakterija u plućima, kao i povećano stvaranje NO-a. Isto je nađeno i nakon infekcije miševa s unutarstaničnim parazitom koji uzrokuje toksoplazmozu. Općenito, opaženo je da arginaza „nock out“ miševi nakon infekcije unutarstaničnim patogenima žive dulje od životinja u kojima je gen za arginazu aktivan. Međutim, kada se životinje zaraze bakterijama koje NO ne ubija, manjak arginaze ne djeluje na, prema bakterijama, ubojitu sposobnost makrofaga.

Otkrivanje prekanceroznih lezija vrata maternice

Otkrivanje prekanceroznih lezija, ali i tumora vrata maternice, uobičajeno se provodi testom po Papanicolaou (Papa test). Njegovo rutinsko provođenje diljem svijeta već niz godina uvelike je smanjilo učestalost pojave tumora vrata maternice.

Mayrad i suradnici objavili su nalaze prve faze epidemioloških istraživanja (*Canadian Cervical Cancer Screening Trial*) u kojima je sudjelovalo više od 10.000 žena u dobi od 30 do 69 godina, a koje su bile

podvrgnute ili Papa testu ili novom HPV-DNA testu (odobren od FDA; još nije u širokoj primjeni) za otkrivanje cervikalne intraepitelijalne neoplazije (CIN) visokog stupnja. Bez obzira je li test bio pozitivan ili negativan, sve su žene podvrgnute kolposkopiji i uzimanju biopata. Osjetljivost HPV testiranja bila je 94,6%, a osjetljivost Papa testa 55,4%. Specifičnost je za HPV test bila 94,1%, a za Papa test 96,8%. Autori vjeruju da će prijelaz sa staničnog (Papa test) na virusni (HPV-DNA) test, povezan s edukacijom i vakcinacijom, pridonijeti boljoj učinkovitijoj kontroli razvitka cervikalnog tumora.

U drugoj studiji, koju je objavio „New England Journal of Medicine“, ispitivano je više od 12.000 žena u dobi od 32 do 38 godina. Nasumično su podijeljene u skupinu žena u kojih je načinjem i HPV-DNA i Papa test te skupinu žena u kojih je načinjen samo Papa test (kontrola). Žene i prve i druge skupine koje su bile pozitivne podvrgnute su kolposkopiji i uzimanju biopata. U prvoj je skupini žena nađeno 51% više lezija gradusa 2 ili 3 i/ili tumora nego u kontrolnoj skupini žena (samo Papa test). Prema tome, primjena HPV-DNA testa (uz Papa test) može smanjiti učestalost pojave



Paclitaxel je prirodni spoj izoliran prvobitno iz kore Pacifičke tise (*Taxus brevifolia*). Naknadno je utvrđeno da se paclitaxel nalazi i u svim ostalim vrstama roda *Taxus*, uključujući i europsku (*Taxus baccata*), himalajsku (*Taxus Wallichiana*), kinesku (*Taxus celbita*), japansku (*Taxus cuspidata*), kanadsku (*Taxus canadensis*), meksičku (*Taxus globosa*) te floridsku tisu (*Taxus floridana*), ali i u svim ostalim hibridima

prekanceroznih lezija, ali i tumora vrata maternice.

HPV-DNA test koji je upotrebljavan u obje studije nije široko dostupan. Da bi postao dostupan svima, treba ga učiniti brzim, jednostavnim, točnim i cijenom primjerenim.

Rezistencija na paclitaxel

Paclitaxel je vrsta taksana; upotrebljava se kao kemoterapeutik za liječenje osoba koje boluju od tumora pluća, jajnika, dojke, glave i vrata i uznapredovalih oblika Kaposhijevog sarkoma. Otkriven je, izoliran, 1967. godine iz vrste *Taxus brevifolia*. Tada je nazvan taxol. Kasnije je ovo generičko ime promijenjeno u paclitaxel, a supstanca se prodaje pod nazivom Taxol. Taxolu je mehanizmom djelovanja veoma sličan taksan docetaxel, koji se prodaje pod nazivom Taxotere. Paclitaxel je inhibitor mitotičke mikrotubule hiperstabilizacije; čini mikrotubule hiperstabilnim, što onemogućava stanicama upotrebu citoskeleta na „fleksibilan“ način. Točnije, Paclitaxel se veže na β -podjedinicu tubulina, glavnog proteina mikrotubula. Nastali kompleks se ne može razdvojiti, što onemogućava skraćivanje i produživanje mikrotubula (tzv. dinamička stabilnost) nužno potrebnih za normalno funkcioniranje mikrotubula. Rezultat je smrt stanice.

Međutim, čak je 50% tumora jajnika i dojke rezistentno na djelovanje ovog lijeka. Iako su pronađeni mnogi mehanizmi rezistencije na paclitaxel, uloga izvanstaničnog matriksa, koji regulira stabilnost mikrotubula, još je nepoznata. Ahmed A. A. i suradnici (*Cancer Cell* 12:514, 2007.) pokazali su da gubitak proteina TGFBI (od engl. *transforming growth factor β -induced*) izvanstaničnog matriksa u tumorima jajnika smanjuje reagiranje na paclitaxel. Ovo je dodatno potvrđeno nalazom 1000 puta smanjene ekspresije gena TGFBI u paclitaxel rezistentnim staničnim linijama tumora jajnika (SKOV-3), a u usporedbi s na paclitaxel osjetljivom staničnom linijom. Autori su potvrdili da utišavanje gena TGFBI čini SKOV-3 stanice rezistentnim na paclitaxel – djelovanje mikrotubula ostaje više-manje normalno. Kako i zašto se to događa? Poznato je da

A new angle
on cell culture

The new GIBCO® bottle.
Accessible, stackable, findable.

GIBCO® invitrogen®

protein TGFBI posreduje adheziju na o integrinima ovisan način. Utišavanjem nizvodnih proteina fokalne adhezije, FAK i RHOA, koji su potrebni za fibronektinom posredovanu stabilizaciju mikrotubula, autori su pokazali da su oba proteina potrebna za stabilizaciju mikrotubula u stanicama tretiranim s rekombinantnim TGFBI.

Autori su također analizirali uzroke 20 tumora jajnika osoba koje su sudjelovale u prospektivnom kliničkom istraživanju, a koje je bilo dizajnirano tako da se ispita mehanizam molekularne reakcije na paclitaxel. Pokazali su da su morfološke promjene tipične za paclitaxelom posredovan citotoksični učinak bile ograničene na regije visoke ekspresije TGFBI unutar tumora. Autori su potom analizirali DNA čip metodom 233 uzorka karcinoma jajnika i pokazali da je ekspresija gena TGFBI tijesno regulirana s drugim, za izvanstanični matriks važnim genima (npr. trombospondin), a koji sudjeluju u poticanju osjetljivosti na paclitaxel.

Gorea Plus d.o.o.
Svetonedeljska cesta 97,
Kerestinec
10431 Sveta Nedelja
Hrvatska

Phone.: +385 1 336 96 10; +385 1 336 96 12
Fax: +385 1 336 96 11 Mobile: +385 98 279 389
E-mail: gorea@gorea-plus.hr; prodaja@gorea-plus.hr
www.gorea-plus.hr