

REPOZICIONIRANJE ZDRAVIL: METFORMIN IN VALPROJSKA KISLINA ZA ZDRAVLJENJE GLIOBLASTOMA

DRUG REPURPOSING: METFORMIN AND VALPROIC ACID FOR GLIOBLASTOMA TREATMENT

AVTORICE / AUTHORS:

Zala Žužek, mag. mikrobiol.^{1,2}

Lara Bolčina, mag. farm.^{1,3}

Ana Kump, mag. farm.^{1,4}

znanstv. sod. dr. Ivana Jovčevska, inž. kemije¹

¹ Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta,
Medicinski center za molekularno biologijo,
Inštitut za biokemijo, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

² Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta,
Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana

³ Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva cesta 7, 1000 Ljubljana

⁴ Inštitut Jožef Stefan,
Jamova cesta 39, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:

E-mail: ivana.jovcevska@mf.uni-lj.si

POVZETEK

Glioblastom je najpogostejša in najbolj agresivna oblika primarnega možganskega tumorja pri človeku. Zdravljenje, ki omogoča podaljšanje življenjske dobe pacientov do 15 mesecev, obsega operativni poseg, obsevanje in kemoterapijo. Zaradi specifične lokacije tumorja je odkrivanje novih zdravil zapleteno in drago, zato je repozicioniranje že znanih zdravil časovno in ekonomsko učinkovit pristop za odkrivanje alternativnih oblik zdravljenja. Številna že obstoječa zdravila, katerih prvotni namen ni zdravljenje raka, so že izkazala svoj potencial pri zdravljenju glioblastoma. Pri zdravljenju glioblastoma pozornost posvečamo učinkovinom, ki lahko prehajajo krvno-možgansko pregrado: antidiabetikom, antipsihotikom in antiepileptikom. Raziskave kažejo, da lahko kombinacije antidiabetika metformina oz. antiepileptika valprojske kisline s standardno terapijo za glioblastom podaljšajo preživetje bolnikov. Kljub vsem do sedaj znanim dejstvom, pa je potrebno natančneje opredeliti mehanizme delovanja in vloge repozicioniranih učinkovin pri razvoju in zdravljenju glioblastoma, da preprečimo nepotrebne zaplete in morebitne škodljive učinke.

KLJUČNE BESEDE:

glioblastom, metformin, repozicioniranje zdravil, valprojska kislina

ABSTRACT

Glioblastoma is the most common and lethal brain malignancy. Standard treatment consists of surgery, radiotherapy and chemotherapy, and results in life expectancy of 15 months after diagnosis. Due to the specific location of the tumor, designing new drugs is complicated and expensive. Drug repurposing is an economic and time-saving way for identification of alternative treatment options. Numerous existing drugs whose initial purpose was not to treat cancer, have already proven successful against glioblastoma. For glioblastoma, attention is paid to antidiabetic drugs, antipsychotics and antiepileptics that can easily cross the blood-brain barrier. Studies show that adding the antidiabetic metformin or antiepileptic drug valproic acid to the standard glioblastoma therapy might prolong patient survival. However, the exact mechanisms of action



should further be studied and possible interactions should be examined in order to avoid unnecessary complications and adverse effects.

KEY WORDS:

drug repurposing, glioblastoma, metformin, valproic acid

1 UVOD

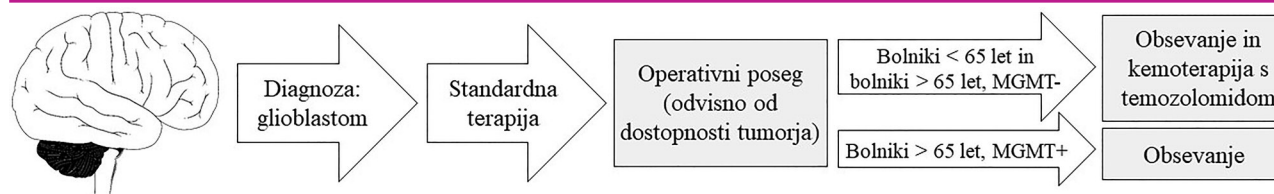
Glioblastom je vrsta možganskega tumorja, ki se razvije iz zvezdasto oblikovanih celic glia – astrocitov. Populacijo celic, v katerih se prične razvoj tumorja, imenujemo matične celice glioblastoma. Glede na klasifikacijo Svetovne zdravstvene organizacije (WHO, *World Health Organization*) glioblastom uvrščamo med astrociteme razreda IV, najbolj agresivne maligne tumorje te vrste (1). V letih 2012–2016 so med možganskimi tumorji in tumorji centralnega živčnega sistema diagnosticirali kot glioblastom 14,6 % vseh tumorjev in 48,3 % malignih tumorjev (2). Potek bolezni je odvisen od lokacije in dinamike širjenja tumorja, povprečen čas preživetja zdravljenega pacienta je 15 mesecev (3). Diagnozo podamo na podlagi preiskave z magnetno resonanco (MRI, *magnetic resonance imaging*) ali z računalniško tomografijo (CT, *computed tomography*). Standardni postopki zdravljenja (slika 1) so namenjeni ohranjanju stabilnega stanja pacienta in začasnemu izboljšanju kakovosti življenja. Terapevtski pristopi vključujejo operativni poseg, obsevanje in kemoterapijo. Če lokacija tumorja omogoča kirurško odstranitev brez vpliva na funkcionalne sposobnosti bolnika, izvedemo operativni poseg. K daljši življenjski dobi pripomore zgolj popolna odstranitev tumorja skupaj z drugimi oblikami zdravljenja (4). Pri bolnikih, starejših od 65 let, določimo status metilacije promotora encima O^6 -metilgvanin DNK metiltransferaze (MGMT, *O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase*), ki ima pomembno vlogo pri

popravlilu poškodb DNK, do katerih prihaja med kemoterapijo. Bolnike, starejše od 65 let, ki imajo metilirano obliko MGMT, zdravimo samo z obsevanjem (4, 5). Bolniki z metiliranim MGMT in bolniki, mlajši od 65 let, pa zdravljenje nadaljujejo s kombinacijo obsevanja in kemoterapije s temozolomidom (TMZ) ter dodatno kemoterapijo s TMZ (4, 5) (slika 1). Poleg protitumorskega delovanja je pomembna lastnost zdravil za glioblastom tudi sposobnost prehajanja krvno-možganske pregrade. V okviru standardne terapije je na voljo le nekaj alternativ: protitelo bevacizumab proti vaskularnemu endotelijskemu rastnemu dejavniku (VEGF, *vascular endothelial growth factor*) ter citostatične spojine nitrozosečnine (karmustin in lomustin) (5).

Nizka stopnja preživetja pacientov z glioblastomom je v veliki meri posledica pogoste ponovitve tumorja po zdravljenju. K ponovitvi pripomorejo genetska raznolikost, vraščanje v zdrava sosednja tkiva, hipoksično in imunosupresivno okolje tumorja ter razvoj odpornosti na zdravljenje, še posebej matičnih celic glioblastoma, ki imajo sposobnost samoobnavljanja in diferenciacije (6, 7). Pojavlja se potreba po razvoju novih zdravil, ki zahteva veliko časa in denarja, boljša učinkovitost pa ni zagotovljena. Razvoj večine novih tarčnih terapij se ustavi pri kliničnem preskušanju zaradi neučinkovitega prehoda krvno-možganske pregrade (7).

2 REPOZICIONIRANJE ZDRAVIL

V zadnjih letih se uveljavlja koncept repozicioniranja zdravil, ki temelji na iskanju nove terapevtske uporabnosti že obstoječih zdravil, prvotno namenjenih za zdravljenje drugih bolezni (6). Repozicioniranje izvedemo s farmakoepidemiološkimi raziskavami, na podlagi katerih povežemo uporabo zdravila z napredovanjem tumorja ali z metodami *in silico*, kjer z uporabo bioinformatičnih algoritmov analiziramo različne baze podatkov (NCBI TuPhenome-Genome Integrator, Human Protein Atlas, GeneCards, DrugBank



Slika 1: Standardni potek zdravljenja pacientov z glioblastomom.
Figure 1: Standard therapy for patients with glioblastoma.

itd.) in ugotavljamo nove povezave med zdravili, tarčami in boleznimi (8). Glavne prednosti repozicioniranja zdravil so nižji stroški raziskav, manj vložnega časa in manjša možnost neuspeha zaradi že opravljenih predkliničnih preskušanj in s tem znanih farmakokinetičnih in toksikoloških lastnosti (6). Za odobritev novega namena obstoječega zdravila v Evropski uniji ni standardiziranih postopkov oziroma regulativnih smernic, potrebno pa je predložiti zadostne dokaze predkliničnih preskušanj in podpreti z ustrežno strokovno literaturo (9, 10). Številna že obstoječa zdravila, katerih prvotni namen ni zdravljenje raka, so že izkazala svoj potencial pri zdravljenju glioblastoma (11). Mednje uvrščamo antimalarike, antiidiabetike, protivnetna zdravila, zaviralce popravljanih mehanizmov DNK, zaviralce različnih signalnih poti in angiogeneze, zdravila za srčno-žilne, dermatološke in pljučne bolezni ter zdravila, ki ciljajo epigenetske modifikatorje (12, 13). V članku smo se osredotočili na antiidiabetik metformin in antiepileptik valprojsko kislino, ki dokazano prehajata krvno-možgansko pregrado (7).

2.1 VLOGA ANTIDIABETIKOV

Povečana proliferativna aktivnost rakavih celic zahteva večjo potrebo po substratih, ki so potrebni za normalen potek glavnih biosinteznih poti celice, ter poveča in spremeni način porabe hranil. V zadnjih letih je proučevanje metaboloma rakavih celic omogočilo razumevanje, kako lahko presnovne spremembe, ki so povezane z rakom, povzročijo terapevtsko odpornost in kako jih lahko uporabimo kot tarče za zdravljenje. Posledično se je pozornost usmerila v iskanje zdravil, ki vplivajo na presnovne procese ogljikovih hidratov, beljakovin in lipidov (14).

Osnovno zdravljenje glioblastoma vključuje kombinacijo obsevanja in kemoterapije. Najbolj učinkovit citostatik je TMZ. Njegov mehanizem delovanja v osnovi temelji na metilaciji gvanidinske baze DNK v O⁶-metilgvanidin, kar povzroči motnje v podvojevanju DNK in tako vodi v apoptozo rakavih celic (15). Mehanizem delovanja TMZ na rakave celice vključuje številne signalne poti, med drugim aktivacijo adenozin monofosfat kinaze (AMPK, 5' *adenosine monophosphate-activated protein kinase*) (16). Eden izmed pristopov zdravljenja glioblastoma je zato dodatno povečanje aktivnosti AMPK, s čimer se lahko poveča učinkovitost TMZ. Pri tem ima pomembno vlogo metformin (14).

Metformin

Metformin ima številne fizikalno-kemijske lastnosti, ki bi lahko pozitivno doprinesle k njegovi uporabi v zdravljenju

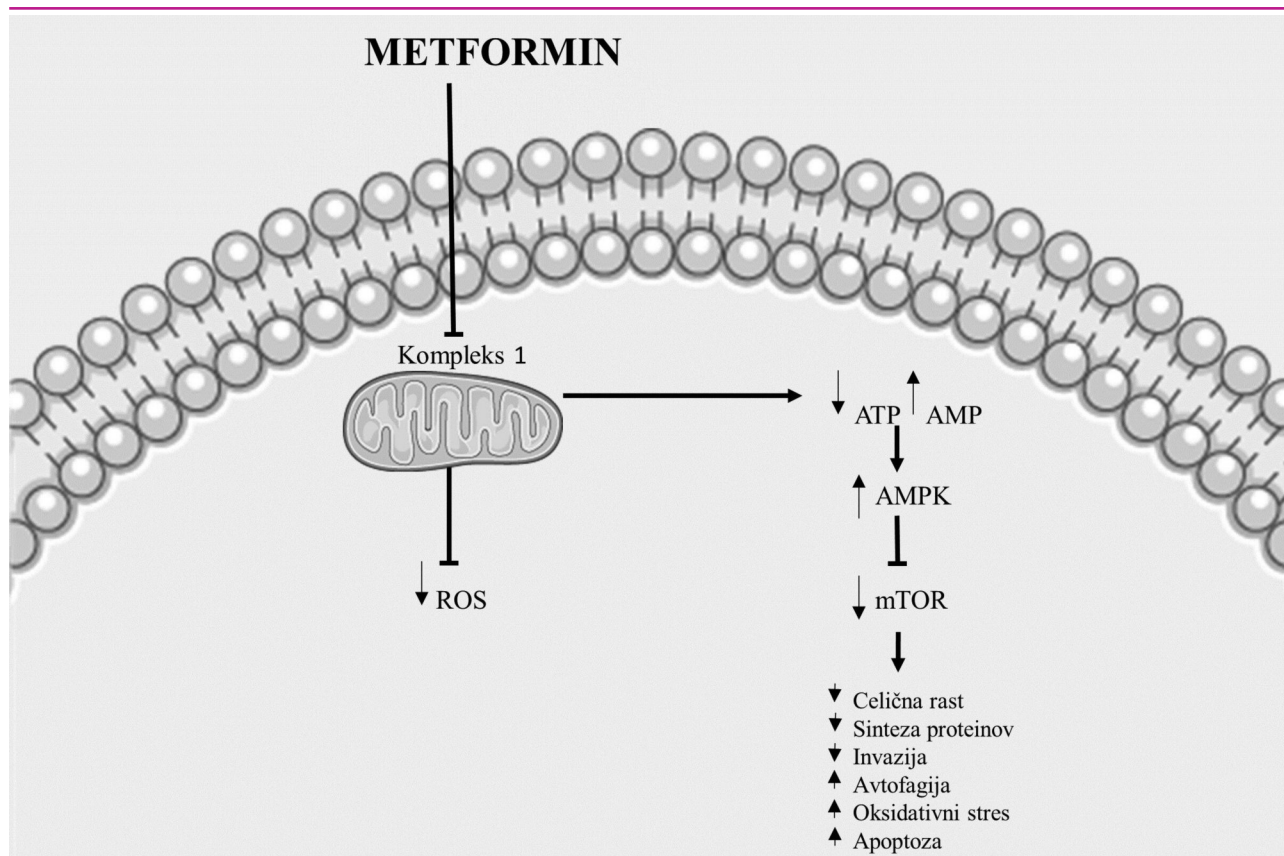
možganskih tumorjev, če bi bila njegova učinkovitost za to indikacijo odobrena. Metformin je majhna, amfoterna molekula, topna v vodi, hkrati pa ima zaradi nepolarne verige ogljikovodikov tudi lipofilne lastnosti, ki mu omogočajo vezavo na lipidne domene celične membrane (17). Dokazali so tudi njegovo sposobnost prehoda krvno-možganske pregrade (18).

Metformin je prva izbira pri zdravljenju sladkorne bolezni tipa 2. Gre za bigvanidin, ki zmanjša nastajanje glukoze v jetrih, upočasni absorpcijo glukoze v črevesju ter poveča občutljivost celic na inzulin (19). Delovanje metformina je na molekularni ravni kompleksno in še vedno ni popolnoma raziskano, znano pa je, da deluje preko z AMP aktivirane protein kinazne poti in preko poti, ki ni odvisna od AMPK (20).

Metformin aktivira AMPK, ki preko različnih signalnih poti inhibira mehanistično tarčo za rapamicin (mTOR, *mammalian target of rapamycin*) (slika 2). Številne raziskave so potrdile povečano aktivnost mTOR v glioblastomu, zato je inhibicija tega eden izmed obetavnih terapevtskih pristopov zdravljenja (21). mTOR deluje kot serin/treonin protein kinaza, ki regulira celično rast in delitev, sintezo proteinov in lipidov, avtofagijo, celično gibljivost ter prepisovanje DNK, njegova inhibicija pa vodi v zaviranje rasti tumorja (22).

Drugi mehanizem protitumornega delovanja metformina temelji na oksidativnem stresu. Metformin inhibira kompleks 1 v dihalni verigi, ki je odgovoren za prenos elektronov z NADH na ubikinon. Inhibicija kompleksa 1 vodi v spremenjena mitohondrijski transmembranski potencial in raven kalcija, zaradi česar je motena sinteza ATP, kar povzroči povečan oksidativni stres, ki negativno vpliva na celice (23). V raziskavah so dokazali zmanjšano aktivnost kompleksa 1 v glioblastomskih celicah po vnosu metformina (23). Zaradi kompleksnosti signalnih poti, preko katerih deluje metformin, še ne poznamo natančnega mehanizma delovanja metformina na rakave celice (22).

Do sedaj so dokazali, da sočasen vnos metformina med terapijo s TMZ poveča citotoksičnost TMZ, kar ima za posledico večje uničenje rakavih celic v primerjavi z monoterapijo (23). Podoben učinek so opazili tudi pri sočasni terapiji z obsevanjem (24). Dokazali so tudi, da metformin s svojim delovanjem poveča občutljivost glioblastomskih celic na TMZ *in vitro* in *in vivo* (25). Pri sladkornih bolnikih, ki se zdravijo z metforminom, niso odkrili povezave z zmanjšanim tveganjem za razvoj glioblastoma, vendar pa se preživetje sladkornih bolnikov z glioblastomom podaljša za 10,13 mesecev (26). Ker je uporaba



Slika 2: Celične tarče metformina. Povzeto po (22).

Figure 2: Cellular targets of metformin. Adopted from (22).

metformina povezana z boljšim preživetjem pacientov z glioblastomom, na tem področju že izvajajo klinična preskušanja. Trenutno so registrirane štiri klinične raziskave, v katerih preskušajo uporabo metformina v terapiji glioblastoma, ena raziskava pa se je že zaključila, vendar njeni izsledki še niso znani (27).

Kljub vsem do sedaj znanim dejstvom pa bi bile potrebne dodatne raziskave, s katerimi bi natančneje opredelili mehanizem in vlogo metformina pri razvoju in zdravljenju glioblastoma.

2.2 UPORABA ANTIPSIHOTIKOV

Pogosto imajo bolniki z glioblastomom tudi pridružene duševne motnje, kot so depresija, tesnoba, psihoza in akutno stanje zmedenosti (28). Za izboljšanje kakovosti življenja teh bolnikov in lajšanje duševnih motenj jim pogosto predpisujemo antipsihotike (29). Prednosti uporabe znanih antipsihotikov so sposobnost prehoda krvno-možganske pregrade, kjer dosežejo enakomerno porazdelitev, in že

obstoječe klinične raziskave (28). Podatki iz epidemioloških raziskav kažejo, da uporaba antipsihotikov zmanjšuje pojavnost gliomov pri pacientih s shizofrenijo v primerjavi s splošno populacijo (30, 31). Povezavo med tipičnimi antipsihotiki in glioblastomom predstavljajo dopaminski receptorji D_2 , ki jih tipični antipsihotiki blokirajo in s tem onemogočijo proliferacijo, invazijo in rast glioblastomskih celic. Atipični antipsihotiki lahko delujejo preko zaviranja dopaminskih receptorjev D_1 , D_2 in D_4 (npr. klopazipin in olanzepin) in serotoninkega receptorja $5-HT_{2A}$ (npr. klopazipin in olanzepin), regulacije aktivnosti AMPK (npr. olanzepin in kvetiapin) ali kot epigenetski modifikatorji (npr. valprojska kislina).

Razdelitev antipsihotikov, ki jih uporabljamo v klinični praksi, je prikazana v preglednici 1. Poleg duševnih motenj pri 22 do 60 % obolelih z glioblastomom prihaja do epileptičnih napadov (7). V članku smo se osredotočili na valprojsko kislino, ki je ena izmed najbolj raziskanih in najpogosteje predpisanih zdravilnih učinkovin za preprečevanje in zdravljenje epileptičnih napadov.

Preglednica 1: Najpogostejša zdravila z vplivom na osrednji živčni sistem, ki jih raziskujejo kot potencialne zdravilne učinkovine za zdravljenje glioblastoma.

Table 1: Most common drugs affecting the central nervous system that are examined as potential drugs for glioblastoma treatment.

Zdravilna učinkovina	Način delovanja	Bolezen	Vloga pri zdravljenju glioblastoma	Vir
Tipični antipsihotiki (haloperidol, trifluoperazin, flufenazin, tioridazin, perfenazin, klorpromazin)	zaviralci receptorja D ₂	shizofrenija, akutna manija, bipolarna motnja, psihoza, Tourettov sindrom	↓ proliferacija, ↓ invazija in rast neodvisno od sidranja, ↓ receptor AMPA glutamat, ↓ mitohondrijska C-oksidaža, ↑ avtofagija, ublažitev aktivacije signalne poti PI3K-Akt/mTOR	(7)
Atipični antipsihotiki (olanzapin, klozapin, asenapin, lurasidon, ziprazidon)	motilci in zaviralci receptorja 5-HT _{2A} , agonisti 5-HT _{1A} , M ₁ , D, H ₁ ter receptorjev α ₁ in α ₂	shizofrenija, bipolarna motnja, klinična depresija, anksioznost, Huntingtonova bolezen	↓ namnoževanje celic <i>in vitro</i> in <i>in vivo</i> , ↓ celična viabilnost, ↓ fosforilacija AKT (Ser473) in GSK-3β (Ser9), ustavitev celičnega cikla v G0/G1 fazi, vpliv na raven AMPK	(7, 29, 32, 33)
Antiepileptiki (valprojska kislina, karbamazepin, levetiracetam, topiramet)	podaljšajo inaktivacijo Na ⁺ napetostno odvisnega kanala, zaviralci GABA transaminaze	epilepsija, migrena, bipolarna motnja	↓ celična rast, ↓ angiogeneza, ↑ občutljivost na obsevanje, ↑ apoptoza, hiperacetilacija histonov in zastoj celičnega cikla	(7, 28, 34)
Pomirjevala in uspavala (benzodiazepini diazepam, lorazepam, triazolam, temazepam)	povečajo frekvenco odpiranja Cl ⁻ ionskega kanala	tesnoba, epileptični napadi, mesečnost, nočne more	↑ občutljivost na kemoterapijo, ustavitev celičnega cikla v fazi G0/G1	(7)
Triciklični antidepresivi (amitriptilin, imipramin, klopiramin, doksepin, amoksapin, klorpromazin)	antagonisti receptorja D ₂ , preprečujejo ponovni privzem noradrenalina in serotonina v presinaptični končič	anoreksija, tesnoba, duševne motnje	↑ avtofagija, ↑ fragmentacija jeder <i>in vitro</i> , ↓ signalna pot AKT/mTOR, utišanje lastnosti matičnih celic, citostatično delovanje	(7, 35, 36)

AMPA; α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propionska kislina, PI3K-Akt/mTOR; PI3K, fosfatidilinozitol 3-kinaza/AKT, protein kinaza B/mTOR, sesalska (mehanična) tarča rapamicina, GSK-3β; glikogen sintaza kinaza 3 beta, GABA; gama-aminobutanojska kislina, 5-HT_{2A}; serotonin receptor, 5-HT_{1A}; serotonin receptor, M₁; muskarinski receptor, D; dopaminski receptor, D₂; dopaminski receptor, H₁; histaminski receptor, α₁ in α₂; adrenergična receptorja

Valprojska kislina

Valprojska kislina (VPA) je derivat valerične kisline, ki deluje nevrozaščitno, antimanično in protimigrensko (37). VPA je antiepileptik z dobro poznanim toksikološkim in farmakološkim profilom. Bolniki z glioblastomom prejemajo VPA za zdravljenje in preprečevanje epileptičnih napadov.

V gliomu VPA spodbuja izražanje od ciklina odvisne kinaze (CDK, *cyclin-dependent kinase*) inhibitorja p21, s čimer

povzroči zastoj celičnega cikla ter poveča izražanje α- in β-izoforn topoisomeraze II, ki je tesno povezana s sintezo DNK in popravilnimi mehanizmi (38). VPA ima različne vloge pri zdravljenju glioblastoma (slika 3): zavira celično proliferacijo, povzroča diferenciacijo in apoptozo ter poveča občutljivost glioblastomskih celic na obsevanje (39). Na glioblastomskih celičnih linijah so dokazali, da VPA znatno poveča učinek TMZ in obsevanja, neodvisno od statusa

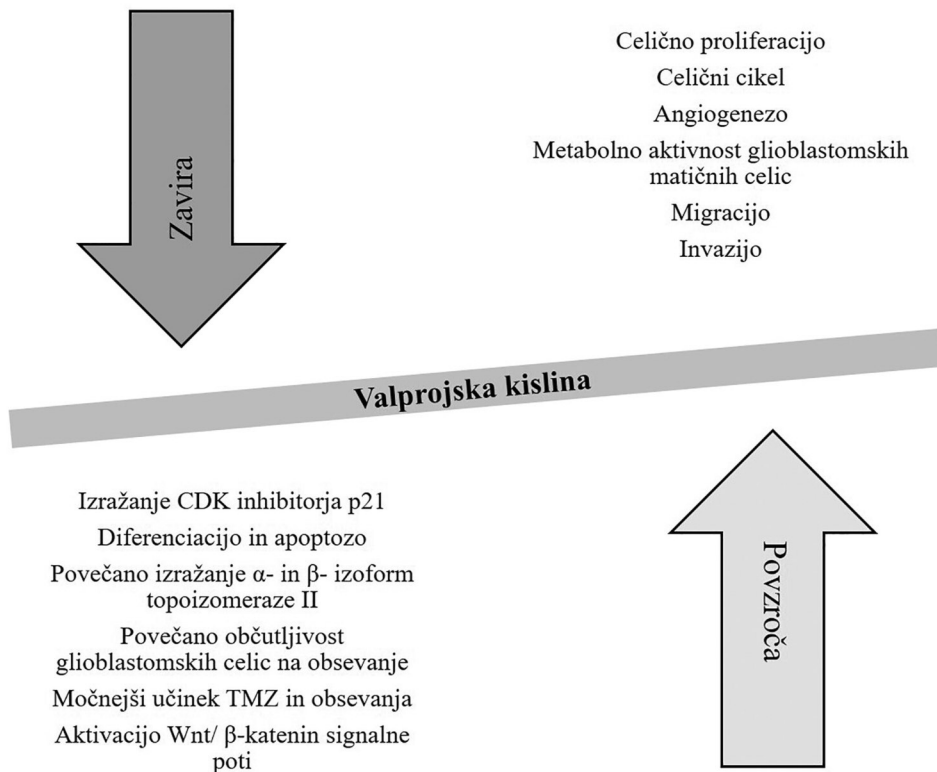


proteina MGMT. Učinek je verjetno posledica sposobnosti VPA, da sprosti kromatin, kar povzroči povečano stopnjo metilacije in s tem večje poškodbe v strukturi DNK.

Znanstvene raziskave kažejo, da imajo proteini, ki jih celice izločajo, pomembno vlogo pri različnih fizioloških in patoloških procesih. Z znižanjem ravni leptina v maščobnih celicah VPA vpliva na apetit, v rakavih celicah debelega črevesja pa zniža raven izločanja VEGF in vpliva na angiogenezo. V celicah glioblastoma lahko VPA, odvisno od odmerka, znatno zmanjša izločanje VEGF in posledično inhibira angiogenezo (40).

Izvedli so analizo sekretoma, zbirke izločenih proteinov, glioblastomskih celic po izpostavitvi VPA (41). Rezultati kažejo, da glioblastomske celice pospešujejo izločanje amfi-regulina (AR), ki spada med ligande epidermalnega rastnega dejavnika (EGFR, *epidermal growth factor receptor*). Druge raziskave *in vitro* in *in vivo* pa kažejo, da utišanje AR poveča občutljivost glioblastomskih celic na zdravljenje s TMZ. Izražanje AR je povezano tudi s povečano aktivacijo zunajcelične s signali regulirane kinaze (ERK, *extracellular-signal-regulated kinase*) preko EGFR, ki doprinese k napredovanju raka (41).

VPA lahko aktivira tudi signalno pot Wnt/ β -katenin (42). Wnt/ β -katenin je evlucijsko ohranjena signalna pot, ki ima ključno vlogo pri embriogenezi in samoobnavljanju matičnih celic, nepravilno delovanje te signalne poti pa je povezano z gliomagenezo in invazivnostjo. Po izpostavitvi glioblastomskih matičnih celic VPA se poveča izražanje tarčnih genov Wnt/ β -katenin *AXIN2*, *CD44* in *DKK1*. Dokazali so tudi, da VPA zmanjša metabolno aktivnost in proliferacijo glioblastomskih matičnih celic. Ker je signalna pot Wnt/ β -katenin vpletena v migracijo, je inkubacija glioblastomskih celičnih linij z VPA privedla do značilnega zmanjšanja migracije in invazije. Signalna pot Wnt/ β -katenin ima bivalentno vlogo, saj so si rezultati raziskav nasprotujoči. Taki rezultati kažejo na heterogenost glioblastoma oz. na prisotnost celic z različnimi molekulskimi lastnostmi in vpletenost različnih signalnih poti pri regulaciji celičnih procesov. Številne raziskave so pokazale, da VPA podaljša življenjsko dobo bolnikov z glioblastomom. VPA zavira histon deacetilazo (HDAC, *histone deacetylase*), zmanjša proliferacijo in povzroča apoptozo glioblastomskih celic (34). Trenutno je registriranih deset kliničnih raziskav, ki ocenjujejo uporabnost VPA pri zdravljenju glioblastoma (43). Avtorji klinične



Slika 3: Vloge valprojske kisline pri zdravljenju glioblastoma.
 Figure 3: Roles of valproic acid in glioblastoma treatment.

raziskave (44) so pokazali, da je uporaba VPA v kombinaciji s TMZ in obsevanjem doprinesla k podaljšanju povprečne dobe preživetja bolnikov s 14,6 mesecev brez VPA na 29,6 mesecev z VPA. Pri kliničnem preskušanju uporabe VPA je potrebno opozoriti, da se koncentracija peroralno zaužite VPA razlikuje od tiste, ki doseže možgane. Pri uporabi dnevnega odmerka 15 do 20 mg/kg VPA za zdravljenje bolnikov z epilepsijo je koncentracija v plazmi med 0,3 in 0,7 mM (45). Zaradi vezave s serumskim albuminom je koncentracija VPA v možganih precej nižja, giblje se med 0,04 in 0,2 mM. V eksperimentalnih in kliničnih raziskavah uporaba višjih koncentracij VPA ni smiselna, saj bi presegli največji dnevni odmerek učinkovine, ki je primerna za zdravljenje.

Pri načrtovanju terapij, ki vsebujejo VPA v kombinaciji s TMZ, se je potrebno zavedati, da VPA zavira histon deacetilaze, ki povzročijo demetilacijo genov, in posledično sprošča kromatinsko strukturo ter poveča dostopnost DNK. V primeru, da histon deacetilaze demetilirajo promotor gena MGMT, lahko na TMZ občutljive celice postanejo na TMZ odporne in s tem nevtralizirajo učinek TMZ v času zdravljenja (39). Zaradi možnosti, da VPA postane antagonist TMZ je nujno podrobneje raziskati možnosti njunih interakcij. Kljub številnim poskusom in raziskavam natančnega mehanizma protitumorskega delovanja VPA ne poznamo.

3 SKLEP

Glioblastom je trdovraten možganski tumor, ki se po standardnem zdravljenju z operativnim posegom, obsevanjem in kemoterapijo pogosto ponovi. Alternativnih zdravil v uporabi je malo, saj morajo poleg protitumorskega delovanja tudi učinkovito prehajati krvno-možgansko pregrado. Repozicioniranje zdravil je nov pristop k iskanju učinkovitejše terapije, ki poskuša najti še neodkrite lastnosti zdravil, primarno namenjenih zdravljenju drugih bolezni. Največji potencial imajo zdravila, ki dokazano prehajajo krvno-možgansko pregrado, med katere uvrščamo antipsihotike, nekaj dokazov za učinkovitejše zdravljenje pa obstaja tudi za antidiabetike. Najbolj obetavne repozicionirane zdravilne učinkovine te vrste so metformin, valprojska kislina in tipični antipsihotiki. Glede na to, da kljub dolgoletnim raziskavam ni zadostnega napredka pri zdravljenju glioblastoma, se zdi, da je repozicioniranje zdravil korak v pravo smer, saj

za razliko od tradicionalnega pristopa odkrivanja zdravil cilja več različnih tarč oz. poti v celicah, ki vodijo v začetek ali napredovanje raka. Antipsihotična in antidiabetična zdravila ponujajo novo upanje za bolnike z glioblastomom, vendar je najprej potrebno natančno proučiti in poglobiti razumevanje mehanizma protitumorskega delovanja in predvideti možne komplikacije.

4 IZJAVA

Pregledni članek je rezultat sodelovanja avtoric Zale Žužek in Lare Bolčina, ki si delita prvo avtorstvo članka, kot prostovoljk na Medicinskem centru za molekularno biologijo, IBK, MF UL, preko programa *Interreg Volunteer Youth* (IVY) v sklopu projekta *Interreg EC 2014–2020*, ref. št. 146, okrajšava TRANS-GLIOMA, ter raziskovalnega projekta Z3-1869 in programa P1-0390, financiranih s strani ARRS.

5 LITERATURA

1. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. *The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Acta neuropathologica.* 2016;131(6):803-20.
2. Ostrom QT, Cioffi G, Gittleman H, Patil N, Waite K, Kruchko C, et al. *CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012-2016. Neuro-oncology.* 2019;21(Suppl 5):v1-v100.
3. Bi WL, Beroukhim R. *Beating the odds: extreme long-term survival with glioblastoma. Neuro-oncology.* 2014;16(9):1159-60.
4. Weller M, van den Bent M, Hopkins K, Tonn JC, Stupp R, Falini A, et al. *EANO guideline for the diagnosis and treatment of anaplastic gliomas and glioblastoma. The Lancet Oncology.* 2014;15(9):e395-403.
5. Wirsching HG, Galanis E, Weller M. *Glioblastoma. Handbook of clinical neurology.* 2016;134:381-97.
6. Pushpakom S, Iorio F, Eyers PA, Escott KJ, Hopper S, Wells A, et al. *Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. Nature reviews Drug discovery.* 2019;18(1):41-58.
7. Tan SK, Jermakowicz A, Mookhtiar AK, Nemeroff CB, Schurer SC, Ayad NG. *Drug Repositioning in Glioblastoma: A Pathway Perspective. Frontiers in pharmacology.* 2018;9:218.
8. Seliger C, Hau P. *Drug Repurposing of Metabolic Agents in Malignant Glioma. International journal of molecular sciences.* 2018;19(9).
9. Simsek M, Meijer B, van Bodegraven AA, de Boer NKH, Mulder CJJ. *Finding hidden treasures in old drugs: the challenges and importance of licensing generics. Drug Discov Today.* 2018;23(1):17-21.
10. Verbaanderd C, Rooman I, Meheus L, Huys I. *On-Label or Off-Label? Overcoming Regulatory and Financial Barriers to Bring Repurposed*



- Medicines to Cancer Patients. *Frontiers in pharmacology*. 2019;10:1664.
11. Yadavalli S, Yenugonda VM, Kesari S. Repurposed Drugs in Treating Glioblastoma Multiforme: *Clinical Trials Update*. *Cancer J*. 2019;25(2):139-46.
 12. Gupta SK, Kizilbash SH, Daniels DJ, Sarkaria JN. Editorial: Targeted Therapies for Glioblastoma: A Critical Appraisal. *Frontiers in oncology*. 2019;9:1216.
 13. Basso J, Miranda A, Sousa J, Pais A, Vitorino C. Repurposing drugs for glioblastoma: From bench to bedside. *Cancer letters*. 2018;428:173-83.
 14. Vander Heiden MG. Targeting cancer metabolism: a therapeutic window opens. *Nature reviews Drug discovery*. 2011;10(9):671-84.
 15. Wick W, Platten M. Understanding and targeting alkylator resistance in glioblastoma. *Cancer discovery*. 2014;4(10):1120-2.
 16. Zhang WB, Wang Z, Shu F, Jin YH, Liu HY, Wang QJ, et al. Activation of AMP-activated protein kinase by temozolomide contributes to apoptosis in glioblastoma cells via p53 activation and mTORC1 inhibition. *The Journal of biological chemistry*. 2010;285(52):40461-71.
 17. Lutz TA, Estermann A, Haag S, Scharrer E. Depolarization of the liver cell membrane by metformin. *Biochimica et biophysica acta*. 2001;1513(2):176-84.
 18. Labuzek K, Suchy D, Gabryel B, Bielecka A, Liber S, Okopien B. Quantification of metformin by the HPLC method in brain regions, cerebrospinal fluid and plasma of rats treated with lipopolysaccharide. *Pharmacological reports : PR*. 2010;62(5):956-65.
 19. DrugBank. Metformin 2020 [Available from: <https://go.drugbank.com/salts/DBSALT000114>].
 20. Janić M VŠ, Lunder M, Janež A. Metformin: Od mehanizmov delovanja do napredne klinične uporabe. *Zdravniški Vestnik*. 2017;86(3-4):138-57.
 21. Harder BG, Blomquist MR, Wang J, Kim AJ, Woodworth GF, Winkles JA, et al. Developments in Blood-Brain Barrier Penetration and Drug Repurposing for Improved Treatment of Glioblastoma. *Frontiers in oncology*. 2018;8:462.
 22. Mazurek M, Litak J, Kamieniak P, Kulesza B, Jonak K, Baj J, et al. Metformin as Targeted Therapy for High-Grade Glioma. *Cancers (Basel)*. 2020;12(1).
 23. Sesen J, Dahan P, Scotland SJ, Saland E, Dang VT, Lemarie A, et al. Metformin inhibits growth of human glioblastoma cells and enhances therapeutic response. *PLoS one*. 2015;10(4):e0123721.
 24. Adeberg S, Bernhardt D, Harrabi SB, Nicolay NH, Horner-Rieber J, König L, et al. Metformin Enhanced in Vitro Radiosensitivity Associates with G2/M Cell Cycle Arrest and Elevated Adenosine-5'-monophosphate-activated Protein Kinase Levels in Glioblastoma. *Radiology and oncology*. 2017;51(4):431-7.
 25. Yu Z, Zhao G, Xie G, Zhao L, Chen Y, Yu H, et al. Metformin and temozolomide act synergistically to inhibit growth of glioma cells and glioma stem cells in vitro and in vivo. *Oncotarget*. 2015;6(32):32930-43.
 26. Adeberg S, Bernhardt D, Ben Harrabi S, Bostel T, Mohr A, Koelsche C, et al. Metformin influences progression in diabetic glioblastoma patients. *Strahlentherapie und Onkologie : Organ der Deutschen Röntgengesellschaft [et al]*. 2015;191(12):928-35.
 27. ClinicalTrials.gov. Information on Clinical Trials and Human Research Studies: NIH U.S. National Library of Medicine; 2020 [Available from: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=Glioblastoma&term=metformin&cntry=&state=&city=&dist=>].
 28. Lee JK, Nam DH, Lee J. Repurposing antipsychotics as glioblastoma therapeutics: Potentials and challenges. *Oncology letters*. 2016;11(2):1281-6.
 29. Siegelin MD, Schneider E, Westhoff MA, Wirtz CR, Karpel-Massler G. Current state and future perspective of drug repurposing in malignant glioma. *Seminars in cancer biology*. 2019.
 30. Grinshpoon A, Barchana M, Ponizovsky A, Lipshitz I, Nahon D, Tal O, et al. Cancer in schizophrenia: is the risk higher or lower? *Schizophrenia Res*. 2005;73(2-3):333-41.
 31. Barak Y, Achiron A, Mandel M, Mirecki I, Aizenberg D. Reduced cancer incidence among patients with schizophrenia. *Cancer*. 2005;104(12):2817-21.
 32. Karpel-Massler G, Kast RE, Westhoff MA, Dwucet A, Welscher N, Nonnenmacher L, et al. Olanzapine inhibits proliferation, migration and anchorage-independent growth in human glioblastoma cell lines and enhances temozolomide's antiproliferative effect. *Journal of neuro-oncology*. 2015;122(1):21-33.
 33. Shin SY, Choi BH, Ko J, Kim SH, Kim YS, Lee YH. Clozapine, a neuroleptic agent, inhibits Akt by counteracting Ca²⁺/calmodulin in PTEN-negative U-87MG human glioblastoma cells. *Cellular signalling*. 2006;18(11):1876-86.
 34. Ruda R, Pellerino A, Soffietti R. Does valproic acid affect tumor growth and improve survival in glioblastomas? *CNS oncology*. 2016;5(2):51-3.
 35. Abbruzzese C, Matteoni S, Persico M, Villani V, Paggi MG. Repurposing chlorpromazine in the treatment of glioblastoma multiforme: analysis of literature and forthcoming steps. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*. 2020;39(1):26.
 36. Bielecka-Wajdman AM, Lesiak M, Ludyga T, Sieron A, Obuchowicz E. Reversing glioma malignancy: a new look at the role of antidepressant drugs as adjuvant therapy for glioblastoma multiforme. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2017;79(6):1249-56.
 37. DrugBank. Valproic Acid 2020 [Available from: <https://go.drugbank.com/drugs/DB00313>].
 38. Das CM, Aguilera D, Vasquez H, Prasad P, Zhang M, Wolff JE, et al. Valproic acid induces p21 and topoisomerase-II (alpha/beta) expression and synergistically enhances etoposide cytotoxicity in human glioblastoma cell lines. *Journal of neuro-oncology*. 2007;85(2):159-70.
 39. Van Nifterik KA, Van den Berg J, Slotman BJ, Lafleur MV, Sminia P, Stalpers LJ. Valproic acid sensitizes human glioma cells for temozolomide and gamma-radiation. *Journal of neuro-oncology*. 2012;107(1):61-7.
 40. Osuka S, Takano S, Watanabe S, Ishikawa E, Yamamoto T, Matsumura A. Valproic acid inhibits angiogenesis in vitro and glioma angiogenesis in vivo in the brain. *Neurologia medico-chirurgica*. 2012;52(4):186-93.
 41. Chen JC, Lee IN, Huang C, Wu YP, Chung CY, Lee MH, et al. Valproic acid-induced amphiregulin secretion confers resistance to temozolomide treatment in human glioma cells. *BMC cancer*. 2019;19(1):756.
 42. Riva G, Cilibrasi C, Bazzoni R, Cadamuro M, Negroni C, Butta V, et al. Valproic Acid Inhibits Proliferation and Reduces Invasiveness in Glioma Stem Cells Through Wnt/beta Catenin Signalling Activation. *Genes (Basel)*. 2018;9(11).
 43. ClinicalTrials.gov. Information on Clinical Trials and Human Research Studies: NIH U.S. National Library of Medicine; 2020 [Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=Glioblastoma&term=valproic+acid&cntry=&state=&city=&dist=>].
 44. Krauze AV, Myrehaug SD, Chang MG, Holdford DJ, Smith S, Shih J, et al. A Phase 2 Study of Concurrent Radiation Therapy, Temozolomide, and the Histone Deacetylase Inhibitor Valproic Acid for Patients With Glioblastoma. *International journal of radiation oncology, biology, physics*. 2015;92(5):986-92.
 45. Eckert M, Klumpp L, Huber SM. Cellular Effects of the Antiepileptic Drug Valproic Acid in Glioblastoma. *Cell Physiol Biochem*. 2017;44(4):1591-605.